



Étude d'une approche de méthylation site-sélective de glycosides bioactifs

Par Laéla LEPHORE

**Mémoire présenté à l'Université du Québec à Chicoutimi en vue de l'obtention du grade de
Maître ès sciences (M. Sc.) en ressources renouvelables**

Québec, Canada

© Laéla Lephore, 2024

RÉSUMÉ

Les glycosides sont des composés reconnus pour avoir divers effets biologiques issus de la combinaison d'au moins un sucre et d'une section aglycone. En effet, les glycosides sont connus pour démontrer des activités cytotoxiques, anti-inflammatoires, antioxydantes, antibactériennes, etc. Ces propriétés font des glycosides une famille d'intérêt dans le développement pharmaceutique. De plus, l'importance de la nature de la section sucre sur les activités observées a été démontrée à de nombreuses reprises et antérieurement au laboratoire LASEVE de l'UQAC. À ce titre, l'ajout d'un résidu L-rhamnose en position C-3 de l'acide bétulinique, un triterpène isolé de l'écorce de bouleau blanc (*Betula papyrifera*) a permis de moduler positivement ses propriétés biologiques.

Les sections sucres des glycosides sont souvent décorées partiellement de groupement méthyle. Il est souvent intéressant d'être en mesure d'ajouter un groupement méthyl à un sucre afin d'en bonifier l'activité biologique de glycosides. Cependant, les méthodes rapportées dans la littérature pour la méthylation partielle des glycosides sont relativement fastidieuses. En particulier, la monométhylation de sucres présentant un motif diol 1,2-*cis* est communément réalisée en deux étapes, par l'intermédiaire d'un acétal stannylène. En plus d'être séquentielle et d'utiliser une quantité stœchiométrique de sel d'étain nocif, cette méthode est difficilement applicable dans le cas de certains glycosides complexes. Basé sur des résultats fragmentaires de la littérature, le présent projet propose de mettre au point un protocole de monométhylation en une seule étape catalytique.

Une méthode de monométhylation catalytique de glycosides présentant un motif diol 1,2-*cis* a donc été développée. La réaction est catalysée par un sel d'étain et l'utilisation d'ions fluorures ou de sels d'argent ont été envisagées afin de promouvoir la transformation à température ambiante. Des glycosides présentant des motifs diols 1,2-*cis* dérivés du rhamnose, du fucose et de l'arabinose ont ainsi été utilisés. Le protocole mis au point a permis de méthyler la position équatoriale des motifs diols 1,2-*cis* avec un ratio de régiosélectivité supérieur à 9:1. L'application de cette méthode à des saponines triterpéniques permettra d'étudier l'effet de la monométhylation sur les propriétés pharmacologiques de glycosides bioactifs complexes.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	ii
TABLE DES MATIÈRES.....	iii
LISTE DES TABLEAUX.....	vi
LISTE DES FIGURES	vii
LISTE DES SCHÉMAS.....	viii
LISTE DES ANNEXES	ix
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	xi
REMERCIEMENTS	xii
INTRODUCTION	1
CHAPITRE 1.....	4
REVUE DE LA LITTÉRATURE	4
1.1 Les glycosides naturels dans la médecine actuelle.....	4
1.2 Modulation des effets biologiques de triterpènes biosourcés.....	6
1.3 Impact de la méthylation partielle des glycosides	9
1.4 Voie actuelle de synthèse.....	11
1.5 Des approches catalytiques envisageables	12
1.6 Hypothèses et objectif de recherche	15
CHAPITRE 2.....	17
RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	17
2.1 Synthèse des précurseurs.....	17
2.1.1 Donneurs de sucre	17
2.1.2 Protection des aglycones	18
2.1.3 Synthèse des glycosides triterpéniques	19
2.2 Méthylation site-sélective	21
2.2.1 Essais en présence d'ions fluorures.....	21
2.2.2 Mise au point de la méthode en présence de sels d'argent.....	23
2.2.3. Méthylation des saponines triterpéniques	24

CONCLUSION.....	27
CHAPITRE 3.....	28
PARTIE EXPÉRIMENTALE.....	28
3.1 General information	28
3.2 General procedure for the synthesis of trichloroacetimidates	28
3.2.1 Synthesis of 2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyl trichloroacétimide (16d)	29
3.2.2 Synthesis of 2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-fucopyranosyl trichloroacetimide (17d).....	30
3.2.3 Synthesis of 2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-arabinopyranosyl trichloroacetimide (18d).....	30
3.3 Preparation of aglycons	31
3.3.1 Synthesis of allyl betulinate (5b).....	31
3.3.2 Synthesis of allyl ursolate (8b)	32
3.4 General procedure for normal Schmidt glycosylation	32
3.4.1 Synthesis of 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyl)-28-allyl betulinate (19a).....	33
3.4.2 Synthesis of 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyl)-28-allyl ursolate (20a)..	34
3.4.3 Synthesis of 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-fucopyranosyl)-28-allyl betulinate (21a)	35
3.4.4 Synthesis of 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-fucopyranosyl)-28-allyl ursolate (22a).....	35
3.4.5 Synthesis of 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-arabinopyranosyl)-28-allyl betulinate (23a).....	36
3.4.6 Synthesis of 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-arabinopyranosyl)-28-allyl ursolate (24a)..	37
3.5 General procedure for removal of benzoyl groups	37
3.5.1 Synthesis of 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-28-allyl betulinate (19b)	38
3.5.2 Synthesis of 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-28-allyl ursolate (20b)	38
3.5.3 Synthesis of 3-O- α -L-fucopyranosyl-28-allyl betulinate (21b).....	39
3.5.4 Synthesis of 3-O- α -L-fucopyranosyl-28-allyl ursolate (22b)	40
3.5.5 Synthesis of 3-O- α -L-arabinopyranosyl-28-allyl betulinate (23b)	40

3.5.6 Synthesis of 3-O- α -L-arabinopyranosyl-28-allyl ursolate (24b)	41
3.6 General procedure for methylation	42
3.6.1 Synthesis of 3-O-3-methoxy- α -L-rhamnopyranosyl-28-allyl ursolate (20d)	42
3.6.2 Synthesis of 3-O-3-methoxy- α -L-fucopyranosyl-28-allyl ursolate (22d)	43
3.6.3 Synthesis of 3-O-3-methoxy- α -L-arabinopyranosyl-28-allyl betulinate (23d)	43
3.6.4 Synthesis of 3-O-3-methoxy- α -L-rhamnopyranosyl-28-allyl betulinate (19d)	44
3.7 General procedure for removal of allyl groups	45
3.7.1 Synthesis of 3-O- α -L-rhamnopyranosyl ursolic acid (20c).....	45
3.7.2 Synthesis of 3-O-3-methoxy- α -L-rhamnopyranosyl ursolic acid (20e)	46
3.7.3 Synthesis of 3-O- α -L-fucopyranosyl ursolic acid (22c).....	46
3.7.4 Synthesis of 3-O-3-methoxy- α -L-fucopyranosyl ursolic acid (22e).....	47
LISTE DE RÉFÉRENCES	48
ANNEXES.....	53

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Essais de méthylation en présence de sels d'argent.	24
---	----

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Structures de glycosides naturels (1a-b , 2a-b) utilisés cliniquement.	5
Figure 2. Structure de la podophyllotoxine (3a) et d'un dérivé glycosylé, l'étoposide (3b).	6
Figure 3. Impact de la glycosylation sur l'activité de l'alcool périllylique (4a-c) sur les cellules cancéreuses du poumon A549 et de la prostate PC3.	6
Figure 4. Triterpènes de type lupane (5-7) retrouvés dans l'écorce de bouleau blanc.	7
Figure 5. Impact de la glycosylation de triterpènes pentacycliques (5-8) sur leur cytotoxicité face aux cellules cancéreuses du poumon A549, colorectal DLD-1, de la peau normale WS1 et de l'adénocarcinome du côlon humain HT29.	8
Figure 6. Glycosides bioactifs présentant une méthylation partielle du sucre (9a-c).	9
Figure 7. Impact de la méthylation sur divers glycosides (10a-12b).	10
Figure 8. Structure des sucres utilisés (16-18).	17
Figure 9. Structure des sucres protégés (17d-18d).	18
Figure 10. Structure des différents produits de glycosylations	20
Figure 11. Activation d'un acétal stannylène par un ion fluorure. a) Représentation des charges de Mulliken sur les atomes d'oxygènes ⁶⁵ . b) Deux modes d'activation d'un acétal stannylène dérivé d'un sucre portant un motif diol 1,2-cis.	23
Figure 12. Structure des saponines méthylées (19d-23d).	25
Figure 13. Structure des saponines finales obtenues (20c , 20e , 22c , 22e).	26

LISTE DES SCHÉMAS

Schéma 1. Approche séquentielle pour la méthylation de la position équatoriale d'un diol 1,2-cis par l'intermédiaire d'un acétal stannylène.	11
Schéma 2. Essai de méthylation partielle effectuée par l'équipe de Li Xia et al.....	12
Schéma 3. Monobenzylation site-sélective catalysé un borinate effectué par l'équipe de Taylor.	12
Schéma 4. Monobenzylation site-sélective catalysé par un catalyseur à l'étain effectuée par l'équipe de Xu.....	13
Schéma 5. Modification catalytique et site-sélective d'un glycoside utilisant des sels d'argent.	13
Schéma 6. Méthylation du diméthyle L-tartrate à température catalysée par du CsF ⁶⁴	14
Schéma 7. Charge négative de Mulliken des atomes d'oxygènes de l'acétal stannylène lors de l'ajout d'un ion fluorure d'après Saikam et al. ⁶⁵	14
Schéma 8. Résultat préliminaire d'une méthylation catalytique site-sélective d'un rhamnoside dérivé de l'acide bétulinique.....	15
Schéma 9. Méthylation catalytique site-sélective de sucre présentant un motif diol 1,2-cis.	16
Schéma 10. Synthèse du trichloroacétimidate du L-rhamnose (16d).....	18
Schéma 11. Synthèse du bétulinate d'allyle (5d).	19
Schéma 12. Glycosylation du rhamnoside benzoylé (16d) avec le bétulinate d'allyle (5d).....	20
Schéma 13. Synthèse du rhamnoside d'acide bétulinique (19c).....	21
Schéma 14. Essai de méthylation en présence de fluorure de tétrabutylammonium.....	22

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE 1 : Mécanisme réactionnel de la préparation d'un donneur de sucre	53
ANNEXE 2 : RMN ¹ H d'un sucre trichloroacétimide	54
ANNEXE 3 : Mécanisme réactionnel de la protection d'un aglycone	55
ANNEXE 4 : RMN ¹ H d'un triterpène protégé.....	56
ANNEXE 5 : Mécanisme réactionnel de la glycosylation et des déprotections de la saponine triterpénique	57
ANNEXE 6 : Réarrangement du squelette triterpénique aboutissant à la formation de 28-oxoallobétuline	58
ANNEXE 7 : RMN ¹ H d'une méthylation avec du fluor donnant un rapport 8:2 entre deux positions monométhylées.....	59
ANNEXE 8 : RMN ¹ H d'une méthylation en présence de sels d'argent avec un rapport 9:1 entre deux produit de méthylation	60
ANNEXE 9 : Mécanisme réactionnel de la méthylation catalytique site-sélective.....	61
ANNEXE 10 : RMN ¹ H d'un produit de méthylation.....	62
ANNEXE 11 : RMN HMBC, corrélation entre le méthyle est la position 3 du sucre.....	63
ANNEXE 12 : RMN ¹ H et ¹³ C 2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyl trichloroacétimide (16d)	64
ANNEXE 13 : RMN ¹ H 2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-fucopyranosyl trichloroacetimide (17d).....	66
ANNEXE 14 : RMN ¹ H 2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-arabinopyranosyl trichloroacetimide (18d).....	67
ANNEXE 15 : RMN ¹ H allyl betulinate (5b).....	68
ANNEXE 16 : RMN ¹ H et ¹³ C allyl ursolate (8b)	69
ANNEXE 17 : RMN ¹ H et ¹³ C 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyl)-28-allyl betulinate (19a).....	71
ANNEXE 18 : RMN ¹ H et ¹³ C 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyl)-28-allyl ursolate (20a)	73
ANNEXE 19 : RMN ¹ H 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-fucopyranosyl)-28-allyl betulinate (21a)	75
ANNEXE 20 : RMN ¹ H 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-fucopyranosyl)-28-allyl ursolate (22a)	76
ANNEXE 21 : RMN ¹ H et ¹³ C 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-arabinopyranosyl)-28-allyl betulinate (23a).....	77
ANNEXE 22 : RMN ¹ H et ¹³ C 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-arabinopyranosyl)-28-allyl ursolate (24a)	79
ANNEXE 23 : RMN ¹ H 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-28-allyl betulinate (19b)	81
ANNEXE 24 : RMN ¹ H 3-O- α -L-fucopyranosyl-28-allyl betulinate (21b).....	82
ANNEXE 25 : RMN ¹ H et ¹³ C 3-O- α -L-fucopyranosyl-28-allyl ursolate (22b)	83
ANNEXE 26 : RMN ¹ H et ¹³ C 3-O- α -L-arabinopyranosyl-28-allyl betulinate (23b)	85
ANNEXE 27 : RMN ¹ H et ¹³ C 3-O- α -L-arabinopyranosyl-28-allyl ursolate (24b).....	87
ANNEXE 28 : RMN ¹ H 3-O-3-methoxy- α -L-rhamnopyranosyl-28-allyl ursolate (20d).....	89
ANNEXE 29 : RMN ¹ H et ¹³ C 3-O-3-methoxy- α -L-fucopyranosyl-28-allyl ursolate (22d)	90
ANNEXE 30 : RMN ¹ H et ¹³ C 3-O-3-methoxy- α -L-arabinopyranosyl-28-allyl betulinate (23d)	92

ANNEXE 31 : RMN ¹ H 3-O-3-methoxy- α -L-rhamnopyranosyl-28-allyl betulinate (19d)	94
ANNEXE 32 : RMN ¹ H et ¹³ C 3-O-3-methoxy- α -L-rhamnopyranosyl ursolic acid (20e)	95
ANNEXE 33 : RMN ¹ H et ¹³ C 3-O- α -L-rhamnopyranosyl ursolic acid (20c)	97
ANNEXE 34 : RMN ¹ H et ¹³ C 3-O-3-methoxy- α -L-fucopyranosyl ursolic acid (22e).....	99
ANNEXE 35 : RMN ¹ H et ¹³ C 3-O- α -L-fucopyranosyl ursolic acid (22c).....	101

LISTE DES ABRÉVIATIONS

CAM :	ceric ammonium molybdate
CI ₅₀ :	concentration inhibant 50 % de la croissance cellulaire
CMI ₉₀ :	concentration minimale inhibant 90 % du pathogène
COSY :	correlation spectroscopy
DCM:	dichlorométhane
DMAP :	4-diméthylaminopyridine
DMF :	<i>N,N</i> -diméthylformamide
Eq. :	équivalent
HMBC :	heteronuclear multiple bond correlation
HSQC :	heteronuclear single quantum coherence
LASEVE :	laboratoire d'analyse et de séparation des essences végétales
Rf :	rapport frontal
RMN :	résonance magnétique nucléaire
TA / RT :	température ambiante
TCA :	trichloroacétimide
TLC / CCM :	chromatographie sur couche mince
UQAC :	université du Québec à Chicoutimi
UV :	ultraviolet

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de recherche, le Professeur André Pichette, pour la confiance qu'il m'a accordée et son accueil au sein du laboratoire LASEVE. Un grand merci également à mon codirecteur de recherche, le Professeur Jérôme Alsarraff, pour le temps qu'il a su m'accorder, pour nos échanges constructifs et son soutien le tout dans une bonne humeur constante.

Je remercie aussi tous les membres du LASEVE avec qui j'ai pu travailler, le Professeur Serge Lavoie pour ses conseils et son expertise au sujet des analyses RMN, le Docteur Balla Sylla pour ses conseils en laboratoire ainsi que son investissement auprès de tous les étudiants du laboratoire. Merci également à tous mes collègues de laboratoire, Jean-Christophe Fortin et Marie-Lee Audet avec qui nous avons partagé de nombreux moments autour de nos paillasses, Vincent Maltais Bourgeois pour ses apports considérables aux travaux en laboratoire mais aussi à Marie Frissard et Soazic Lehervet.

J'en profite pour également remercier ma famille et plus particulièrement mes parents Nathalie et Pascal, ma sœur Célia et mon frère Anthony pour leur soutien moral dans ce projet d'étude effectué loin d'eux. Je ne saurais dire à quel point vos encouragements m'ont été précieux. Merci aussi à mes amis et particulièrement à Baptiste pour sa patience et les tous les moments passés allant du laboratoire à la vie quotidienne.

INTRODUCTION

Malgré le nombre grandissant de médicaments sur le marché actuel, le besoin de nouveaux traitements existe toujours¹. Ces traitements permettent d'améliorer les traitements actuels pour lutter contre les maladies du monde occidental (cancer, maladie cardiovasculaire, maladie virale, etc.)² et de traiter les maladies parasitaires qui affectent toujours les pays en développement (paludisme, lèpre, etc.)³. L'évolution des maladies et l'augmentation de la résistance aux antibiotiques accentuent également ces besoins⁴. Les produits naturels et leurs dérivés représentent 20% des nouveaux médicaments depuis 1981⁵. Les dérivés de produits naturels sont des molécules ayant pour structure principale un produit naturel auquel des modifications ont été apportées.

Dans certains cas, les molécules naturelles et leurs dérivés utilisés comme médicaments sont des glycosides. Depuis 2000, c'est 54 nouveaux médicaments mis sur le marché qui sont des glycosides⁶. Parmi ces glycosides plusieurs présentent des décorations sur les divers alcools. En plus de donner accès à des structures inédites et originales, ces modifications ont des impacts sur les propriétés biologiques des molécules-mères. Les modifications de la partie osidique des glycosides sont ainsi des études d'intérêts.

Parmi les modifications étudiées dans le développement de nouveaux médicaments, le "magic methyl effect" se distingue par son nombre d'exemples qui met en avant l'impact de la présence d'un O-méthyle dans certaines propriétés biologiques⁷. En effet, cette modification structurale peut modifier diverses propriétés de la molécule (interactions hydrophobes, interactions de Van der Waals, solubilité, liaisons hydrogènes potentielles, etc.)⁷⁻⁹. Dans plusieurs cas, il a pu être démontré l'importance du méthyle dans les effets biologiques des molécules. C'est notamment le cas du flavonoïde 3'-O-méthylquercitrine qui est un agent cytotoxique capable d'inhiber la voie de signalisation de Hedgehog dans les cellules cancéreuses pancréatiques et prostatiques, alors que la quercitrine dépourvue du groupement CH₃ n'inhibe pas cette voie de signalisation¹⁰. Toutefois, les voies de synthèses actuelles pour monométhyle un glycoside rapportées dans la littérature sont relativement fastidieuses et ces méthodes nécessitent généralement des séquences de protection/déprotection¹¹. Dans le cas plus particulier des sucres présentant un motif diol 1,2-*cis*, la

méthylation se fait en deux étapes. Dans un premier temps, un acétal stannylène est formé entre les hydroxyles du diol 1,2-*cis*. Cette réaction nécessite une quantité stœchiométrique de réactif à base d'étain. Par la suite, la position équatoriale est méthylée régiosélectivement en présence d'un excès d'iodométhane. Cette réaction est généralement réalisée en chauffant à une température supérieure au point d'ébullition de l'iodométhane forçant à l'utiliser en grande quantité, faisant dans certains cas de lui un co-solvant de la réaction^{11, 12}. En plus d'être séquentielle et d'employer des quantités stœchiométriques d'un réactif à base d'étain toxique et nocif pour l'environnement^{13, 14}, il a été démontré que cette méthode est difficilement transposable à certains glycosides complexes¹⁵. Pourtant, des résultats dans la littérature¹¹ semblent suggérer qu'une version catalytique à température ambiante de ce protocole est possible. Une fois un protocole de méthylation sélective à température ambiante et catalytique développé, celui-ci pourra être appliqué à divers glycosides.

Des travaux du LASEVE à l'UQAC s'intéressent à certaines molécules isolées de la forêt boréale. Diverses études s'intéressent plus particulièrement à l'acide bétulinique, un triterpène pentacyclique isolé de l'écorce de bouleau blanc (*Betula papyrifera*). L'acide bétulinique possède des propriétés pharmacologiques prometteuses telles qu'anticancéreuse et anti-inflammatoire¹⁶ avec une faible toxicité *in vivo*¹⁷. Afin de contourner le problème de la faible hydrosolubilité de l'acide bétulinique, des dérivés glycosylés ont été synthétisés aboutissant à la synthèse de saponines triterpéniques¹⁸. De plus, il a été démontré que l'ajout d'un L-rhamnose en position C-3 de l'acide bétulinique a permis d'augmenter l'activité cytotoxique contre les cellules cancéreuses tout en diminuant la cytotoxicité contre les cellules normales^{18, 19}.

L'objectif de cette étude est dans un premier temps de développer un protocole de méthylation sélective et catalytique à température ambiante. Par la suite, ce protocole sera appliqué à la modification de différentes saponines triterpéniques.

Ce mémoire est composé de trois chapitres. Le premier chapitre est une revue de littérature des sujets abordés dans cette étude comprenant les travaux qui ont permis de poser les hypothèses de recherche. Cette partie décrit les glycosides utilisés dans la médecine, l'impact de la méthylation partielle des glycosides et les méthodes utilisées actuellement pour la méthylation ainsi que les approches envisageables avec les hypothèses et objectifs de recherche. Le deuxième chapitre

présente les voies de synthèse suivies ainsi que les résultats obtenus et les discussions associées. Une conclusion et les perspectives du projet sont également présentées. Finalement, le dernier chapitre représente la partie expérimentale incluant les différents modes opératoires et les analyses spectroscopiques des différents composés.

CHAPITRE 1

REVUE DE LA LITTÉRATURE

1.1 Les glycosides naturels dans la médecine actuelle

Les glycosides sont des molécules organiques qui peuvent être synthétisées ou isolées à partir de sources végétales et animales. Elles se caractérisent par une section sucre qui est conjuguée à une partie non glucidique appelée aglycone ou génine. Les glycosides sont connus pour avoir de nombreux effets biologiques tels qu'antioxydants, anti-inflammatoires, anticancéreux ou encore antibiotiques²⁰.

Entre autres, les glycosides cardiotoniques représentent une famille de molécules utilisées dans le traitement de diverses affections du cœur. Les digitales (*Digitalis lanata* ou *D. purpurea*) sont une famille de plantes utilisées depuis le Moyen Âge à partir desquelles il est possible d'extraire des glycosides cardiotoniques présentant un squelette stéroïde tel que la digoxine (**1a**) ou la digitoxine (**1b**) (Figure 1)²¹. La digoxine est actuellement le glycoside cardiotonique le plus utilisé sur le plan médical et est toujours extraite à partir de la plante car sa synthèse est très complexe. C'est une molécule utilisée dans le traitement de diverses affections du cœur qui permet d'augmenter la force de contraction du muscle cardiaque²².

Les anthracyclines sont des biomolécules couramment utilisées en chimiothérapie et plus précisément pour traiter le cancer du sein métastatique²³. Parmi elles, la doxorubicine (**2a**) isolée de bactéries du genre *Streptomyces* est un anticancéreux composé d'un aglycone polycétide tétracyclique et d'un désoxysucre nommé L-daunosamine²⁴. Le sucre joue un rôle dans l'activité biologique de la doxorubicine. L'épirubicine (**2b**) est un épimère de la doxorubicine qui se différencie par la stéréochimie du sucre, le 4-*epi*-L-daunosamine (Figure 1). L'efficacité de ces molécules est similaire mais l'épirubicine provoque moins d'effets secondaires permettant d'administrer des doses plus élevées sans atteindre la toxicité cardiaque de la doxorubicine^{23, 25}.

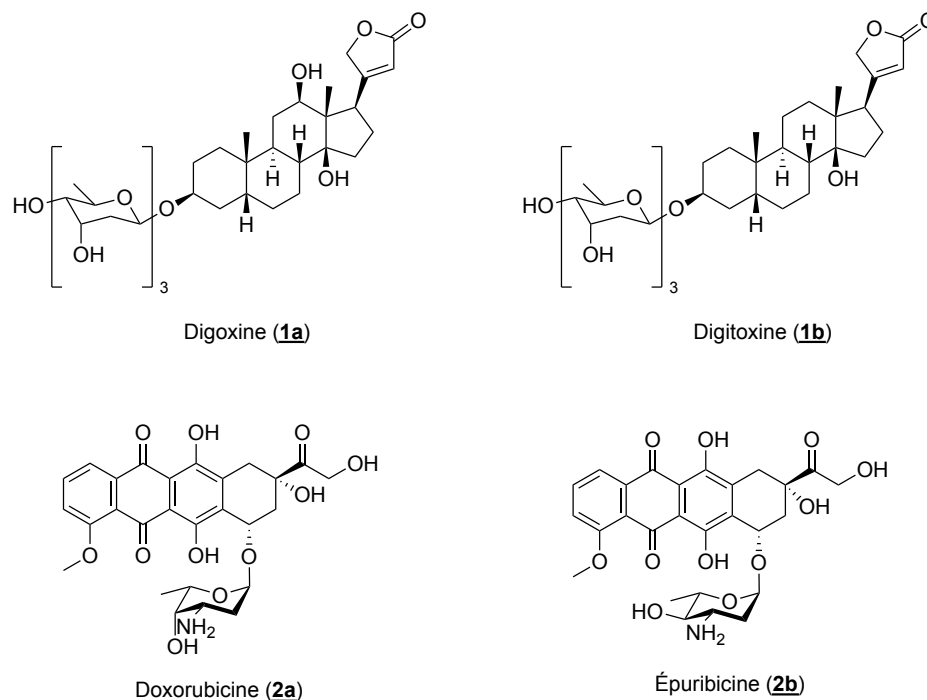
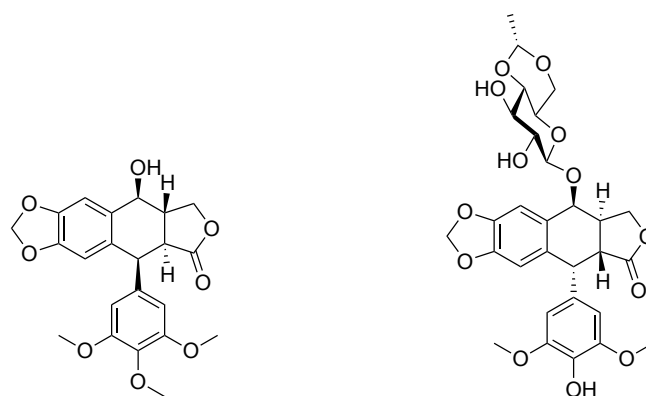


Figure 1. Structures de glycosides naturels (**1a-b**, **2a-b**) utilisés cliniquement.

De façon intéressante, la glycosylation est largement utilisée pour améliorer la solubilité dans l'eau et réduire la toxicité de certains produits naturels. Elle permet également dans certains cas de moduler l'activité biologique des molécules^{26,27}. Par exemple, la podophyllotoxine (**3a**) est un lignane isolée de rhizome de Podophylle (*Podophyllum*) ayant des effets purgatifs et qui a été utilisée contre des tumeurs cutanées²⁸. Cependant, sa grande cytotoxicité ne permet pas de l'utiliser directement comme anticancéreux. Ainsi, l'étoposide (**3b**), un glycoside dérivé de la podophyllotoxine a été synthétisé (Figure 2)²⁹. L'étoposide est un inhibiteur de topoisomérase étant utilisée dans le traitement de plusieurs cancers tels que le cancer des testicules et le cancer du poumon à petites cellules^{30,31}.



Podophyllotoxine (**3a**)

Étoposide (**3b**)

Figure 2. Structure de la podophyllotoxine (**3a**) et d'un dérivé glycosylé, l'étoposide (**3b**).

De la même façon, l'alcool périllylique (**4a**) (Figure 3) est un monoterpène produit par diverses plantes comme la menthe poivrée (*Mentha piperita*) par modification oxydative du D-limonène. Considéré comme agent anticancéreux potentiel, ses effets ont été évalués dans le cadre d'essais cliniques mais amenant à de faibles réponses tumorales. La glycosylation de l'alcool périllylique a permis une modulation de l'activité cytotoxique et des études *in vitro* ont également démontré une activité antiproliférative dépendante du sucre³².

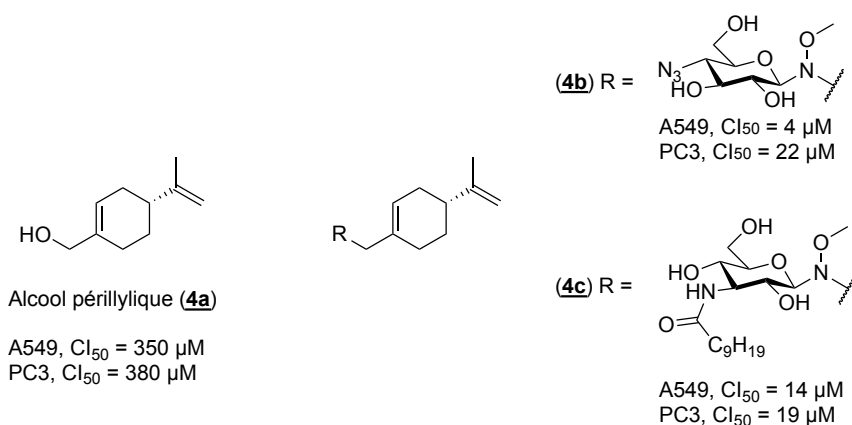


Figure 3. Impact de la glycosylation sur l'activité de l'alcool périllylique (**4a-c**) sur les cellules cancéreuses du poumon A549 et de la prostate PC3.

1.2 Modulation des effets biologiques de triterpènes biosourcés

La forêt boréale est une vaste source de molécules naturelles présentant des propriétés pharmacologiques intéressantes. En effet des études ont mis en lumière des propriétés biologiques

variées telles que des activités antioxydantes³³, cytotoxiques et antimicrobiennes³⁴. Par exemple le paclitaxel (également connu sous le nom Taxol) a été indentifié dans l'if du Canada (*Taxus canadensis*)³⁵. Cette molécule est notamment utilisée dans le traitement des cancers de l'ovaire et du sein³⁶. Plus récemment, des chercheurs se sont intéressés à la composition chimique du bouleau blanc (*Betula papyrifera*). Divers triterpènes pentacycliques de type lupane ont été trouvés dans l'écorce, entre autres l'acide bétulinique (**5**), le lupéol (**6**) et le bétulinol (**7**) (Figure 4)¹⁸.

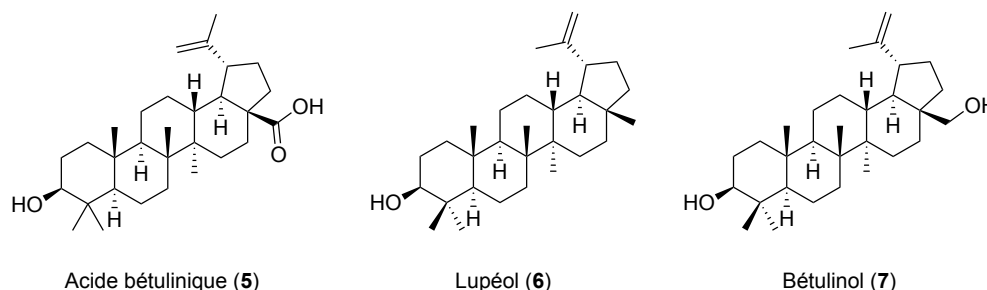


Figure 4. Triterpènes de type lupane (**5-7**) retrouvés dans l'écorce de bouleau blanc.

Les triterpènes constituent un vaste groupe de métabolites secondaires non stéroïdiens des végétaux. Composés d'un squelette de 30 atomes de carbones, près de 200 squelettes triterpéniques différents ont été isolés à partir de sources naturelles³⁷. Les triterpènes proviennent majoritairement de la cyclisation du 2,3-oxidosqualène ou dans certains cas du squalène lui-même³⁸. L'intérêt envers les triterpènes est important dû aux vastes activités biologiques qu'ils possèdent comme antibactériens, antifongiques, antiviraux, cytotoxiques, anti-inflammatoires, etc.³⁹. L'acide bétulinique (**5**) est un produit naturel de la famille des triterpénoïdes de type lupanes qui a fait l'objet d'études approfondies au cours des dernières années en raison de son large spectre d'activités pharmacologiques et de sa faible toxicité *in vivo*¹⁷. Il présente notamment des propriétés antitumorales intéressantes⁴⁰. L'acide ursolique (**8**), un triterpène pentacyclique largement distribué dans le règne végétal⁴¹, possède de la même façon un vaste spectre d'activités pharmacologiques^{42, 43}. Cependant, ces triterpènes sont apolaires et leur faible hydrosolubilité est un inconvénient majeur pour le développement clinique. Afin de contourner ce problème, divers dérivés ont été synthétisés¹⁸. C'est ainsi que la synthèse de saponines triterpéniques s'est avérée intéressante.

Les saponines triterpéniques résultent de la combinaison d'un triterpène et d'au moins un sucre. Elles sont largement présentes naturellement dans certaines plantes⁴⁴ et organismes marins⁴⁵.

Étant déjà exploitées dans certaines médecines traditionnelles, elles sont reconnues pour avoir un fort potentiel pharmacologique. Des propriétés antibactériennes, cytotoxiques et antivirales ont été démontrées *in vitro*³⁹. En plus d'augmenter la solubilité du triterpène, il a été montré que la synthèse de saponines triterpéniques pouvait améliorer les propriétés cytotoxiques¹⁸. Par exemple, l'ajout d'un résidu L-rhamnose en position C-3 de l'acide bétulinique a permis de moduler positivement l'activité biologique. En plus d'augmenter l'activité cytotoxique contre les cellules cancéreuses, la cytotoxicité contre les cellules normales a diminué (Figure 5)¹⁸. De la même manière, plusieurs saponines dérivées d'acide ursolique naturelles ont été identifiées dans diverses plantes⁴⁶. Il a par exemple été montré que l'ajout d'un D-glucose en position 28 de l'acide ursolique permet d'augmenter la cytotoxicité face aux cellules cancéreuses du colon (Figure 5), une activité anti-VIH marquée ($EC_{50} = 4 \mu\text{M}$) a également été identifiée pour ce dérivé⁴⁷⁻⁴⁹.

Les saponines triterpéniques d'acide bétulinique et d'acide ursolique présentant une cytotoxicité notable, leur modification partielle semble être intéressante afin d'en explorer l'impact sur leurs propriétés.

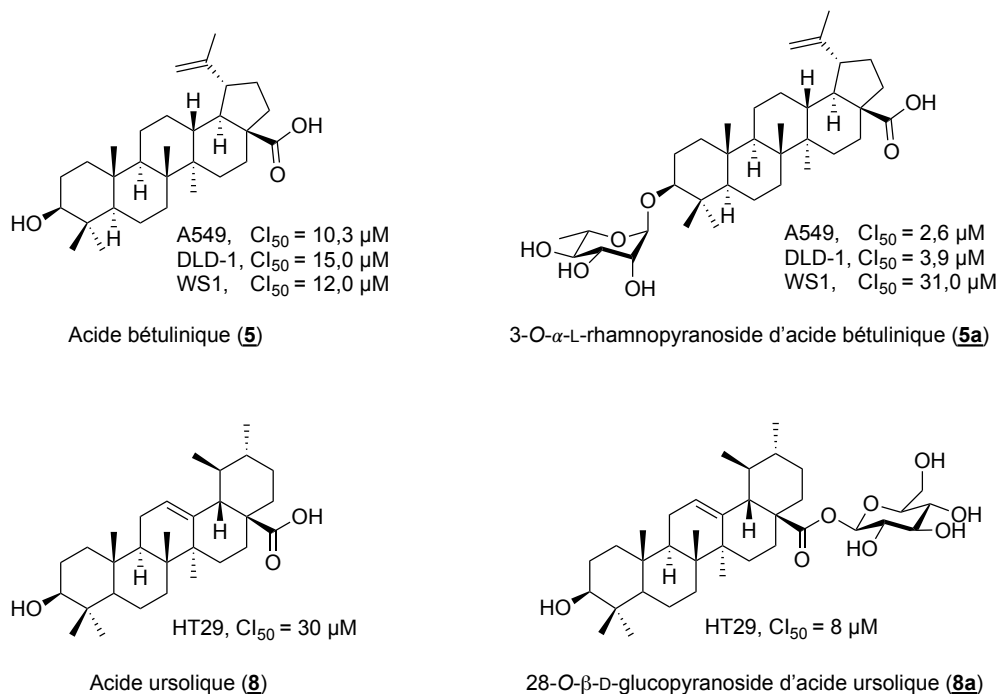


Figure 5. Impact de la glycosylation de triterpènes pentacycliques (5-8) sur leur cytotoxicité face aux cellules cancéreuses du poumon A549, colorectal DLD-1, de la peau normale WS1 et de l'adénocarcinome du côlon humain HT29.

1.3 Impact de la méthylation partielle des glycosides

Parmi les glycosides naturels utilisés comme médicaments, certains présentent une méthylation partielle. La méthylation partielle de glycosides naturels contribue à la diversité structurelle des molécules naturelles¹¹.

La mégalomycine C (**9a**) (Figure 6) possède un sucre méthylé dans sa structure. C'est un macrolide naturel antibiotique produit par des bactéries (*Micromonospora megalomicea*), elle possède également des propriétés antivirales et antiparasitaires⁵⁰. La rébeccamycine (**9b**), produite par plusieurs types de bactéries (*Saccharothrix aerocolonigenes* ou *Lechevalieria aerocolonigenes* ATCC 39243), est un alcaloïde anticancéreux qui possède un glucose méthylé dans sa structure⁵¹.⁵² Enfin, la tylosine (**9c**), utilisée en médecine vétérinaire est un macrolide antimicrobien produit de fermentation de bactérie (*Streptomyces erythreus*) qui présentant une diméthylation^{53, 54}.

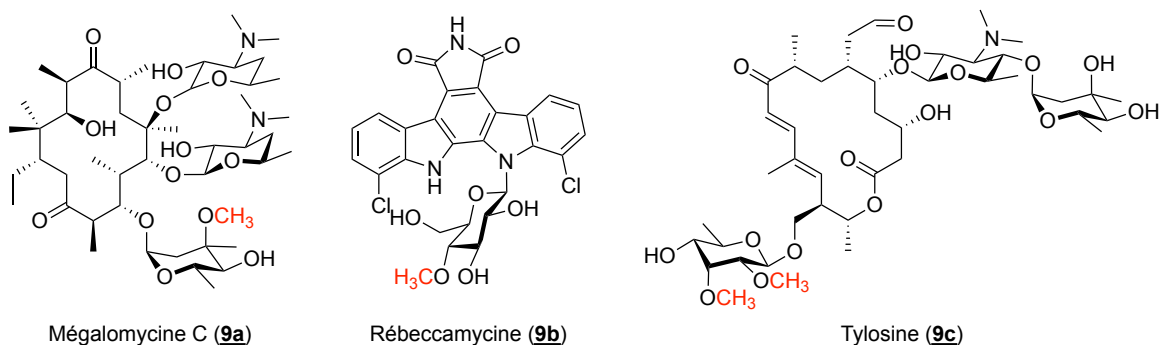


Figure 6. Glycosides bioactifs présentant une méthylation partielle du sucre (**9a-c**).

Le "magic methyl effect" est un concept qui se base sur de nombreux exemples démontrant l'impact du groupement méthyle sur les propriétés pharmacologiques d'une molécule⁷. Cette modification peut avoir des impacts sur diverses propriétés biologiques⁵⁵. La présence du méthyle permet de modifier les interactions hydrophobes, les interactions de Van der Waals, la solubilité, la stabilité métabolique ainsi que les liaisons hydrogènes potentielles⁷⁻⁹. Dans le cas plus particulier de certains glycosides présentant des sucres partiellement méthylés, l'importance de cette caractéristique structurelle dans leurs effets biologiques a été démontrée¹¹. C'est le cas de la noviobiocine (**10a**), une aminocoumarine produite par une bactérie (*Streptomyces niveus*) qui

présente une méthylation à la position 4 du groupement novobiose contribuant à l'activité antimicrobienne contre le staphylocoque doré résistant à la méthicile ($CI_{90} = 0,25 \mu\text{g/mL}$). En absence du méthyle, le dérivé obtenu (**10b**) est de l'ordre de 64 fois moins puissant ($CI_{90} = 16 \mu\text{g/mL}$) (Figure 7)⁵⁶.

De la même manière, il a été montré que la présence d'un méthyle sur l'oxygène en position 3 du rhamnose de la quercitrine (**11a**) module nettement ses propriétés biologiques. En effet, le flavonoïde 3''-O-méthylquercitrine (**11b**) est cytotoxique face aux cellules cancéreuses pancréatiques PANC-1 ($CI_{50} = 0,7 \mu\text{M}$) et prostatiques DU-145 ($CI_{50} = 0,8 \mu\text{M}$) (Figure 7). En l'absence du méthyle, la quercitrine, extraite du quercitron (*Quercus velutina*), ne possède pas ces propriétés¹⁰.

En revanche, le glycoside cardionique présentant un fucose mono-méthylé (**12a**) isolé du serut (*Streblus asper*) a montré une cytotoxicité inférieure contre les cellules cancéreuses du côlon HT-29 par rapport à son homologue non méthylé (**12b**) (Figure 7)⁵⁷.

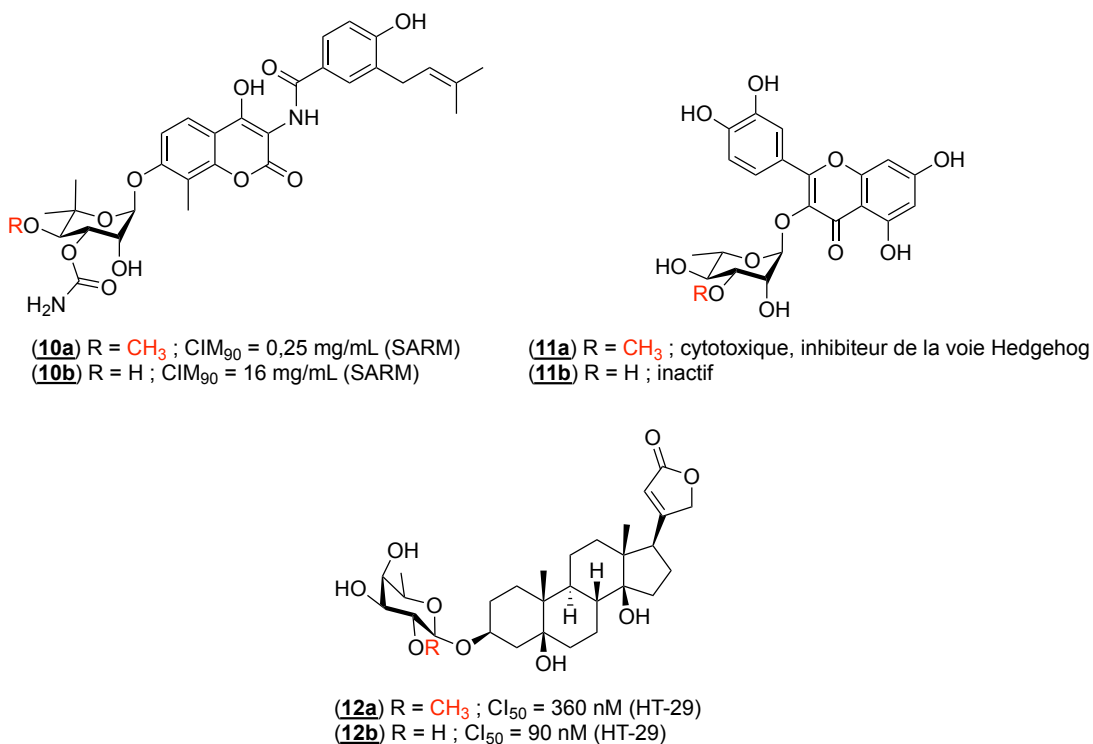


Figure 7. Impact de la méthylation sur divers glycosides (**10a-12b**).

La méthylation partielle de glycosides paraît donc être une modification intéressante afin de moduler leur bioactivité. Malheureusement, les voies de synthèses rapportées dans la littérature sont relativement limitées.

1.4 Voie actuelle de synthèse

La méthylation partielle de glycosides est généralement réalisée par l'intermédiaire de groupements protecteurs. Reposant sur des séquences de protections/déprotections pour distinguer la position à méthyler, c'est une méthode qui nécessite au moins 3 étapes de synthèse. En plus d'utiliser de nombreux produits toxiques et nocifs pour l'environnement les multiples étapes de cette synthèse la rendent relativement fastidieuse¹¹.

Dans le cas plus particulier des sucres présentant un motif diol 1,2-*cis*, la méthylation de la position équatoriale est réalisée selon une procédure en deux étapes (Schéma 1). Dans un premier temps, une quantité stœchiométrique de réactif à base d'étain est ajoutée afin de générer un acétal stannylène entre les positions hydroxyles du diol 1,2-*cis*. Cette réaction se fait généralement dans du toluène et à reflux. Par la suite, la position équatoriale, plus nucléophile⁵⁸, est méthylée en présence d'un excès d'iodométhane généralement dans du DMF. Cette étape se fait généralement à 80°C excédant ainsi le point d'ébullition de l'iodométhane (42,5°C). Par conséquent, une grande quantité d'iodométhane est souvent employée parfois de lui un co-solvant de la réaction^{11, 12}.

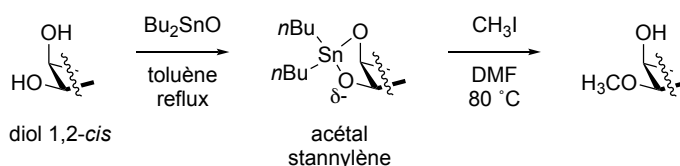


Schéma 1. Approche séquentielle pour la méthylation de la position équatoriale d'un diol 1,2-*cis* par l'intermédiaire d'un acétal stannylène.

En plus d'être séquentielle et d'employer des quantités stœchiométriques d'un réactif à base d'étain toxique et nocif pour l'environnement,^{13, 14} cette approche est difficilement transposable à certains glycosides complexes. Par exemple, Li Xia et Lowary ne sont pas parvenus à modifier spécifiquement des oligomannosides avec cette méthode emmenant à un mélange de produits de mono et de diméthylation¹⁵ (Schéma 2).

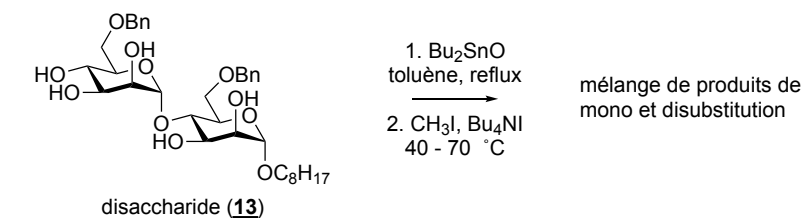


Schéma 2. Essai de méthylation partielle effectuée par l'équipe de Li Xia et al.

Pourtant, certains résultats dans la littérature suggèrent qu'une version catalytique de cette réaction à plus basse température serait possible^{11, 59}.

1.5 Des approches catalytiques envisageables

Différents systèmes catalytiques ont été étudiés depuis les années 2010 pour modifier des sucres déprotégés de façon site-sélective. Des catalyseurs à base de bore, de fer ou d'étain, ont notamment permis d'alkyler des sucres présentant une fonction diol 1,2-*cis*⁶⁰ mais aucune de ces méthodes n'a pour l'heure été étendue à la méthylation¹¹. Par exemple, l'équipe de Taylor a montré que des acides boriniques catalysent la benzylation site-sélective de sucres en présence d'oxyde d'argent (Schéma 3). La réaction fait intervenir un borinate qui catalyse la réaction permettant la monoalkylation sélective de divers glycosides. Il a ainsi été possible de monobenzylé un mannoside (**13a**) en une étape avec un rendement de 95%⁶¹. Ce type de réaction a été appliqué avec divers agents alkylants, comme du bromure de benzyle ou du bromure d'allyle^{61, 62}, qui sont de meilleurs électrophiles par rapport à ceux utilisables pour la méthylation. Ces conditions sont ainsi inefficaces dans le cas de la méthylation site-sélective de glycosides. La méthylation site-sélective de glycosides représente donc un défi comparativement à d'autres monoalkylations sélectives.

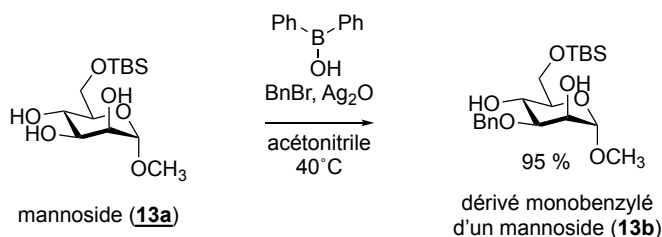


Schéma 3. Monobenylation site-sélective catalysé un borinate effectué par l'équipe de Taylor.

Des réactifs à base d'étain ont déjà été utilisés afin de faciliter des alkylations site-sélective⁶².
⁶³. Ces réactifs, qui sont capables de former des acétals stannylènes avec un motif diol 1,2-*cis* de sucre, se sont avérés être des intermédiaires efficaces pour modifier sélectivement l'oxygène équatorial du sucre⁶⁰. Par exemple, des monoalkylations de sucres ont déjà été catalysées par de l'oxyde de dibutylétain (Schéma 4)⁶³. Cette réaction fait intervenir la formation d'un acétal stannylène intermédiaire qui permet d'installer un benzyle de manière sélective en position équatoriale des un motif diol 1,2-*cis*.

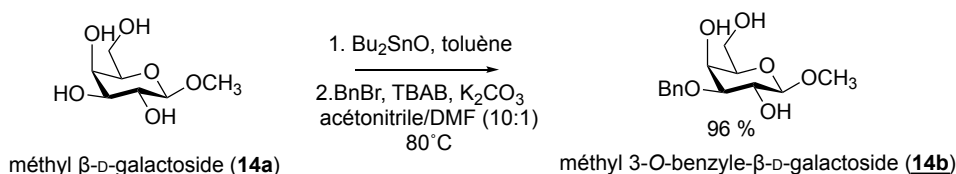


Schéma 4. Monobenzilation site-sélective catalysée par un catalyseur à l'étain effectuée par l'équipe de Xu.

L'utilisation de sels d'argent a également permis de modifier site-sélectivement plusieurs glycosides à température ambiante. En effet, il a été montré que la benzilation régiosélective de sucres présentant un motif diol 1,2-*cis* catalysée par l'étain à température ambiante est réalisable. Cette approche (Schéma 5) n'a cependant pas été étendue à la méthylation⁶².



Schéma 5. Modification catalytique et site-sélective d'un glycoside utilisant des sels d'argent.

Par ailleurs, l'utilisation d'ions fluorures permet d'activer un acétal stannylène. En effet, il a été montré qu'une monométhylation est possible en passant par un acétal stannylène activé par ions fluorures et à température ambiante (Schéma 6)⁶⁴. En effet, un acétal stannylène est formé entre les deux groupements hydroxyles du diméthyle L-tartrate à reflux dans du toluène. Par la suite, le produit de monométhylation est formé à l'aide d'iodométhane en présence de fluorure de césium. L'ajout de fluorure de césium permet d'effectuer cette réaction à température ambiante. Ce procédé est stœchiométrique en réactif à base d'étain mais n'a pas été étendu à la méthylation site-sélective de glycosides.

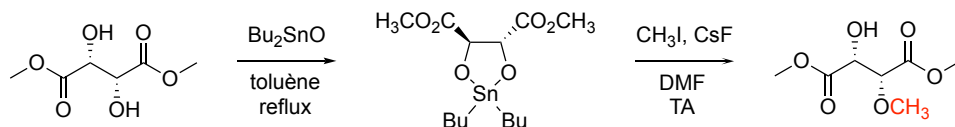


Schéma 6. Méthylation du diméthyle L-tartrate à température catalysée par du CsF⁶⁴.

Il a été montré que l'activation d'acétals stannylène par des ions fluorures implique l'addition d'un ion fluorure sur l'atome d'étain. Ce phénomène augmente la charge négative de Mulliken sur les atomes d'oxygène, ce qui se traduit par une augmentation de la nucléophilie des acétals stannylènes⁶⁵ (Schéma 7).

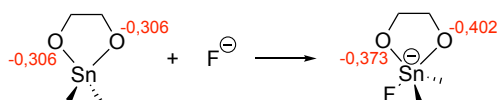
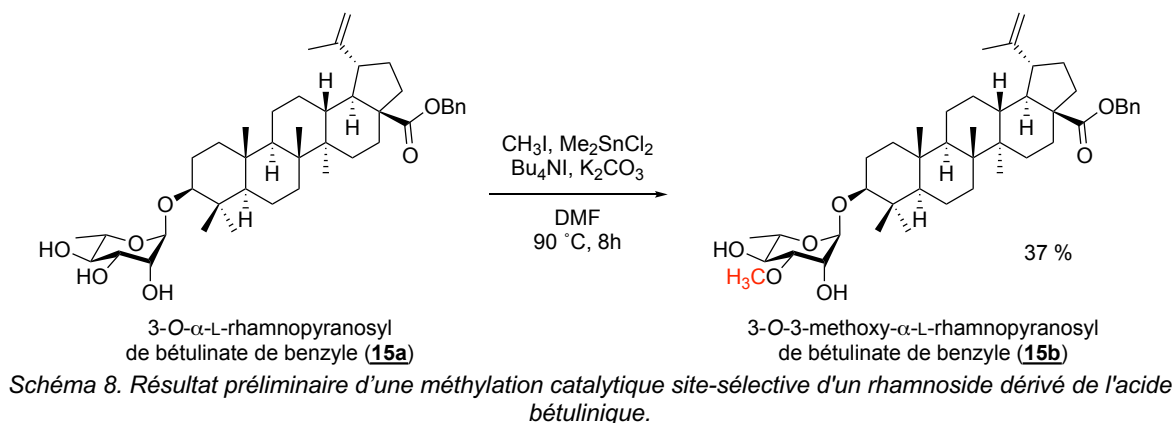


Schéma 7. Charge négative de Mulliken des atomes d'oxygènes de l'acétal stannylène lors de l'ajout d'un ion fluorure d'après Saikam et al.⁶⁵.

En résumé, les alkylations catalytiques site-sélective de glycosides n'ont pour le moment jamais été étendues à la méthylation. D'autre part, les méthylations d'acétals stannylènes rapportées sont réalisées avec des proportions stœchiométriques d'étain.

Un résultat préliminaire encourageant obtenu au laboratoire LASEVE a toutefois montré qu'il était possible de méthyler de façon site-sélective un rhamnoside dérivé de l'acide bétulinique en une seule étape catalytique qui diminue la quantité d'étain nécessaire (0,2 mol%)⁵⁹. Cependant, ce mode opératoire se fait à une température élevée (90°C) dépassant le point d'ébullition de l'iodométhane et aboutissant à un rendement plutôt modeste (Schéma 8).



1.6 Hypothèses et objectif de recherche

La méthylation partielle de glycosides semble être une modification intéressante afin de moduler leur activité biologique. Cependant, les méthodes de méthylation site-sélective de glycosides complexes sont actuellement relativement fastidieuses. Celles-ci se font de façon séquentielle en utilisant un promoteur à base d'étain en quantité stœchiométrique et la température élevée de la réaction force à utiliser l'iodométhane en excès. Différentes références bibliographiques permettent d'émettre l'hypothèse que la méthylation régiosélective de sucre présentant un motif diol 1,2-*cis* est réalisable en une seule étape catalytique et à température ambiante.

L'objectif de cette maîtrise est donc de développer la première réaction catalytique de méthylation des sucres présentant un motif diol 1,2-*cis* (Schéma 9). L'utilisation d'ions fluorures ou de sels d'argent seront envisagés pour abaisser la température de la réaction. Le protocole développé sera appliqué à diverses saponines triterpéniques afin d'explorer l'impact de la monométhylation sur leurs propriétés pharmacologiques. Ceci permettra d'ouvrir la voie à la synthèse de divers glycosides méthylés.

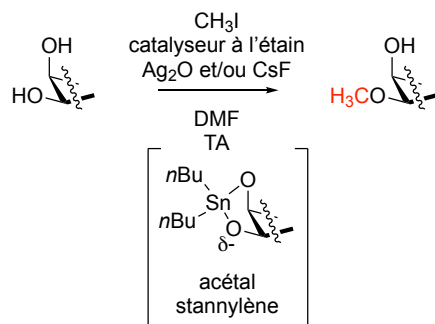


Schéma 9. Méthylation catalytique site-sélective de sucre présentant un motif diol 1,2-cis.

CHAPITRE 2

RÉSULTATS ET DISCUSSION

2.1 Synthèse des précurseurs

2.1.1 Donneurs de sucre

Ce projet visait à développer un protocole de méthylation site-sélective ainsi que de l'appliquer à diverses saponines triterpéniques afin d'évaluer l'impact de cette modification sur leurs propriétés biologiques. Pour cela, trois sucres ont été utilisés afin de synthétiser les saponines triterpéniques. Parmi eux le L-rhamnose (**16**), le L-fucose (**17**) et le L-arabinose (**18**) présentant tous un motif diols 1,2-*cis* (Figure 8).

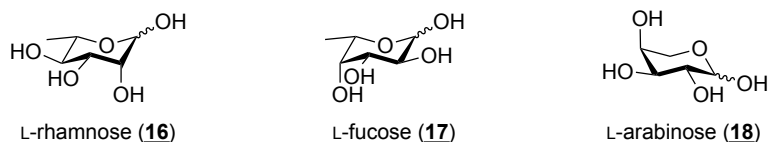


Figure 8. Structure des sucres utilisés (**16-18**).

La synthèse des donneurs de sucre est réalisée en quatre étapes à partir des composés disponibles commercialement¹⁸. La synthèse de ces glycosides étant la même pour tous, le rhamnose sera pris comme exemple pour leurs synthèses (Schéma 10). Les mécanismes des étapes de synthèse sont détaillés à l'ANNEXE 1. Dans un premier temps le rhamnose (**16**) est perbenzoylé avec du chlorure de benzoyle dans de la pyridine en présence de DMAP permettant d'activer le chlorure de benzoyle afin de catalyser la réaction. Le mélange anomérique obtenu (**16a**) est réengagé sans purification avec de l'acide bromhydrique à 33%. Le groupement benzoyle en position anomérique est protoné et est éliminé afin de former un ion oxonium permettant au bromure d'attaquer la position anomérique et formant l'intermédiaire bromé désiré (**16b**). Le brut obtenu est de nouveau réengagé sans purification dans une réaction de Koenigs-Knorr en présence de carbonate d'argent dans un mélange eau/acétone afin d'hydrolyser la position anomérique. Le produit d'hydrolyse pur obtenu (**16c**) réagit avec le trichloroacétonitrile en présence d'une base, le carbonate de césium, pour former le trichloroacétimidate (**16d**). La présence du groupement

trichloroacétimide est confirmée par RMN, notamment avec le singulet à 8,85 ppm intégrant pour un proton (N-H) (ANNEXE 2) correspondant aux données dans la littérature⁶⁶.

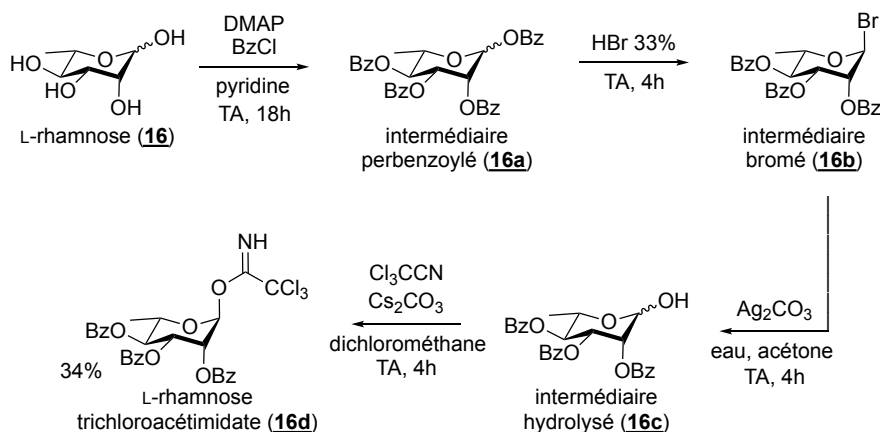


Schéma 10. Synthèse du trichloroacétimide de L-rhamnose (**16d**).

Le trichloroacétimide de L-rhamnose (**16d**), le trichloroacétimide de L-fucose (**17d**) et le trichloroacétimide de L-arabinose (**18d**) (Figure 9) sont ainsi obtenus avec des rendements de 34%, 32% et 48% sur quatre étapes respectivement. Dans le cas de l'arabinoside, lors de la quatrième étape de synthèse la formation d'un second diastéréoisomère est généralement remarquée (**18d'**)⁶⁷.

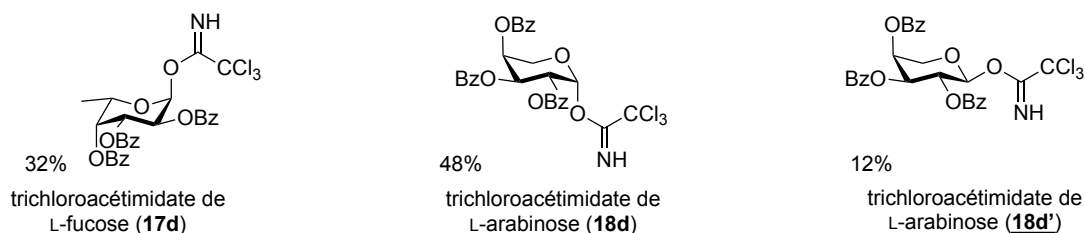


Figure 9. Structure des sucres protégés (**17d-18d**).

2.1.2 Protection des aglycones

En vue de synthétiser diverses saponines triterpéniques, deux triterpènes ont été utilisés, l'acide bétulinique (**5**) et l'acide ursolique (**8**). Ces triterpènes possèdent un groupement acide carboxylique en position 28. L'ester allylique permet de protéger l'acide carboxylique initial qui est un site réactif qui pourrait générer des réactions secondaires indésirables lors des étapes de synthèses suivantes¹⁸.

La synthèse des triterpènes protégés se fait en une étape à partir des composés disponibles commercialement. Le mécanisme de synthèse est détaillé à l'ANNEXE 3.

L'acide carboxylique (**5**, **8**) réagit avec le bromure d'allyle en présence d'une base, le K_2CO_3 (Schéma 11). Le bétulinate d'allyle (**5b**) et l'ursolate d'allyle (**8b**) sont ainsi obtenu avec un rendement de 82% et 83% respectivement. La présence du groupement allylique est vérifiée par RMN, notamment avec l'apparition d'un multiplet intégrant pour 2 protons à 4,59 ppm ($CH_2-CH=CH_2$), deux doublets à 5,22 ppm et 5,33 ppm intégrant chacun pour un proton ($CH_2-CH=CH_2$), et un doublet de triplet (mal défini dans le cas du bétulinate d'allyle mais confirmé avec l'ursolate d'allyle) à 5,92 ppm intégrant pour un proton ($CH_2-CH=CH_2$)¹⁸ (ANNEXE 4).

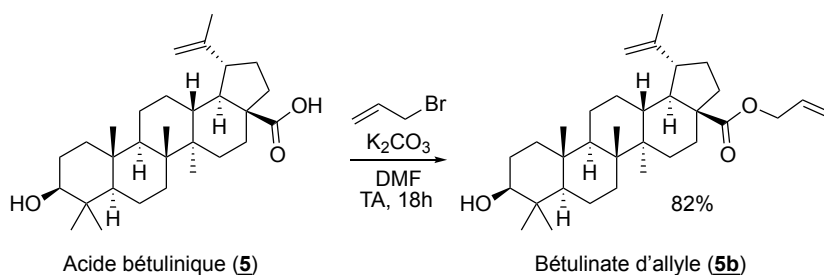


Schéma 11. Synthèse du bétulinate d'allyle (**5d**).

2.1.3 Synthèse des glycosides triterpéniques

Une fois les précurseurs synthétisés, les saponines triterpéniques sont préparées dans des conditions de glycosylation de Schmidt. Les donneurs de sucres activés avec un groupement trichloroacétimidate permettent la glycosylation d'un accepteur en présence d'un catalyseur acide de Lewis⁶⁸. Les glycosylations sont effectuées sur la position 3 des triterpènes protégés en position 28 (**5b** et **8b**). Les produits de glycosylation ainsi obtenus ont par la suite été déprotégés en deux étapes (la première étant la déprotection des benzoates du sucre puis la seconde pour le groupement allylique en position 28). Cette séquence étant similaire pour toutes les saponines étudiées, elle est illustrée dans le Schéma 13 avec l'exemple du rhamnoside d'acide bétulinique (**19c**). Les mécanismes réactionnels sont détaillés à l'ANNEXE 5.

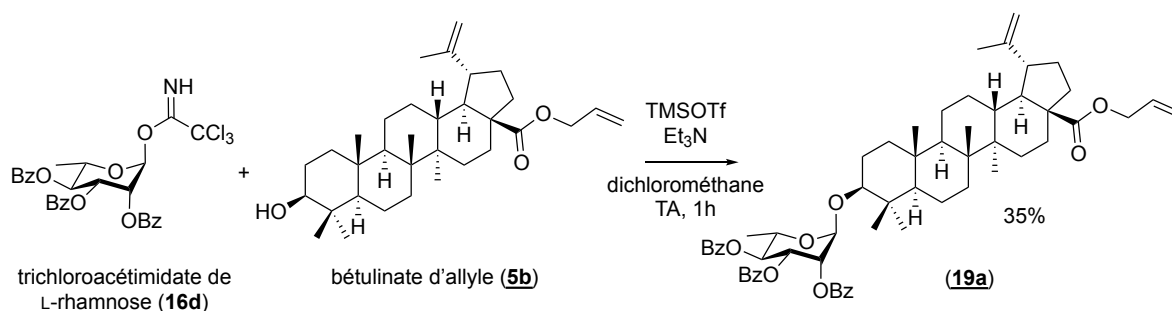


Schéma 12. Glycosylation du rhamnoside benzoylé (**16d**) avec le betulinate d'allyle (**5d**).

La glycosylation suit le principe des glycosylations de Schmidt, l'azote du trichloroacétonitrile réagit avec le silicium du TMSOTf libérant un ion triflate. L'élimination du groupement anomérique conduit à un ion oxonium. Le groupement benzoate en position 2 du sucre participe dans le mécanisme par effet anchimérique, ce qui oriente l'attaque de l'hydroxyle du triterpène dans le plan axial afin de former l'anomère α (**19a**). Les glycosylations se font avec des rendements allant de 35 à 78% avec le betulinate d'allyle et des rendements allant de 66 à 86% avec l'ursolate d'allyle (Figure 10).

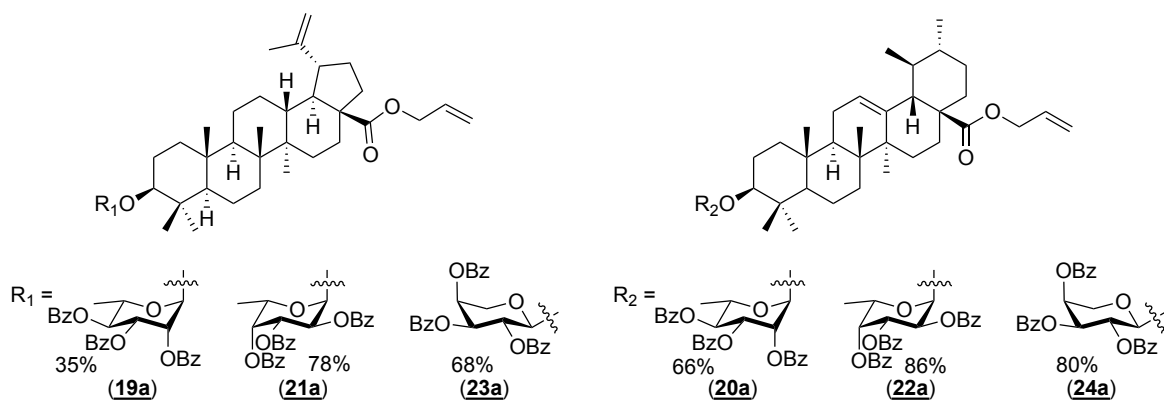


Figure 10. Structure des différents produits de glycosylations

Dans le cas plus particulier des glycosylations du betulinate d'allyle, une réaction secondaire résultant d'un réarrangement du squelette triterpénique peut se produire lors de la glycosylation. Le mécanisme de cette réaction est à l'ANNEXE 6. Celle-ci aboutit à l'obtention de la 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyl)-28-oxoallobétuline et diminue grandement le rendement de la réaction de glycosylation.

Par la suite, les groupements benzoates présents sur le sucre ont été retirés en condition de transestérification basique en présence de méthanolate de sodium dans un mélange de MeOH et de DCM. L'intermédiaire purifié (**19b**) réagit avec de la pyrrolidine en présence de Pd(PPh₃)₄ et de triphénylphosphine afin de former le 3-O- α -L-rhamnopyranosyde d'acide bétulinique (**19c**) (Schéma 13).

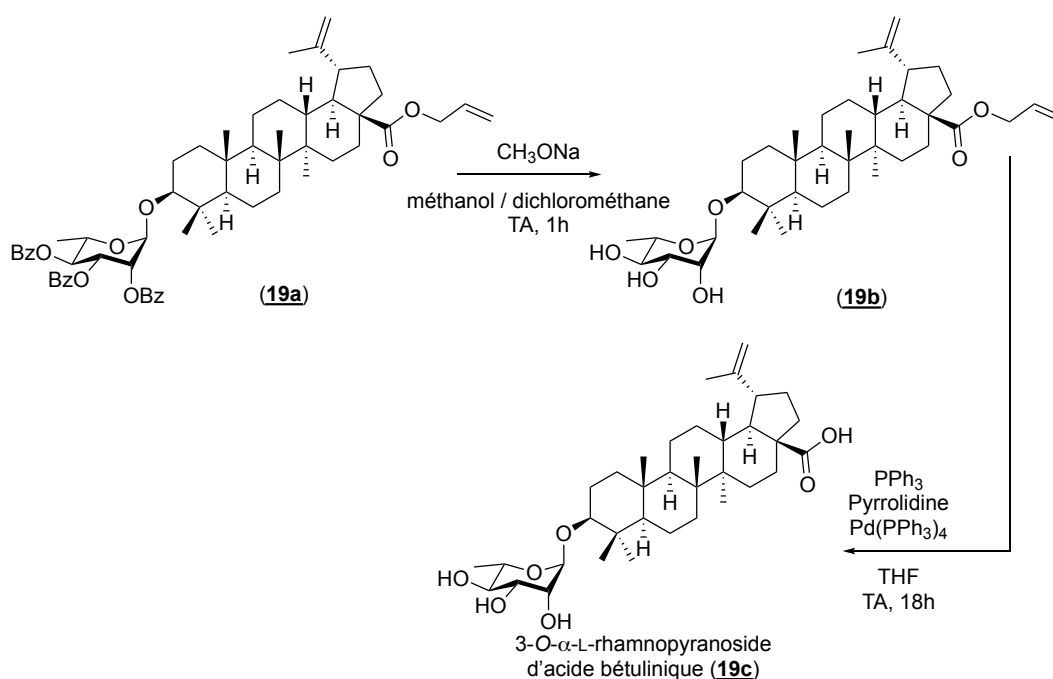


Schéma 13. Synthèse du rhamnoside d'acide bétulinique (**19c**).

2.2 Méthylation site-sélective

2.2.1 Essais en présence d'ions fluorures

Les travaux se sont concentrés sur le développement d'une version catalytique de la réaction de méthylation passant par l'intermédiaire d'un acétal stannylène. Les travaux préliminaires du laboratoire ont permis d'obtenir un produit de méthylation site-sélective d'un rhamnoside en présence de 20 % de Me₂SnCl₂⁵⁹. Néanmoins, le rendement est modeste (37 %) et peut s'expliquer par la température de la réaction (90 °C) excédant le point d'ébullition de l'iodométhane. L'utilisation d'ions fluorures pourrait diminuer la température de la réaction. Comme mentionné auparavant, l'addition d'un ion fluorure sur l'étain d'un acétal stannylène a pour effet d'augmenter la nucléophilie des oxygènes de l'acétal⁶⁵. Pour cela, le rhamnoside d'allylbétulinate (**19d**) a été traité avec 6 équivalents

d'iodométhane, 10% de catalyseur à base d'étain (Me_2SnCl_2) en présence de K_2CO_3 et de fluorure de tétrabutylammonium (TBAF) dans du DMF (Schéma 14).

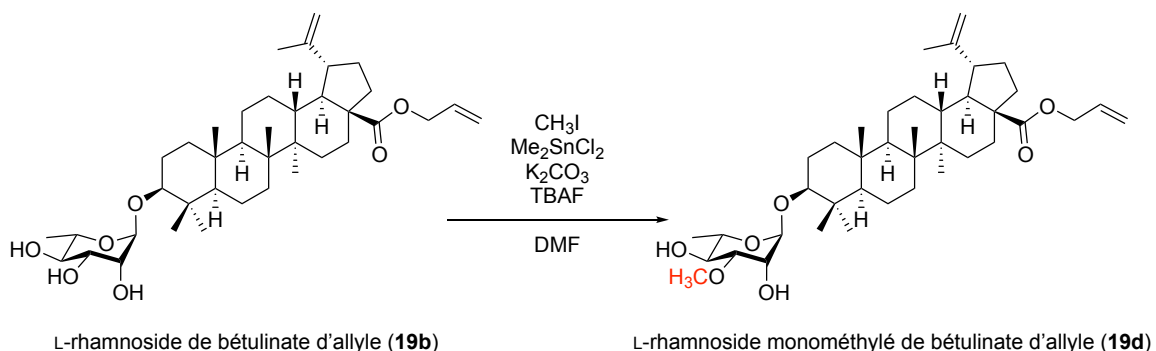


Schéma 14. Essai de méthylation en présence de fluorure de tétrabutylammonium.

Après 18 h d'agitation à température ambiante, le suivi CCM de la réaction a montré que le glycoside de départ était intégralement converti pour former un dérivé moins polaire. Cette observation très encourageante est conforme avec notre hypothèse de départ selon laquelle l'utilisation d'ions fluorures permettrait de réaliser une méthylation catalytique site-sélective sans chauffer. Néanmoins, l'analyse détaillée des spectres RMN du produit obtenu a montré qu'il s'agissait d'un mélange de produits de méthylation de la position 3 et de la position 2 du sucre avec un rapport environ 4:1 (agrandissement d'un spectre RMN ^1H à l'ANNEXE 7). L'utilisation de fluorure de césium à la place du TBAF n'a malheureusement pas permis d'optimiser la sélectivité de la réaction.

La sélectivité limitée de la réaction pourrait être expliquée par la structure de l'acétal stannylène intermédiaire. D'après la littérature⁶⁵, l'acétal stannylène activé par un ion fluorure pourrait adopter une géométrie bipyramidale à base triangulaire dans laquelle un oxygène se retrouverait en position apicale et l'autre en position équatoriale. La charge négative de Mulliken serait plus élevée, en valeur absolue, sur l'oxygène apical que sur l'oxygène équatorial (Figure 11a). Dans le cas de l'acétal stannylène dérivé du sucre, l'activation par le fluorure pourrait aussi bien placer l'oxygène en position 3 que celui en position 2 en position apicale, ce qui pourrait promouvoir la méthylation de ces deux positions (Figure 11b).

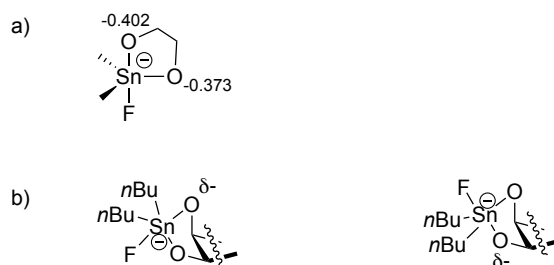


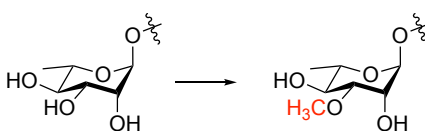
Figure 11. Activation d'un acétal stannylène par un ion fluorure. a) Représentation des charges de Mulliken sur les atomes d'oxygènes⁶⁵. b) Deux modes d'activation d'un acétal stannylène dérivé d'un sucre portant un motif diol 1,2-cis.

2.2.2 Mise au point de la méthode en présence de sels d'argent

L'utilisation d'oxyde d'argent comme additif a rendu possible des benzylations régiosélectives de sucres à température ambiante en activation l'halogénure d'alkyle⁶². Il a donc été envisagé de remplacer le carbonate de potassium par de l'oxyde d'argent. Les essais ont été effectués avec le rhamnoside de méthyle. La polarité de ce substrat a compromis le traitement et la purification des réactions et ces essais se sont limités à un suivi de conversion par CCM (Tableau 1). Initialement, les réactions ont été effectuées avec 6 équivalents d'iodométhane et 1,1 équiv. d'Ag₂O dans le DMF.

De la même manière que pour les essais avec des ions fluorures, en absence de catalyseur le substrat n'a pas pu être converti (Tableau 1, entrée 1). En revanche, une conversion totale est observée en présence de 0,1 équiv du catalyseur à base d'étain (Me₂SnCl₂) et de 1,1 équivalent d'oxyde d'argent (Tableau 1, entrée 2). L'importance de l'oxyde d'argent a été démontrée en le remplaçant celui-ci par du K₂CO₃. Dans ces conditions, le substrat de départ reste majoritaire après 22 h d'agitation à température ambiante (Tableau 1, entrée 3).

Tableau 1. Essais de méthylation en présence de sels d'argent.



Entrée	CH ₃ I	Catalyseur (0,1 équiv.)	Ag ₂ O	Conversion estimée par CCM
1	6 équiv.	0	1,1 équiv.	Traces
2	6 équiv.	Me ₂ SnCl ₂	1,1 équiv.	Totale
3	6 équiv.	Me ₂ SnCl ₂	K ₂ CO ₃ 1,1 équiv.	Partielle
4	5 équiv.	Me ₂ SnCl ₂	1,1 équiv.	Totale
5	4 équiv.	Me ₂ SnCl ₂	1,1 équiv.	Partielle
6	6 équiv.	Me ₂ SnCl ₂	0,6 équiv.	Partielle
7	5 équiv.	Bu ₂ SnCl ₂	1,1 équiv.	Totale

Afin d'optimiser la méthode plusieurs paramètres ont été modifiés. Dans un premier temps, la quantité d'iodométhane nécessaire a été vérifiée. De la sorte, il a pu être déterminé que 5 équivalents d'iodométhane était suffisants afin d'avoir une conversion totale du substrat (Tableau 1, entrée 4). En effet, en diminuant à 4 équivalents une conversion seulement partielle est observée (Tableau 1, entrée 5). En ce qui concerne l'oxyde d'argent, les tentatives de diminution de sa quantité ont également été effectuées. Sachant que l'oxyde d'argent est un sel contenant deux atomes d'argent des essais avec des quantités moindres de 1 équivalent ont été effectués. Ces essais ont cependant abouti à des conversions partielles (Tableau 1, entrée 6). Enfin, le catalyseur à base d'étain a été modifié, en passant du Me₂SnCl₂ au Bu₂SnCl₂ permettant de la sorte une réaction sensiblement plus rapide (Tableau 1, entrée 7).

Le protocole optimisé se fait donc avec 0,1 équivalent de Bu₂SnCl₂ qui va activer le motif diols 1,2-*cis* en formant un acétal stannylène puis 5 équivalents d'iodométhane lui-même activé par 1,1 équivalent d'oxyde d'argent le tout dans du DMF à température ambiante.

2.2.3. Méthylation des saponines triterpéniques

Une fois le protocole de méthylation optimisé, celui-ci a été appliqué aux saponines triterpéniques. Quatre saponines triterpéniques ont pu être méthylées avec le protocole développé, le L-rhamnoside de bétulinate d'allyle (**19d**), le L-rhamnoside d'ursolate d'allyle (**20d**), le L-fucoside

d'ursolate d'allyle (**22d**) et le L-arabinoside de bétulinate d'allyle (**23d**) avec des rendements basés sur le produit de départ réisolé de 82%, 30%, 56% et 73% respectivement (Figure 12). Les différences de rendements peuvent s'expliquer par les différences dans les aglycones (de meilleurs rendements pour le bétulinate d'allyle que l'ursolate d'allyle) ainsi que par des pertes lors de la purification pour le produit **20d**. Les différentes saponines méthylées obtenues présentent une méthylation partielle sur la position équatoriale des diols 1,2-*cis*. Dans tous les cas, des traces d'un autre produit de monométhylation sont observées sur les spectres ^1H (agrandissement en ANNEXE 8, avec un ratio de 9:1 entre le produit attendu et le produit secondaire).

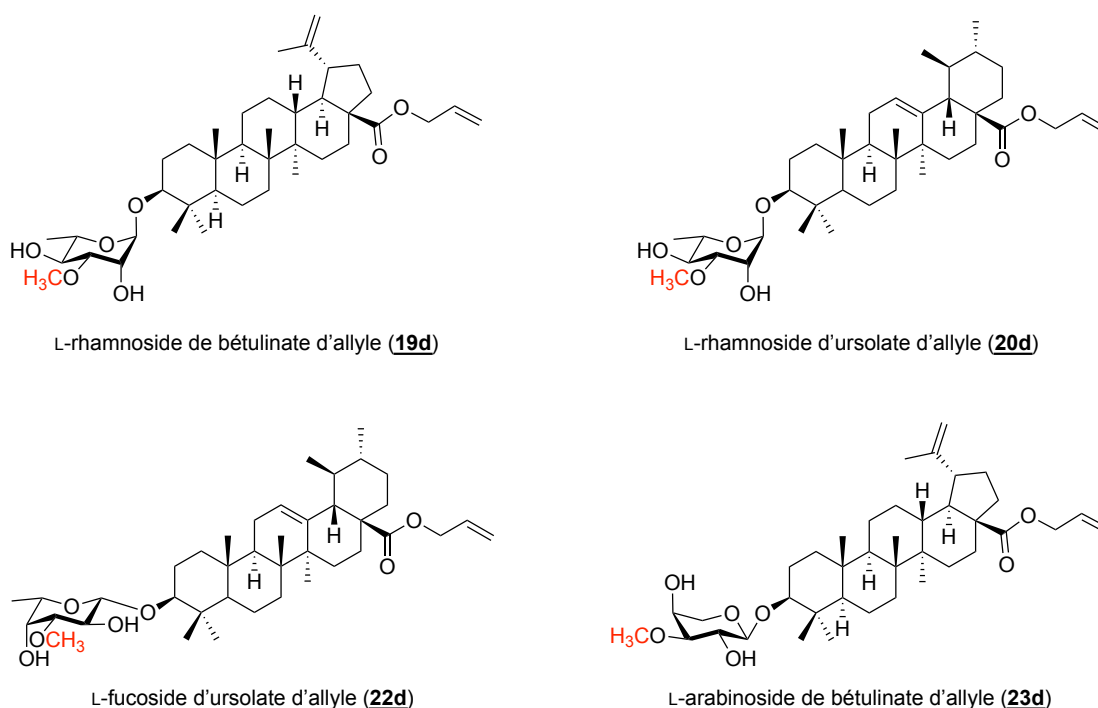


Figure 12. Structure des saponines méthylées (**19d-23d**).

La position équatoriale est méthylée étant la plus nucléophile (mécanisme réactionnel à l'ANNEXE 9). La présence du méthyle est vérifiée par RMN avec un singulet intégrant pour 3 protons vers 3,5 ppm (ANNEXE 10). L'emplacement du méthyle est par la suite vérifié à l'aide de RMN 2D, une RMN 2D homonucléaire COSY montrant les interactions proton-proton permet d'identifier chaque proton couplé de la molécule, par la suite une RMN 2D hétéronucléaire HSQC montre les interactions proton-carbone permettant ainsi d'identifier chaque carbones de la molécule. Enfin, une

RMN 2D hétéronucléaire HMBC montre les interactions proton-carbone à plus longue distance permettant de vérifier la présence d'un couplage soit entre les protons du méthyle et le carbone en position 3 du sucre soit entre le carbone du méthyle et le proton en position 3 du sucre (ANNEXE 11).

Par la suite, le groupement allylique présent sur en position 28 des molécules est déprotégé. Cette réaction est effectuée en présence d'un catalyseur de palladium qui réagit avec le groupement allylique formant un complexe qui est attaqué par un nucléophile et l'acide carboxylique est reformé en captant un proton⁶⁹. Cette réaction se fait aussi bien sur les saponines mono méthylées que sur leurs homologues non méthylés. Cette étape a permis d'obtenir quatre saponines complètement déprotégées, dont deux mono méthylées, le L-rhamnoside d'acide ursolique (**20c**), le 3-méthyle L-rhamnoside d'acide ursolique (**20e**), le L-fucoside d'acide ursolique (**22c**) et le 3-méthyle L-fucoside d'acide ursolique (**22e**) avec des rendements allant de 41 à 98%. Cette étape permet également d'isoler le produit de monométhylation souhaité du coproduit de méthylation non désiré formé de la réaction de méthylation, permettant ainsi d'avoir les composés d'intérêts purs (Figure 13).

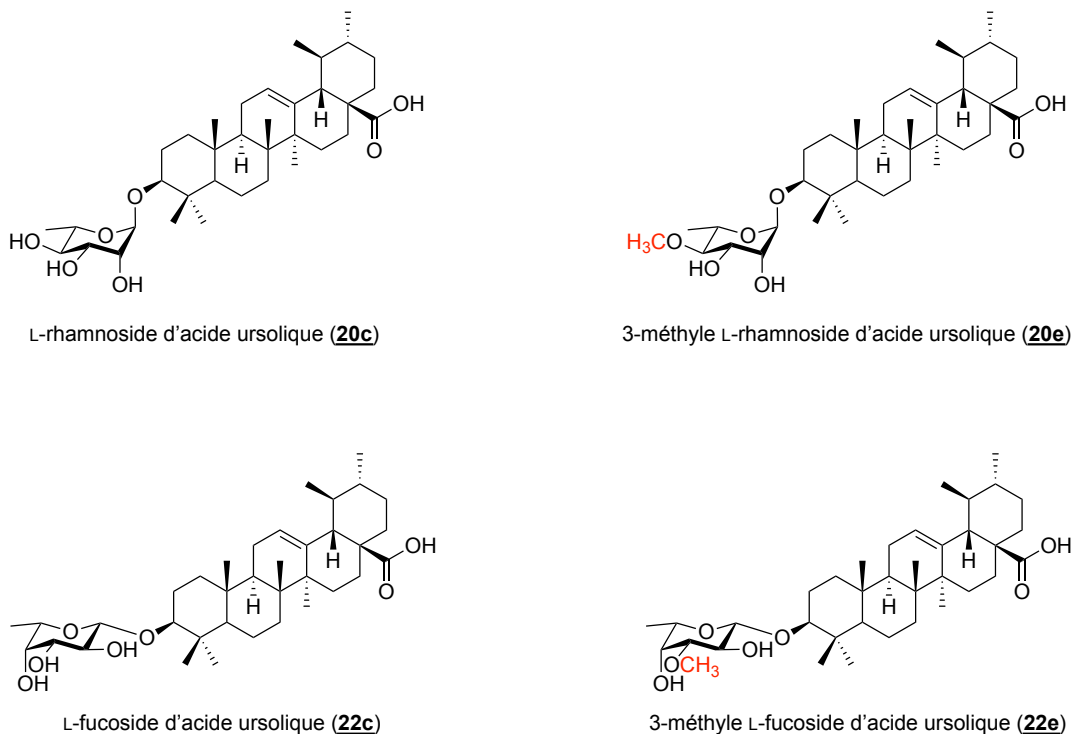


Figure 13. Structure des saponines finales obtenues (**20c**, **20e**, **22c**, **22e**).

CONCLUSION

L'objectif principal visant à développer un protocole de méthylation site-sélective de sucre en une seule étape catalytique à température ambiante a été atteint. Ce travail impliquait aussi la préparation de quelques glycosides triterpéniques protégés afin de mettre à l'essai le protocole de monométhylation. Ces composés ont été synthétisés avec de bons rendements (de 30% à 82%) comparables à la littérature.

Le protocole de méthylation mis au point en utilisant 0,1 équivalent de Bu_2SnCl_2 , 1,1 équivalent de Ag_2O et 5 équivalents de CH_3I dans du DMF a permis de méthyler des glycosides complexes présentant un motif diol 1,2-*cis* en une seule étape catalytique et à température ambiante. La présente méthode méthyle, avec une sélectivité supérieure à 9:1, la position équatoriale du diol 1,2-*cis* du sucre. Les produits de mono-méthylations purs sont obtenus à la suite de la déprotection du groupement allylique en position 28 du triterpène. Ce nouveau procédé permet d'éviter une séquence réactionnelle en deux étapes. De plus le procédé permet de diminuer considérablement la quantité de réactif à base d'étain et limite l'utilisation d'iodométhane car la réaction s'effectue à température ambiante. Finalement, l'objectif de cette maîtrise a été atteint en synthétisant divers dérivés de saponines triterpéniques méthylées.

La suite de ces travaux permettra d'évaluer l'effet (favorable ou non) de la présence d'un groupement méthyle sur la cytotoxicité de ces saponines. Divers autres tests biologiques vont également être effectués afin d'observer l'impact de la méthylation sur des propriétés telles qu'antioxydantes, anti-inflammatoires, etc. Ces travaux permettront aussi de synthétiser de multiples dérivés mono-méthylés de molécules complexes présentant des sucres avec un motif diol 1,2-*cis*.

CHAPITRE 3

PARTIE EXPÉRIMENTALE

3.1 General information

All starting materials and solvents were purchased from commercial sources and used as received without further purification. Reactions were conducted under argon atmosphere, using anhydrous solvents, unless otherwise noted. All reactions were monitored by TLC using normal phase silica gel F-254 200 μm precoated aluminum foil plates from SiliCycle (SiliaPlate™) and visualized under UV (254 nm) or revealed using CAM solution. Products were purified by flash chromatography using normal phase silica gel 60 (40-63 μm) from SiliCycle or using an automated flash chromatography system (BUCHI Pure C-815 Flash) with pre-packed silica gel (40-63 μm) cartridges. NMR spectra were recorded with Buker Ascent™ 500 spectrometer at 500 MHz for ^1H nuclei and 126 MHz for ^{13}C nuclei. Solvent used for NMR samples were deuterated chloroform or methanol. Chemical shifts were reported in ppm relative to the solvent residual peak⁷⁰ (in CDCl_3 δ = 7.29 ppm for ^1H and 77.16 ppm for ^{13}C ; in CD_3OD δ = 3.31 ppm for ^1H and 49.00 ppm for ^{13}C). Coupling constants J were in Hertz (Hz). Multiplicities were reported using following abbreviations: s, singlet; d, doublet; t, triplet; q, quarter; m, multiplet.

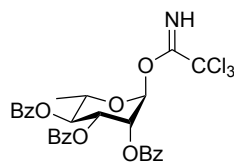
3.2 General procedure for the synthesis of trichloroacetimidates

A mixture of sugar (1 eq.) and DMAP (0.01 eq.) in pyridine was stirred 5 min at room temperature. Benzoyl chloride (5 eq.) was added dropwise at 0°C. Then, the mixture was stirred overnight at room temperature and controlled by TLC. The reaction was quenched with MeOH, diluted with DMC at 0°C and washed with cold aqueous HCl 1 N, a saturated aqueous solution of NaHCO_3 and a saturated aqueous solution of NaCl. The organic layer was dried over Na_2SO_4 , filtered and the solvent rotary evaporated. The crude benzoylated intermediate was used for the next step without further purification. A solution of HBr (33 % in acetic acid) was added at 0°C. The mixture was stirred room temperature and controlled by TLC. After 4 h, the reaction was diluted with DCM, washed with

a saturated aqueous solution of NaHCO₃ and a saturated aqueous solution of NaCl. The organic layer was dried over Na₂SO₄, filtered and the solvent rotary evaporated. The crude glycosyl bromide intermediate was used for the next step without further purification. The residue was dissolved in a mixture of acetone and water (30 : 1 v/v) and Ag₂CO₃ (2 eq.) were added. The mixture was stirred 3 h at room temperature in the dark and controlled by TLC. Then filtered through a Celite® bed. The organic layer was dried over Na₂SO₄, filtered and the solvent rotary evaporated. The crude residue was chromatographed over silica gel using a gradient of ethyl acetate (from 0% to 50%) in hexane as the mobile phase. The pure intermediate was dissolved in anhydrous DCM, CCl₃CN (2 eq.) and Cs₂CO₃ (0.1 eq.) were added. The mixture was stirred for 4 h at room temperature and controlled by TLC. The reaction was filtrated, evaporated and the residue was purified by flash chromatography over silica gel using a gradient of ethyl acetate (from 0% to 25%) in hexane as the mobile phase.

3.2.1 Synthesis of 2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyl trichloroacétimide

(16d)

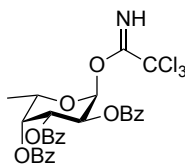


Chemical Formula: C₂₉H₂₄Cl₃NO₈
Molecular Weight: 620.86

Based on the general procedure for the synthesis of trichloroacetimidates, L-rhamnopyranoside monohydrate (**16**) (2.0718 g, 11.37 mmol) afforded the title compound (**16d**) as a white solid (2.3614 g, 34%, 4 steps). R_f = 0.51 (hexanes/ethyl acetate 8:2); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 8.82 (s, 1H), 8.11 (d, 2H, J = 7.9 Hz), 7.98 (d, 2H, J = 8.0 Hz), 7.82 (d, 2H, J = 8.0 Hz), 7.63 (t, 1H, J = 7.5 Hz), 7.54 (m, 3H), 7.43 (m, 3H), 7.28 (m, 2H), 6.46 (s, 1H), 5.89 (m, 2H), 5.78 (t, 1H, J = 9.9 Hz), 4.40 (m, 1H), 1.42 (d, 3H, J = 6.2 Hz). ¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz): 165.85, 165.65, 165.45, 160.25, 133.83, 133.61, 133.39, 130.16, 129.94, 129.86, 129.24, 129.20, 129.13, 128.62, 128.48, 94.95, 90.93, 71.19, 69.84, 69.82, 69.32, 17.90. NMR data were consistent with literature description¹⁸.

3.2.2 Synthesis of 2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-fucopyranosyl trichloroacetimidate

(17d)

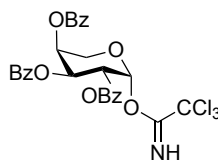


Chemical Formula: C₂₉H₂₄Cl₃NO₈
Molecular Weight: 620.86

Based on the general procedure for the synthesis of trichloroacetimidates, L-fucopyranoside (**17**) (2.0183 g, 12.29 mmol) afforded the title compound (**17d**) as a white solid (2.4416 g, 32%, 4 steps). R_f = 0.50 (hexanes/ethyl acetate 8:2); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.60 (s, 1H), 8.11 (m, 2H), 7.95 (m, 2H), 7.80 (m, 2H), 7.63 (m, 1H), 7.51 (m, 3H), 7.44 (m, 1H), 7.35 (t, 2H, J = 7.8 Hz), 7.25 (m, 2H), 6.83 (d, 1H, J = 3.6 Hz), 6.04 (dd, 1H, J = 10.8, 3.3 Hz), 5.91 (dd, 1H, J = 10.6, 3.6 Hz), 5.87 (m, 1H), 4.65 (m, 1H), 1.33 (d, 3H, J = 6.5 Hz). NMR data were consistent with literature description⁷¹.

3.2.3 Synthesis of 2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-arabinopyranosyl trichloroacetimidate

(18d)

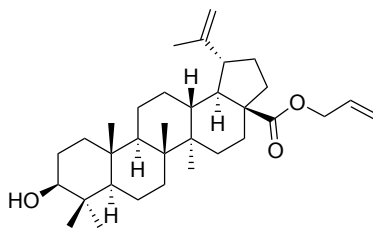


Chemical Formula: C₂₈H₂₂Cl₃NO₈
Molecular Weight: 606.83

Based on the general procedure for the synthesis of trichloroacetimidates, L-arabinoside (**18**) (2.0061g, 13.36 mmol) afforded the title compound (**18d**) as a white solid (3.8547 g, 48%, 4 steps). R_f = 0.64 (hexanes/ethyl acetate 7:3); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.78 (s, 1H), 8.09 (m, 4H), 7.98 (m, 2H), 7.57 (m, 3H), 7.44 (m, 6H), 6.32 (s, 1H), 5.80 (m, 3H), 4.46 (m, 1H), 4.11 (m, 1H). NMR data were consistent with literature description¹⁸.

3.3 Preparation of aglycons

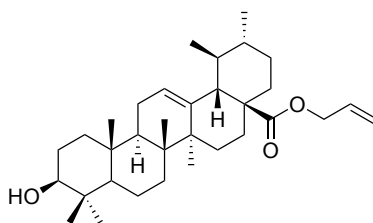
3.3.1 Synthesis of allyl betulinate (**5b**)



Chemical Formula: C₃₃H₅₂O₃
Molecular Weight: 496.78

To a solution of betulinic acid (**5**) (0.8926 g, 1.955 mmol) in DMF (12 mL) was added allyl bromide (0.26 mL, 2.956 mmol) and K₂CO₃ (0.5448 g, 3.942 mmol) and the mixture was stirred overnight at room temperature and controlled by TLC. The mixture was diluted with 160 mL of a mixture of ethyl acetate and toluene (1:1 v/v) and washed with an aqueous solution of HCl 1 N (2 x 100 mL), a saturated aqueous solution of NaHCO₃ (2 x 100 mL) and a saturated aqueous solution of NaCl (2 x 100 mL). The organic layer was dried over Na₂SO₄, filtered and the solvent rotary evaporated. The crude residue was purified by flash chromatography over silica gel using a gradient of ethyl acetate (from 0% to 40%) in hexanes as the mobile phase to afford the title compound (**5b**) as a white solid (0.8779 g, 82%). R_f = 0.37 (hexanes/ethyl acetate 8:2); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 5.92 (ddt, 1H, *J* = 16.8, 10.3, 5.6 Hz), 5.32 (d, 1H, *J* = 17.2 Hz), 5.22 (d, 1H, *J* = 10.4 Hz), 4.73 (s, 1H), 4.58 (m, 3H), 3.17 (dd, 1H, *J* = 11.3 Hz, *J* = 4.8 Hz), 3.00 (td, 1H, *J* = 11.0 Hz, *J* = 4.3 Hz), 2.24 (m, 2H), 2.04 (s, 1H), 1.90 (m, 2H), 1.68 (m, 5H), 1.59 (m, 3H), 1.40 (m, 9H), 1.25 (m, 3H), 1.14 (m, 1H), 0.96 (s, 6H), 0.90 (s, 4H), 0.81 (s, 3H), 0.75 (s, 3H), 0.67 (d, 1H, *J* = 9.0 Hz). ¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz): 175.87, 150.72, 132.70, 118.26, 109.72, 79.12, 64.73, 60.54, 56.71, 55.49, 50.71, 49.61, 47.08, 42.54, 40.88, 39.00, 38.86, 38.37, 37.33, 37.15, 34.46, 32.28, 31.73, 30.73, 29.79, 28.12, 27.55, 21.20, 19.52, 18.43, 16.27, 16.11, 15.50, 14.84. NMR data were consistent with literature description¹⁸.

3.3.2 Synthesis of allyl ursolate (**8b**)



Chemical Formula: C₃₃H₅₂O₃
Exact Mass: 496,39

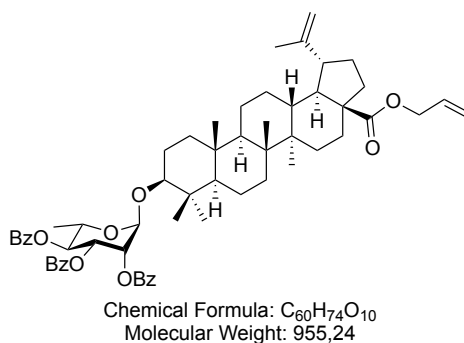
To a solution of ursolic acid (**8**) (0.9019 g, 1.984 mmol) in DMF (12 mL) was added allyl bromide (0.26 mL, 2.975 mmol) and K₂CO₃ (0.5471 g, 3.958 mmol) and the mixture was stirred overnight at room temperature and controlled by TLC. The mixture was diluted with 160 mL of a mixture of ethyl acetate and toluene (1:1 v/v) and washed with an aqueous solution of HCl 1 N (2 x 100 mL), a saturated aqueous solution of NaHCO₃ (2 x 100 mL) and a saturated aqueous solution of NaCl (2 x 100 mL). The organic layer was dried over Na₂SO₄, filtered and the solvent rotary evaporated. The crude residue was purified by flash chromatography over silica gel using a gradient of ethyl acetate (from 0% to 40%) in hexanes as the mobile phase to afford the title compound (**8b**) as a white solid (0.8158 g, 83%). R_f = 0.48 (hexanes/ethyl acetate 8:2); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 5.92 (ddt, 1H *J* = 17.3, 10.4, 5.6 Hz), 5.32 (m, 1H), 5.28 (m, 1H), 5.22 (m, 1H), 4.53 (m, 2H), 4.14 (q, 1H, *J* = 7.1 Hz), 3.24 (m, 1H), 2.28 (m, 1H), 2.05 (m, 2H), 1.93 (m, 2H), 1.81 (m, 1H), 1.72 (m, 2H), 1.65 (m, 3H) 1.52 (m, 5H), 1.35 (m, 3H), 1.28 (t, 2H, *J* = 7.1 Hz), 1.11 (m, 3H), 1.01 (m, 4H), 0.96 (m, 6H), 0.88 (m, 3H), 0.81 (s, 3H), 0.77 (s, 3H), 0.74 (m, 1H). ¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz): 177.32, 171.30, 138.22, 132.73, 125.79, 117.91, 79.18, 64.97, 60.54, 55.37, 53.04, 48.27, 47.71, 42.19, 39.73, 39.23, 39.00, 38.89, 38.78, 37.12, 36.84, 33.19, 30.83, 28.28, 28.16, 27.38, 24.38, 23.70, 23.44, 21.32, 21.19, 18.46, 17.21, 17.16, 15.76, 15.61, 14.34. NMR data were consistent with literature description⁷².

3.4 General procedure for normal Schmidt glycosylation

A mixture of acceptor (1 eq.) and trichloroacétimidate donor (1.3 eq.), 4 Å molecular sieves in dry DCM was stirred 10 min under Ar atmosphere. Then, TMSOTf (0.1 eq.) was added to the cooled solution (ice / water bath). The reaction was generally stirred 1 h at room temperature and

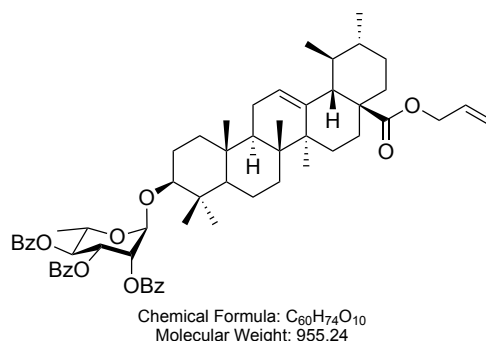
controlled by TLC. Then, mixture was quenched with Et₃N (0.2 eq.) filtered and the solvent rotary evaporated. The crude residue was purified by flash chromatography over silica gel using a gradient of ethyl acetate (from 0% to 40%) in hexanes as the mobile phase.

3.4.1 Synthesis of 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyl)-28-allyl betulinate (**19a**)



Based on the general procedure for Schmidt glycosylation, allyl betulinate (**8b**) (0.2350 g, 0.4721 mmol) and 2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyl trichloroacétimidate (**16d**) (0.3507 g, 0.5649 mmol) afforded the title compound (**19a**) as a white solid (0.1585 g, 35%). R_f = 0.58 (hexanes/ethyl acetate 8:2); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.10 (m, 2H), 7.98 (m, 2H), 7.83 (m, 2H), 7.60 (m, 1H), 7.50 (m, 3H), 7.39 (m, 3H), 7.25 (m, 2H), 5.93 (ddt, 1H, J = 17.1, 10.5, 5.6 Hz), 5.81 (dd, 1H), 5.65 (m, 2H), 5.34 (m, 1H), 5.24 (m, 1H), 5.07 (m, 1H), 4.73 (m, 1H), 4.58 (m, 3H), 4.30 (m, 1H), 3.20 (m, 1H), 3.01 (m, 1H), 2.27 (m, 2H), 1.90 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.69 (m, 5H), 1.59 (m, 1H), 1.40 (m, 7H), 1.33 (d, 3H, J = 6.3 Hz), 1.26 (m, 3H), 1.16 (m, 1H), 1.04 (m, 4H), 0.96 (m, 3H), 0.92 (s, 6H), 0.88 (m, 5H), 0.73 (m, 1H). ¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz): 175.91, 166.02, 165.87, 165.75, 150.78, 133.56, 133.42, 133.2, 132.72, 130.06, 129.91, 129.83, 129.71, 129.52, 129.45, 128.72, 128.56, 128.42, 118.28, 109.73, 99.89, 90.23, 72.14, 71.39, 70.35, 66.91, 94.75, 56.73, 55.71, 50.69, 49.63, 47.11, 42.57, 40.93, 39.31, 38.84, 38.38, 37.16, 37.12, 34.82, 34.45, 32.29, 31.74, 30.74, 29.80, 28.41, 25.81, 25.68, 22.81, 21.10, 19.52, 18.43, 17.72, 16.54, 16.35, 16.14, 14.86, 14.28.

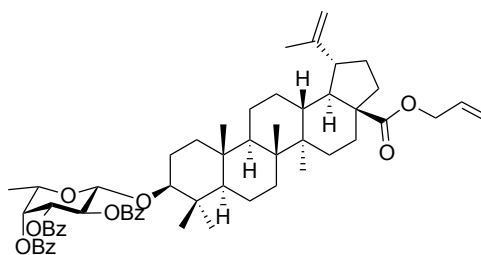
3.4.2 Synthesis of 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyl)-28-allyl ursolate (**20a**)



Based on the general procedure for Schmidt glycosylation, allyl ursolate (**8b**) (0.2072 g, 0.4162 mmol) and 2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyl trichloroacétimidate (**16d**) (0.2850 g, 0.4590 mmol) afforded the title compound (**20a**) as a white solid (0.2621 g, 66%). R_f = 0.54 (hexanes/ethyl acetate 8:2); ^1H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.10 (m, 2H), 7.89 (m, 2H), 7.83 (m, 2H), 7.61 (m, 1H), 7.50 (m, 3H), 7.40 (m, 3H), 7.27 (m, 2H), 5.90 (ddt, 1H, J = 17.2, 10.5, 5.6 Hz), 5.82 (dd, 1H, J = 10.2, 3.3 Hz), 5.67 (m, 2H), 5.27 (m, 3H), 5.08 (m, 1H), 4.51 (m, 2H), 4.30 (m, 1H), 3.23 (m, 1H), 2.25 (m, 1H), 2.01 (m, 1H), 1.91 (m, 2H), 1.81 (m, 3H), 1.70 (m, 3H), 1.61 (m, 2H), 1.50 (m, 2H), 1.43 (m, 1H), 1.33 (d, 4H, J = 6.3 Hz), 1.27 (m, 4H), 1.08 (d, 6H), 0.98 (s, 3H), 0.96 (m, 2H), 0.95 (m, 3H), 0.93 (m, 1H), 0.90 (m, 1H), 0.87 (m, 6H), 0.77 (m, 3H). ^{13}C NMR (CDCl₃, 101 MHz): 177.34, 166.01, 165.86, 165.74, 138.30, 133.56, 133.43, 133.21, 132.75, 130.05, 129.90, 129.83, 129.70, 129.52, 129.45, 128.72, 128.56, 128.42, 125.73, 117.37, 99.89, 90.19, 72.14, 71.81, 70.34, 66.92, 64.99, 55.57, 53.05, 48.28, 47.69, 42.21, 39.76, 39.22, 39.19, 39.00, 38.76, 36.87, 36.85, 36.22, 34.82, 34.67, 33.17, 31.74, 30.83, 29.21, 28.56, 28.15, 27.06, 25.63, 25.43, 24.39, 23.71, 23.48, 22.81, 21.34, 20.85, 18.91, 18.45, 17.71, 17.23, 17.19, 16.79, 15.69, 14.28, 11.59.

3.4.3 Synthesis of 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-fucopyranosyl)-28-allyl betulinate

(21a)

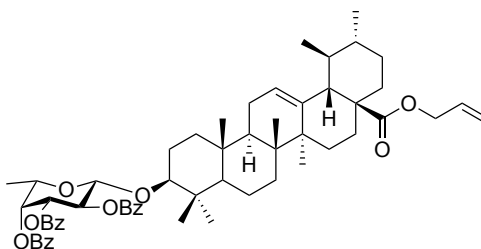


Chemical Formula: C₆₀H₇₄O₁₀
Molecular Weight: 955,24

Based on the general procedure for Schmidt glycosylation, allyl betulinate (**5b**) (0.3076 g, 0.6179 mmol) and 2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-fucopyranosyl trichloroacétimidate (**17d**) (0.4332 g, 0.6977 mmol) afforded the title compound (**21a**) as a white solid (0.4580 g, 78%). R_f = 0.50 (hexanes/ethyl acetate 8:2); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.13 (m, 2H), 7.97 (m, 2H), 7.82 (m, 2H), 7.63 (m, 1H), 7.52 (m, 2H), 7.41 (m, 3H), 7.27 (m, 2H), 5.95 (ddt, 1H, *J* = 17.2, 10.6, 5.6 Hz), 5.72 (m, 2H), 5.57 (dd, 1H, *J* = 10.4, 3.4 Hz), 5.36 (m, 1H), 5.25 (m, 1H), 4.82 (d, 1H *J* = 7.9 Hz), 4.77 (s, 1H), 4.04 (m, 1H), 3.31 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 2.26 (m, 2H), 1.93 (m, 2H), 1.72 (m, 4H), 1.63 (m, 4H), 1.54 (m, 1H), 1.42 (m, 5H), 1.37 (m, 2H), 1.34 (d, 4H, *J* = 6.3 Hz), 1.25 (m, 4H), 1.07 (s, 3H), 0.98 (m, 4H), 0.91 (s, 3H), 0.71 (m, 7H).

3.4.4 Synthesis of 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-fucopyranosyl)-28-allyl ursolate

(22a)

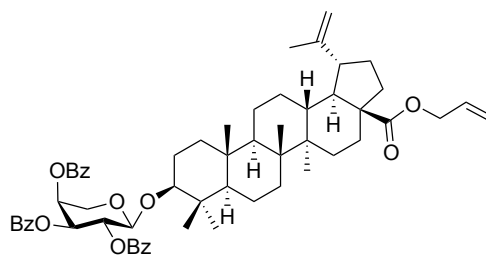


Chemical Formula: C₆₀H₇₄O₁₀
Molecular Weight: 955,24

Based on the general procedure for Schmidt glycosylation, allyl ursolate (**8b**) (0.2848 g, 0.5721 mmol) and 2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-fucopyranosyl trichloroacétimidate (**17d**) (0.4302 g, 0.6929 mmol) afforded the title compound (**22a**) as a white solid (0.4717 g, 86%). R_f = 0.49 (hexanes/ethyl

acetate 8:2); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): 8.11 (m, 2H), 7.94 (m, 2H), 7.78 (m, 2H), 7.61 (m, 1H), 7.50 (m, 3H), 7.40 (m, 3H), 7.23 (m, 2H), 5.88 (ddt, 1H, $J = 17.3, 10.5, 5.6$ Hz), 5.69 (m, 2H), 5.54 (dd, 1H, $J = 10.4, 3.6$ Hz), 5.24 (m, 3H), 4.78 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz), 4.49 (m, 2H), 4.00 (m, 1H), 3.30 (dd, 1H, $J = 12.2, 4.2$ Hz), 2.24 (m, 1H), 2.00 (m, 1H), 1.86 (m, 2H), 1.77 (m, 1H), 1.68 (m, 2H), 1.61 (m, 2H), 1.56 (m, 2H), 1.49 (m, 4H), 1.32 (m, 8H), 1.06 (m, 7H), 0.92 (m, 4H), 0.86 (d, 3H, $J = 6.4$ Hz), 0.79 (m, 3H), 0.71 (m, 7H).

3.4.5 Synthesis of 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-arabinopyranosyl)-28-allyl betulinate (**23a**)

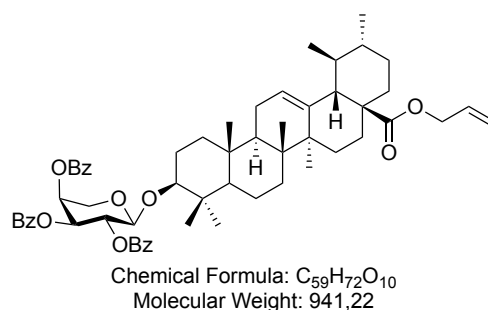


Chemical Formula: $\text{C}_{59}\text{H}_{72}\text{O}_{10}$
Molecular Weight: 941.22

Based on the general procedure for Schmidt glycosylation, allyl betulinate (**5b**) (0.3068 g, 0.6163 mmol) and 2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-arabinopyranosyl trichloroacétimidate (**18d**) (0.4780 g, 0.7877 mmol) afforded the title compound (**23a**) as a white solid (0.3949 g, 68%). $R_f = 0.49$ (hexanes/ethyl acetate 8:2); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): 8.06 (m, 2H), 8.00 (m, 2H), 7.92 (m, 2H), 7.56 (m, 2H), 7.43 (m, 5H), 7.31 (m, 2H), 5.91 (ddt, 1H, $J = 16.9, 10.4, 5.6$ Hz), 5.75 (m, 1H), 5.67 (m, 1H), 5.59 (dd, 1H, $J = 8.5, 3.6$ Hz), 5.32 (m, 1H), 5.22 (m, 1H), 4.77 (d, 1H, $J = 6.4$ Hz), 4.73 (m, 1H), 4.57 (m, 3H), 4.32 (dd, 1H, $J = 12.9, 3.9$ Hz), 3.87 (m, 1H), 3.12 (m, 1H), 3.00 (m, 1H), 2.22 (m, 2H), 1.84 (m, 4H), 1.68 (m, 5H), 1.39 (m, 6H), 1.30 (m, 2H), 1.23 (m, 2H), 1.10 (m, 3H), 0.94 (s, 3H), 0.87 (m, 5H), 0.80 (s, 3H), 0.76 (s, 3H), 0.63 (m, 4H). $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 101 MHz): 17585, 165.98, 165.77, 165.37, 150.74, 133.49, 133.42, 133.31, 132.69, 130.10, 130.00, 129.93, 129.63, 129.62, 129.26, 128.59, 128.48, 128.46 118.26, 109.73, 103.15, 90.28, 70.86, 70.39, 68.79, 64.73, 60.54, 56.71, 55.74, 50.68, 49.62, 47.08, 42.51, 40.87, 39.18, 38.87, 38.35, 37.15, 37.06, 34.81, 34.40, 32.27, 31.73, 30.74, 29.76, 27.84, 26.23, 25.68, 25.42, 22.80, 21.20, 21.04, 20.84, 19.53, 18.24, 16.24, 16.19, 16.08, 14.79, 14.34, 14.27.

3.4.6 Synthesis of 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-arabinopyranosyl)-28-allyl ursolate

(24a)



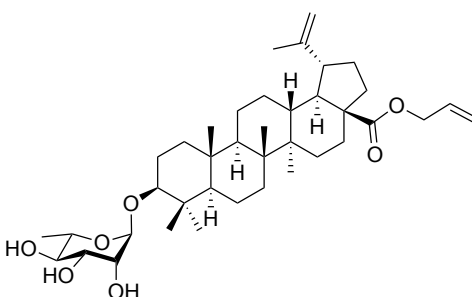
Based on the general procedure for Schmidt glycosylation, allyl ursolate (**8b**) (0.2930 g, 0.5886 mmol) and 2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-arabinopyranosyl trichloroacétimidate (**18d**) (0.4829 g, 0.7958 mmol) afforded the title compound (**24a**) as a white solid (0.4456 g, 80%). R_f = 0.52 (hexanes/ethyl acetate 8:2); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.06 (m, 2H), 8.00 (m, 2H), 7.92 (m, 2H), 7.56 (m, 2H), 7.43 (m, 5H), 7.31 (m, 2H), 5.88 (ddt, 1H, *J* = 17.2, 10.5, 5.5 Hz), 5.76 (m, 1H), 5.67 (m, 1H), 5.59 (dd, 1H, *J* = 8.9, 3.5 Hz), 5.24 (m, 3H), 4.78 (d, 1H, *J* = 6.4 Hz), 4.49 (m, 2H), 4.32 (dd, 1H, *J* = 12.9, 3.8 Hz), 3.87 (m, 1H), 3.16 (dd, 1H, *J* = 11.5, 4.7 Hz), 2.24 (m, 1H), 1.99 (m, 1H), 1.85 (m, 4H), 1.66 (m, 3H), 1.61 (m, 2H), 1.47 (m, 2H), 1.42 (m, 1H), 1.39 (m, 1H), 1.24 (m, 1H), 1.05 (s, 3H), 1.01 (m, 2H), 0.95 (m, 5H), 0.89 (m, 5H), 0.86 (m, 4H), 0.79 (s, 3H), 0.72 (m, 3H), 0.66 (s, 3H). ¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz): 177.28, 165.96, 165.76, 165.36, 138.17, 133.48, 133.41, 133.31, 132.70, 130.09, 129.99, 129.92, 129.61, 129.24, 128.58, 128.48, 128.45, 125.79, 117.89, 103.26, 90.27, 70.38, 68.62, 64.98, 60.53, 55.61, 53.01, 43.24, 47.68, 42.14, 39.70, 39.21, 39.05, 38.97, 38.79, 36.81, 36.81, 36.80, 34.80, 34.65, 33.11, 31.72, 30.81, 29.19, 28.11, 27.98, 27.04, 26.07, 25.41, 24.35, 23.64, 23.43, 22.79, 21.32, 21.18, 20.83, 18.89, 18.25, 17.16, 16.42, 15.56, 14.33, 14.26, 11.57.

3.5 General procedure for removal of benzoyl groups

To a cooled solution of benzoylated compound (1 eq.) (ice / water bath), in a mixture of anhydrous DCM and anhydrous MeOH (5 : 3 v/v), a freshly prepared solution of NaOMe (1 eq. of sodium in MeOH (2 v)) was added and the mixture was generally stirred 1 h at room temperature and

controlled by TLC. Then reaction was neutralized to pH 7 with weakly acidic Amberlite resin, filtered and the solvent rotary evaporated. The crude residue was purified by flash chromatography over silica gel using a gradient of MeOH (from 0% to 15%) in DCM as the mobile phase.

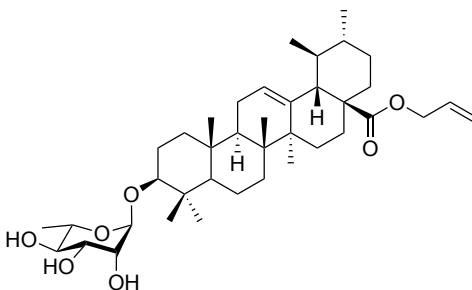
3.5.1 Synthesis of 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-28-allyl betulinate (**19b**)



Chemical Formula: C₃₉H₆₂O₇
Molecular Weight: 642.92

Based on the general procedure for benzoyl groups removal, 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyl)-28-allyl betulinate (**19a**) (0.1430 g, 0.1497 mmol) afforded the title compound (**19b**) as a white solid (0.0918 g, 95%). R_f = 0.31 (DCM/MeOH 9:1); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 5.93 (ddt, 1H, *J* = 17.2, 10.5, 5.6 Hz), 5.33 (m, 1H), 5.23 (m, 1H), 4.73 (m, 1H), 4.58 (m, 3H), 4.39 (d, 1H, *J* = 5.7 Hz), 3.72 (m, 2H), 3.56 (m, 1H), 3.12 (dd, 1H, *J* = 11.4, 4.6 Hz), 2.99 (m, 2H), 2.42 (m, 1H), 2.23 (m, 3H), 1.90 (m, 2H), 1.82 (m, 1H), 1.69 (m, 6H), 1.39 (m, 4H), 1.36 (m, 3H), 1.24 (m, 2H), 1.15 (m, 1H), 0.96 (m, 9H), 0.90 (s, 3H), 0.87 (m, 1H), 0.82 (s, 3H), 0.79 (s, 3H), 0.69 (m, 1H).

3.5.2 Synthesis of 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-28-allyl ursolate (**20b**)

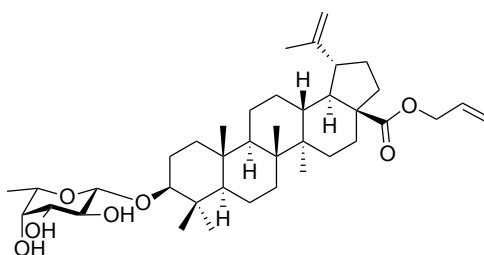


Chemical Formula: C₃₉H₆₂O₇
Molecular Weight: 642.92

Based on the general procedure for benzoyl groups removal, 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyl)-28-allyl ursolate (**20a**) (0.2621 g, 0.2744 mmol) afforded the title compound (**20b**)

as a white solid (0.1630 g, 92%). $R_f = 0.60$ (DCM/MeOH 9:1); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): 5.93 (ddt, 1H, $J = 17.2, 10.5, 5.6$ Hz), 5.33 (m, 1H), 5.22 (m, 1H), 4.73 (m, 1H), 3.57 (m, 3H), 4.39 (d, 1H, $J = 5.6$ Hz), 3.90 (m, 2H), 3.72 (m, 2H), 3.56 (m, 1H), 3.13 (m, 1H), 3.00 (m, 2H), 2.42 (m, 1H), 2.24 (m, 3H), 1.91 (m, 2H), 1.82 (m, 1H), 1.69 (m, 6H), 1.40 (m, 4H), 1.36 (m, 3H), 1.15 (m, 1H), 0.96 (d, 9H $J = 5.4$ Hz), 0.90 (s, 3H), 0.86 (m, 1H), 0.82 (s, 3H), 0.79 (s, 3H), 0.69 (m, 1H).

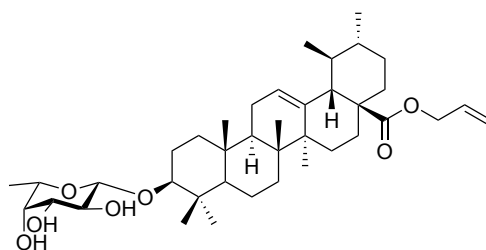
3.5.3 Synthesis of 3-O- α -L-fucopyranosyl-28-allyl betulinate (**21b**)



Chemical Formula: $\text{C}_{39}\text{H}_{62}\text{O}_7$
Molecular Weight: 642.92

Based on the general procedure for benzoyl groups removal, 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-fucopyranosyl)-28-allyl betulinate (**21a**) (0.3345 g, 0.3502 mmol) afforded the title compound (**21b**) as a white solid (0.0488 g, 22%). $R_f = 0.28$ (DCM/MeOH 9:1); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): 5.92 (ddt, 1H, $J = 17.2, 10.6, 5.6$ Hz), 5.29 (m, 3H), 4.54 (m, 2H), 4.44 (d, 1H, $J = 5.5$ Hz), 3.95 (m, 2H), 3.79 (m, 2H), 3.61 (m, 1H), 3.20 (dd, 1H, $J = 11.4, 4.5$ Hz), 2.29 (m, 1H), 2.05 (m, 1H), 1.94 (m, 2H), 1.83 (m, 1H), 1.74 (m, 3H), 1.52 (m, 4H), 1.37 (m, 4H), 1.08 (m, 9H), 0.98 (m, 6H), 0.90 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz), 0.86 (s, 3H), 0.78 (m, 4H).

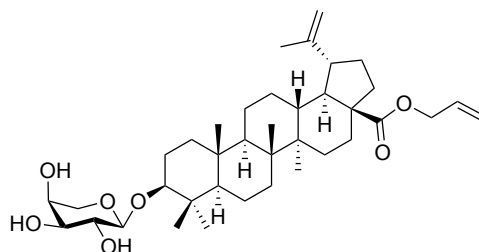
3.5.4 Synthesis of 3-O- α -L-fucopyranosyl-28-allyl ursolate (**22b**)



Chemical Formula: $C_{39}H_{62}O_7$
Molecular Weight: 642.92

Based on the general procedure for benzoyl groups removal, 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-fucopyranosyl)-28-allyl ursolate (**22a**) (0.3264 g, 0.3427 mmol) afforded the title compound (**22b**) as a white solid (0.1446 g, 66%). R_f = 0.23 (DCM/MeOH 9:1); 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): 5.94 (ddt, 1H, J = 17.2, 10.7, 5.6 Hz), 5.30 (m, 3H), 4.55 (m, 2H), 4.27 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 3.75 (m, 1H), 3.60 (m, 3H), 3.30 (dd, 1H, J = 12.1, 4.1 Hz), 2.28 (d, 1H, J = 11.2 Hz), 2.05 (m, 1H), 1.94 (m, 2H), 1.83 (m, 1H), 1.73 (m, 5H), 1.63 (m, 5H), 1.52 (m, 2H), 1.63 (m, 8H), 1.1 (m, 4H), 1.05 (s, 3H), 0.99 (m, 8H), 0.90 (d, 3H, J = 6.4 Hz), 0.82 (s, 3H), 0.76 (m, 4H). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 101 MHz): 177.29, 138.27, 132.72, 125.76, 117.90, 100.36, 84.91, 74.07, 72.23, 71.72, 70.52, 64.96, 56.04, 53.04, 48.26, 47.70, 42.19, 39.79, 39.21, 38.98, 38.59, 38.23, 36.95, 36.82, 33.20, 30.82, 28.33, 28.13, 24.36, 23.65, 23.48, 23.41, 21.31, 18.48, 17.21, 17.16, 16.71, 16.42, 15.81.

3.5.5 Synthesis of 3-O- α -L-arabinopyranosyl-28-allyl betulinate (**23b**)

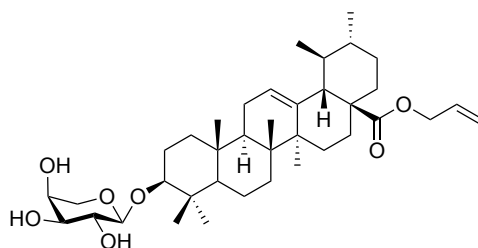


Chemical Formula: $C_{38}H_{60}O_7$
Molecular Weight: 628.89

Based on the general procedure for benzoyl groups removal, 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-arabinopyranosyl)-28-allyl betulinate (**23a**) (0.3742 g, 0.3976 mmol) afforded the title compound (**23b**) as a white solid (0.1820 g, 73%). R_f = 0.30 (DCM/MeOH 9:1); 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): 5.92 (ddt, 1H, J = 17.1, 10.6, 5.6 Hz), 5.33 (m, 1H), 5.22 (m, 1H), 4.73 (s, 1H), 4.57 (m, 3H), 4.40 (d, 1H, J =

5.6 Hz), 3.90 (m, 2H), 3.74 (m, 2H), 3.57 (m, 1H), 3.49 (m, 2H), 3.13 (dd, 1H, $J = 11.2, 4.4$ Hz), 3.01 (m, 1H), 2.90 (d, 1H, $J = 6.5$ Hz), 2.38 (d, 1H, $J = 6.3$ Hz), 2.24 (m, 2H), 2.14 (m, 1H), 1.87 (m, 3H), 1.68 (m, 6H), 1.59 (m, 1H), 1.48 (m, 1H), 1.39 (m, 4H), 1.24 (m, 2H), 1.13 (m, 1H), 0.96 (d, 6H, $J = 5.2$ Hz), 0.90 (m, 4H), 0.82 (s, 3H), 0.79 (s, 3H), 0.68 (m, 1H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 101 MHz): 175.87, 150.75, 132.72, 118.73, 109.73, 104.35, 90.14, 72.40, 71.78, 66.90, 64.76, 56.74, 55.77, 50.73, 49.66, 47.10, 42.56, 40.92, 39.28, 38.85, 38.39, 37.16, 37.08, 34.46, 32.30, 30.78, 29.79, 28.32, 26.08, 25.70, 21.08, 19.57, 18.34, 16.57, 16.26, 16.13, 14.82.

3.5.6 Synthesis of 3-O- α -L-arabinopyranosyl-28-allyl ursolate (**24b**)



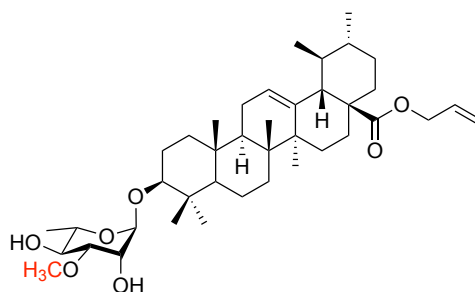
Chemical Formula: $\text{C}_{38}\text{H}_{60}\text{O}_7$
Molecular Weight: 628.89

Based on the general procedure for benzoyl groups removal, 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-arabinopyranosyl)-28-allyl ursolate (**24a**) (0.4554 g, 0.4838 mmol) afforded the title compound (**24b**) as a white solid (0.2255 g, 74%). $R_f = 0.39$ (DCM/MeOH 9:1); ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): 5.91 (ddt, 1H, $J = 17.3, 10.7, 5.6$ Hz), 5.32 (m, 1H), 5.22 (d, 1H, $J = 10.5$ Hz), 4.73 (s, 1H), 4.56 (m, 3H), 4.21 (d, 1H), 3.70 (s, 1H), 3.57 (m, 3H), 3.21 (m, 1H), 3.01 (m, 1H), 2.24 (m, 3H), 1.89 (m, 2H), 1.69 (m, 6H), 1.51 (m, 2H), 1.38 (m, 7H), 1.30 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz), 1.24 (m, 2H), 1.14 (m, 1H), 0.98 (s, 3H), 0.94 (s, 3H), 0.90 (s, 3H), 0.84 (m, 4H), 0.75 (m, 3H), 0.68 (m, 1H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 101 MHz): 175.90, 150.79, 132.12, 118.28, 109.72, 100.49, 85.04, 74.10, 72.14, 71.79, 70.55, 64.76, 56.74, 56.19, 51.00, 50.73, 49.67, 47.10, 42.46, 40.97, 38.70, 38.36, 37.22, 37.17, 34.51, 32.30, 30.77, 29.78, 28.20, 25.73, 23.62, 21.10, 19.56, 18.47, 16.50, 16.45, 16.26, 16.14, 14.19.

3.6 General procedure for methylation

A freshly prepared solution of Bu_2SnCl_2 in DMF (0.01 M) was added to a mixture of an appropriate glycoside (1 eq.) and Ag_2O (1.1 eq.). The mixture was stirred 10 min at room temperature in the dark. Then, CH_3I (5 eq.) was added to the reaction and generally stirred 22 h at room temperature in the dark. The reaction was diluted with ethyl acetate and washed with a saturated aqueous solution of NH_4Cl , a saturated aqueous solution of NaHCO_3 and a saturated aqueous solution of NaCl . The organic layer was dried over Na_2SO_4 , filtered and the solvent rotary evaporated. The crude residue was chromatographed over silica gel using a gradient of MeOH (from 0% to 15%) in DCM as the mobile phase.

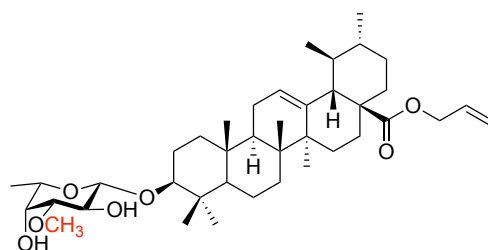
3.6.1 Synthesis of 3-O-3-methoxy- α -L-rhamnopyranosyl-28-allyl ursolate (**20d**)



Chemical Formula: $\text{C}_{40}\text{H}_{64}\text{O}_7$
Molecular Weight: 656.95

Based on the general procedure for methylation, 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-28-allyl ursolate (**20b**) (0.0643 g, 0.1000 mmol) afforded 9.2 mg of reisolated 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-28-allyl ursolate (**20b**) and afforded the title compound (**20d**) as a white solid (0.0457 g, 70%, 82% based on reisolated starting material). $R_f = 0.41$ (DCM/MeOH 9:1); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): 5.90 (ddt, 1H, $J = 17.2, 10.8, 5.6$ Hz), 5.25 (m, 3H), 4.87 (m, 1H), 4.96 (m, 2H), 4.06 (s, 1H), 3.82 (m, 1H), 3.47 (s, 3H), 3.38 (m, 1H), 3.10 (dd, 1H, $J = 11.3, 4.3$ Hz), 2.25 (d, 1H, $J = 11.5$ Hz), 2.00 (m, 1H), 1.90 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 1.63 (m, 6H), 1.48 (m, 4H), 1.36 (m, 3H), 1.26 (d, 4H, $J = 6.3$ Hz), 1.07 (m, 4H), 1.00 (m, 2H), 0.93 (m, 9H), 0.86 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz), 0.78 (s, 3H), 0.73 (m, 4H).

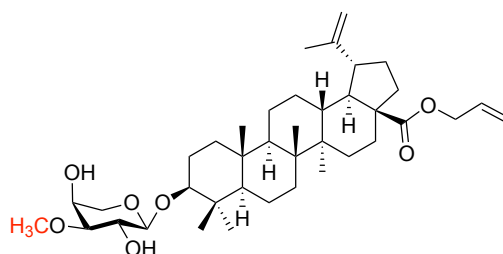
3.6.2 Synthesis of 3-O-3-methoxy- α -L-fucopyranosyl-28-allyl ursolate (**22d**)



Chemical Formula: $C_{40}H_{64}O_7$
Molecular Weight: 656.95

Based on the general procedure for methylation, 3-O- α -L-fucoopyranosyl-28-allyl ursolate (**22b**) (0.0644 g, 0.1002 mmol) afforded 8.6 mg of reisolated 3-O- α -L-fucoopyranosyl-28-allyl ursolate (**22b**) and afforded title compound (**22d**) as a white solid (0.0315 g, 48%, 56% based on reisolated starting material). R_f = 0.44 (DCM/MeOH 9:1); 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): 5.90 (ddt, 1H, J = 17.3, 10.5, 5.6 Hz), 5.30 (m, 1H), 5.25 (m, 1H), 5.19 (m, 1H), 4.50 (m, 2H), 4.22 (d, 1H, J = 7.8 Hz), 3.83 (s, 1H), 3.61 (m, 1H), 3.52 (s, 3H), 3.26 (dd, 1H, J = 12.1, 4.2 Hz), 3.19 (dd, 1H, J = 9.6, 3.4 Hz), 2.23 (m, 2H), 1.99 (m, 1H), 1.90 (m, 2H), 1.78 (m, 1H), 1.69 (m, 4H), 1.60 (m, 3H), 1.47 (m, 3H), 1.34 (d, 4H, J = 6.5 Hz), 1.29 (m, 1H), 1.25 (m, 5H), 1.06 (m, 4H), 1.02 (s, 3H), 0.94 (m, 6H), 0.86 (d, 3H, J = 6.5 Hz), 0.78 (s, 3H), 0.75 (m, 4H). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 101 MHz): 177.28, 138.28, 132.73, 125.78, 117.91, 100.59, 84.91, 83.04, 70.83, 70.43, 68.39, 64.97, 57.65, 56.08, 53.06, 48.27, 47.72, 42.20, 39.80, 39.22, 38.99, 38.63, 38.26, 33.22, 30.83, 29.84, 28.37, 28.14, 24.38, 23.67, 23.49, 23.44, 21.32, 18.49, 17.22, 17.17, 16.70, 16.55, 15.59.

3.6.3 Synthesis of 3-O-3-methoxy- α -L-arabinopyranosyl-28-allyl betulinic acid (**23d**)

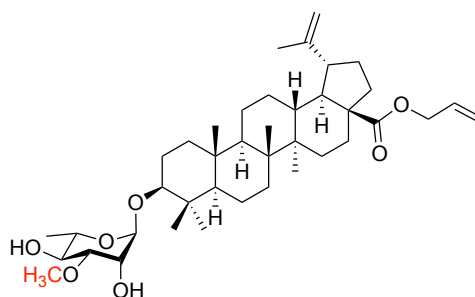


Chemical Formula: $C_{39}H_{62}O_7$
Molecular Weight: 642.92

Based on the general procedure for methylation, 3-O- α -L-arabinopyranosyl-28-allyl betulinic acid (**23b**) (0.0622 g, 0.09890 mmol) afforded the title compound (**23d**) as a white solid (0.0451 g, 73%).

R_f = 0.52 (DCM/MeOH 9:1); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 5.92 (ddt, 1H, *J* = 17.1, 10.6, 5.6 Hz), 5.33 (m, 1H), 5.21 (d, 1H, *J* = 10.3 Hz), 4.72 (s, 1H), 5.56 (m, 3H), 4.20 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz), 4.02 (m, 2H), 3.72 (m, 1H), 3.51 (s, 3H), 3.42 (m, 1H), 3.22 (m, 1H), 3.10 (m, 1H), 2.99 (m, 1H), 2.23 (m, 2H), 1.88 (m, 2H), 1.81 (m, 1H), 1.67 (m, 6H), 1.57 (m, 1H), 1.47 (m, 1H), 1.40 (m, 5H), 1.25 (m, 4H), 1.13 (m, 1H), 1.01 (m, 1H), 0.96 (m, 6H), 0.89 (m, 4H), 0.79 (d, 6H, *J* = 9.9 Hz), 0.67 (m, 1H). ¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz): 175.82, 150.70, 132.69, 118.24, 109.69, 105.52, 89.45, 82.20, 71.69, 65.80, 65.61, 64.71, 60.50, 57.77, 56.70, 55.83, 50.72, 49.63, 47.06, 42.51, 40.89, 39.30, 38.89, 38.36, 37.13, 37.07, 34.46, 32.27, 30.75, 29.76, 28.26, 26.21, 25.69, 21.03, 19.54, 18.28, 16.59, 16.25, 16.10, 14.78.

3.6.4 Synthesis of 3-O-3-methoxy- α -L-rhamnopyranosyl-28-allyl betulinate (**19d**)



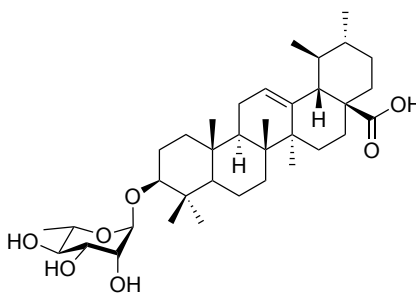
Chemical Formula: C₄₀H₆₄O₇
Molecular Weight: 656.95

Based on the general procedure for methylation, 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-28-allyl betulinate (**19b**) (0.0634 g, 0.09861 mmol) afforded 20.8 mg of reisolated 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-28-allyl betulinate (**19b**) and afforded the title compound (**19d**) as a white solid (0.0131 g, 20%, 30% based on reisolated starting material). R_f = 0.22 (DCM/MeOH 9:1); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 5.93 (ddt, 1H, *J* = 17.1, 10.5, 5.6 Hz), 5.33 (m, 1H), 5.23 (m, 1H), 4.87 (m, 1H), 4.73 (m, 1H), 4.58 (m, 3H), 4.06 (m, 1H), 3.81 (m, 1H), 3.47 (s, 3H), 3.38 (dd, 1H, *J* = 9.2, 3.2 Hz), 3.07 (dd, 1H), 3.01 (m, 1H), 2.24 (m, 2H), 1.90 (m, 2H), 1.76 (m, 1H), 1.68 (m, 5H), 1.59 (m, 1H), 1.43 (m, 6H), 1.35 (m, 3H), 1.26 (m, 7H), 1.14 (m, 1H), 1.01 (m, 1H), 0.96 (s, 3H), 0.90 (m, 7H), 0.82 (s, 3H), 0.75 (m, 3H), 0.68 (m, 1H). NMR data were consistent with literature description⁵⁹.

3.7 General procedure for removal of allyl groups

To a mixture of allyl ester (1 eq.) and PPh_3 (0.6 eq.) in dry THF was added pyrrolidine (2 eq.). Then $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0.3 eq.) was added to the solution. The reaction was generally stirred 18 h at room temperature and controlled by TLC. Then the solvent was rotary evaporated. The crude residue was purified by flash chromatography over silica gel using a gradient of MeOH (from 0% to 8%) in DCM as the mobile phase.

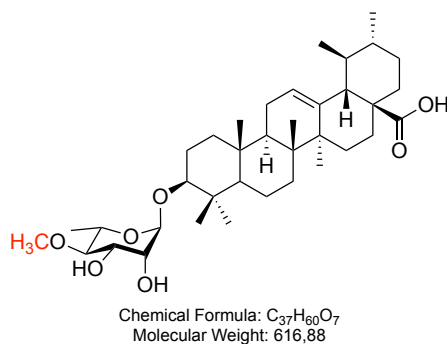
3.7.1 Synthesis of 3-O- α -L-rhamnopyranosyl ursolic acid (**20c**)



Chemical Formula: $\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{O}_7$
Molecular Weight: 602,85

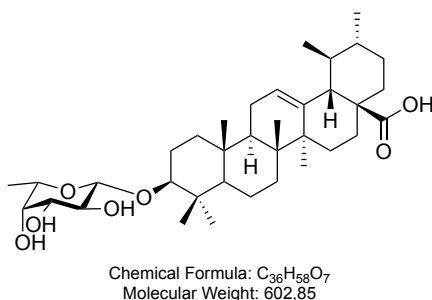
Based on the general procedure for allyl groups removal, 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-28-allyl ursolate (**20b**) (0.0553 g, 0.08601 mmol) afforded the title compound (**20c**) as a white solid (0.0457 g, 88%). $R_f = 0.62$ (DCM/MeOH 9:1); $^1\text{H NMR}$ ($\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$ 1:1, 400 MHz): 5.27 (s, 1H), 4.79 (s, 1H), 3.90 (m, 1H), 3.77 (m, 1H), 3.71 (m, 1H), 3.41 (m, 1H), 3.13 (m, 1H), 2.22 (d, 1H, $J = 11.3$ Hz), 2.05 (m, 1H), 1.94 (m, 3H), 1.82 (m, 1H), 1.71 (m, 5H), 1.55 (m, 3H), 1.52 (m, 1H), 1.38 (m, 4H), 1.29 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz), 1.13 (s, 3H), 1.12 (m, 1H), 1.05 (m, 2H), 0.99 (m, 9H), 0.90 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz), 0.86 (s, 3H), 0.80 (m, 4H). $^{13}\text{C NMR}$ ($\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$ 1:1, 101 MHz): 184.45, 142.14, 106.76, 93.12, 76.82, 75.39, 74.96, 72.29, 59.32, 56.83, 51.68, 51.49, 45.94, 43.39, 43.01, 42.89, 42.76, 42.49, 40.72, 40.55, 36.92, 34.52, 31.88, 31.83, 29.23, 28.06, 27.21, 27.12, 24.68, 22.13, 20.83, 20.66, 20.06, 20.02, 19.11.

3.7.2 Synthesis of 3-O-3-methoxy- α -L-rhamnopyranosyl ursolic acid (**20e**)



Based on the general procedure for allyl groups removal, 3-O-3-methoxy- α -L-rhamnopyranosyl-28-allyl ursolate (**20d**) (0.0439 g, 0.06682 mmol) afforded the title compound (**20e**) as a white solid (0.0404 g, 98%). R_f = 0.74 (DCM/MeOH 9:1); ¹H NMR (CDCl₃:CD₃OD 1:1, 400 MHz): 5.25 (s, 1H), 4.24 (d, 1H, *J* = 7.7 Hz), 3.84 (m, 1H), 3.61 (m, 1H), 3.53 (s, 3H), 3.27 (dd, 1H, *J* = 11.8, 4.2 Hz), 3.23 (dd, 1H, *J* = 9.4, 3.4 Hz), 2.19 (d, 1H), 1.99 (m, 1H), 1.88 (m, 3H), 1.68 (m, 5H), 1.52 (m, 5H), 1.34 (m, 6H), 1.32 (m, 1H), 1.27 (s, 2H), 1.08 (m, 4H), 1.03 (s, 4H), 0.96 (m, 6H), 0.87 (d, 4H, *J* = 6.4 Hz), 0.75 (m, 7H). ¹³C NMR (CDCl₃:CD₃OD 1:1, 101 MHz): 181.12, 138.90, 126.18, 101.82, 85.92, 85.09, 84.00, 70.94, 90.64, 68.39, 57.24, 56.62, 53.59, 48.43, 48.24, 42.70, 40.18, 39.77, 39.63, 39.17, 38.68, 37.47, 37.43, 33.73, 31.27, 28.63, 28.56, 24.82, 23.96, 23.89, 23.68, 21.44, 18.96, 17.41, 16.95, 16.63, 15.82.

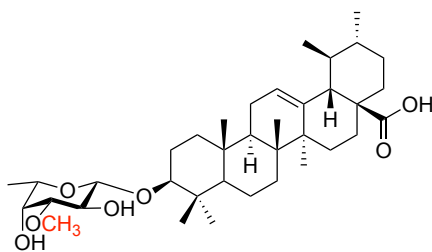
3.7.3 Synthesis of 3-O- α -L-fucopyranosyl ursolic acid (**22c**)



Based on the general procedure for allyl groups removal, 3-O- α -L-fucopyranosyl-28-allyl ursolate (**22b**) (0.0237 g, 0.03608 mmol) afforded the title compound (**22c**) as a white solid (0.0092 g, 41%). R_f = 0.60 (DCM/MeOH 9:1); ¹H NMR (CDCl₃:CD₃OD 1:1, 400 MHz): 5.27 (s, 1H), 4.42 (m, 1H), 3.65 (m, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.49 (m, 2H), 3.28 (m, 1H), 2.22 (d, 1H, *J* = 10.8 Hz), 2.05 (m, 1H),

1.96 (m, 3H), 1.70 (m, 6H), 1.57 (m, 4H), 1.37 (m, 4H), 1.30 (m, 4H), 1.13 (m, 4H), 1.05 (s, 3H), 0.99 (s, 7H), 0.90 (m, 3H), 0.84 (m, 6H), 0.78 (m, 1H). ¹³C NMR (CDCl₃:CD₃OD 1:1, 101 MHz): 184.46, 142.16, 129.44, 105.03, 89.16, 77.87, 75.67, 75.09, 74.31, 59.87, 56.83, 51.69, 51.49, 45.96, 43.44, 43.01, 42.88, 42.43, 41.94, 40.73, 40.69, 36.99, 34.53, 31.89, 31.83, 28.08, 27.24, 27.16, 26.97, 24.73, 22.22, 20.70, 20.67, 20.23, 19.82, 19.10.

3.7.4 Synthesis of 3-O-3-methoxy- α -L-fucopyranosyl ursolic acid (**22e**)



Chemical Formula: C₃₇H₆₀O₇
Molecular Weight: 616,88

Based on the general procedure for allyl groups removal, 3-O-3-methoxy- α -L-fucopyranosyl-28-allyl ursolate (**22d**) (0.0553 g, 0.08601 mmol) afforded the title compound (**22e**) as a white solid (0.0256 g, 49%). R_f = 0.73 (DCM/MeOH 9:1); ¹H NMR (CDCl₃:CD₃OD 1:1, 400 MHz): 5.28 (s, 1H), 4.26 (m, 1H), 3.86 (s, 1H), 3.57 (m, 2H), 3.51 (s, 1H), 3.30 (m, 1H), 3.18 (m, 1H), 2.23 (d, 1H, J = 10.9 Hz), 2.05 (m, 1H), 1.96 (m, 3H), 1.71 (m, 5H), 1.57 (m, 4H), 1.39 (m, 3H), 1.33 (m, 5H), 1.14 (m, 4H), 1.06 (s, 3H), 1.00 (m, 7H), 0.91 (m, 4H), 0.87 (s, 3H), 0.84 (s, 3H), 0.80 (m, 1H). ¹³C NMR (CDCl₃:CD₃OD 1:1, 101 MHz): 181.21, 138.90, 126.18, 101.82, 85.92, 85.09, 84.00, 70.94, 70.64, 68.39, 57.24, 56.62, 53.59, 48.53, 48.24, 42.70, 40.18, 39.76, 39.63, 39.17, 38.68, 37.75, 37.43, 33.73, 31.27, 28.63, 28.56, 24.82, 23.96, 23.89, 23.68, 21.44, 18.96, 17.42, 16.95, 16.63, 15.82.

LISTE DE RÉFÉRENCES

- (1) OMS. Vers L'accès 2030 - Cadre stratégique de l'OMS en matière de médicaments et produits de santé. 2017; p 40.
- (2) Wang, Y.; Wang, F.; Liu, W.; Geng, Y.; Shi, Y.; Tian, Y.; Zhang, B.; Luo, Y.; Sun, X. New drug discovery and development from natural products: Advances and strategies. *Pharmacol. Ther.* **2024**, 264, 108752. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2024.108752>.
- (3) Murmu, L. K.; Sahu, A. A.; Barik, T. K. Diagnosing the drug resistance signature in Plasmodium falciparum: a review from contemporary methods to novel approaches. *J. Parasit. Dis.* **2021**, 45 (3), 869-876. DOI: 10.1007/s12639-020-01333-2.
- (4) Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet* **2022**, 399 (10325), 629-655. DOI: 10.1016/s0140-6736(21)02724-0 From NLM.
- (5) Newman, D. J.; Cragg, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *J. Nat. Prod.* **2020**, 83 (3), 770-803. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.9b01285.
- (6) Cao, X.; Du, X.; Jiao, H.; An, Q.; Chen, R.; Fang, P.; Wang, J.; Yu, B. Carbohydrate-based drugs launched during 2000-2021. *Acta Pharm Sin B* **2022**, 12 (10), 3783-3821. DOI: 10.1016/j.apsb.2022.05.020 From NLM.
- (7) Pinheiro, P. S. M.; Franco, L. S.; Fraga, C. A. M. The Magic Methyl and Its Tricks in Drug Discovery and Development. *Pharmaceuticals* **2023**, 16 (8). DOI: 10.3390/ph16081157 From NLM.
- (8) Barreiro, E. J.; Kümmerle, A. E.; Fraga, C. A. The methylation effect in medicinal chemistry. *Chem. Rev.* **2011**, 111 (9), 5215-5246. DOI: 10.1021/cr200060g From NLM.
- (9) Bissantz, C.; Kuhn, B.; Stahl, M. A Medicinal Chemist's Guide to Molecular Interactions. *J. Med. Chem.* **2010**, 53 (14), 5061-5084. DOI: 10.1021/jm100112j.
- (10) Rifai, Y.; Arai, M. A.; Sadhu, S. K.; Ahmed, F.; Ishibashi, M. New Hedgehog/GLI signaling inhibitors from *Excoecaria agallocha*. *BMCL* **2011**, 21 (2), 718-722. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.11.126>.
- (11) Petitpoisson, L.; Pichette, A.; Alsarraf, J. Towards better syntheses of partially methylated carbohydrates? *Org. Chem. Front.* **2022**, 9 (19), 5414-5425, 10.1039/D2QO00893A. DOI: 10.1039/D2QO00893A.
- (12) David, S.; Hanessian, S. Regioselective manipulation of hydroxyl groups via organotin derivatives. *Tetrahedron* **1985**, 41 (4), 643-663. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)96443-9](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)96443-9).
- (13) Lenntech. *Etain - Sn*. 2023. <https://www.lenntech.fr/francais/data-perio/sn.htm> (accessed).
- (14) Olushola Sunday, A.; Abdullahi Alafara, B.; Godwin Oladele, O. Toxicity and speciation analysis of organotin compounds. *Chem. Speciation Bioavailability* **2012**, 24 (4), 216-226. DOI: 10.3184/095422912X13491962881734.
- (15) Li Xia, T. L. L. Regioselective polymethylation of α -(1 4)-linked mannopyranose oligosaccharides. *J. Org. Chem.* **2013**, 78 (7), 2863-2880. From <http://worldcat.org/> /z-wcorg/.

- (16) Rastogi, S.; Pandey, M. M.; Kumar Singh Rawat, A. Medicinal plants of the genus *Betula*—Traditional uses and a phytochemical–pharmacological review. *J. Ethnopharmacol.* **2015**, *159*, 62-83. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.11.010>.
- (17) Ali-Seyed, M.; Jantan, I.; Vijayaraghavan, K.; Bukhari, S. N. Betulinic Acid: Recent Advances in Chemical Modifications, Effective Delivery, and Molecular Mechanisms of a Promising Anticancer Therapy. *Chem. Biol. Drug. Des.* **2016**, *87* (4), 517-536. DOI: 10.1111/cbdd.12682 From NLM.
- (18) Gauthier, C.; Legault, J.; Lebrun, M.; Dufour, P.; Pichette, A. Glycosidation of lupane-type triterpenoids as potent in vitro cytotoxic agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14* (19), 6713-6725. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2006.05.075>.
- (19) Gauthier, C.; Legault, J.; Piochon-Gauthier, M.; Pichette, A. Advances in the synthesis and pharmacological activity of lupane-type triterpenoid saponins. *Phytochem. Rev.* **2011**, *10* (4), 521-544. DOI: 10.1007/s11101-010-9176-y.
- (20) Khan, H.; Pervaiz, A.; Intagliata, S.; Das, N.; Nagulapalli Venkata, K. C.; Atanasov, A. G.; Najda, A.; Nabavi, S. M.; Wang, D.; Pittalà, V.; et al. The analgesic potential of glycosides derived from medicinal plants. *Daru* **2020**, *28* (1), 387-401. DOI: 10.1007/s40199-019-00319-7 From NLM.
- (21) Lüllmann, H.; Mohr, K.; Hein, L.; Wirth, J. r.; Duval, D. *Atlas de poche de pharmacologie*; Lavoisier-Médecine sciences, 2016.
- (22) Rahimtoola, S. H.; Tak, T. The use of digitalis in heart failure. *Curr. Prob. Cardiology* **1996**, *21* (12), 781-853. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0146-2806\(96\)80001-6](https://doi.org/10.1016/S0146-2806(96)80001-6).
- (23) Khasraw, M.; Bell, R.; Dang, C. Epirubicin: Is it like doxorubicin in breast cancer? A clinical review. *The Breast* **2012**, *21* (2), 142-149. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.breast.2011.12.012>.
- (24) La Ferla, B.; Airoidi, C.; Zona, C.; Orsato, A.; Cardona, F.; Merlo, S.; Sironi, E.; D'Orazio, G.; Nicotra, F. Natural glycoconjugates with antitumor activity. *Nat. Prod. Rep.* **2011**, *28* (3), 630-648, 10.1039/C0NP00055H. DOI: 10.1039/C0NP00055H.
- (25) Han, A. R.; Park, J. W.; Lee, M. K.; Ban, Y. H.; Yoo, Y. J.; Kim, E. J.; Kim, E.; Kim, B. G.; Sohng, J. K.; Yoon, Y. J. Development of a *Streptomyces venezuelae*-based combinatorial biosynthetic system for the production of glycosylated derivatives of doxorubicin and its biosynthetic intermediates. *Appl. Environ. Microbiol.* **2011**, *77* (14), 4912-4923. DOI: 10.1128/aem.02527-10 From NLM.
- (26) Nikolakakis, A.; Haidara, K.; Sauriol, F.; Mamer, O.; Zamir, L. O. Semi-Synthesis of an O-Glycosylated docetaxel analogue. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11* (7), 1551-1556. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(02\)00607-7](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(02)00607-7).
- (27) Ahmed, A.; Peters, N. R.; Fitzgerald, M. K.; Watson, J. A.; Hoffmann, F. M.; Thorson, J. S. Colchicine Glycorandomization Influences Cytotoxicity and Mechanism of Action. *JACS* **2006**, *128* (44), 14224-14225. DOI: 10.1021/ja064686s.
- (28) Imbert, T. F. Discovery of podophyllotoxins. *Biochimie* **1998**, *80* (3), 207-222. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0300-9084\(98\)80004-7](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(98)80004-7).
- (29) Lamblin F, H. C., Fliniaux O, Mesnard F, Fliniaux MA, Lainé E. Intérêt des lignanes dans la prévention et le traitement de cancers *Med. Sci.* **2008**, *24*, 511-520.
- (30) Girre, L. c. *Les plantes et les médicaments : l'origine végétale de nos médicaments*; Delachaux et Niestlé, 2006.

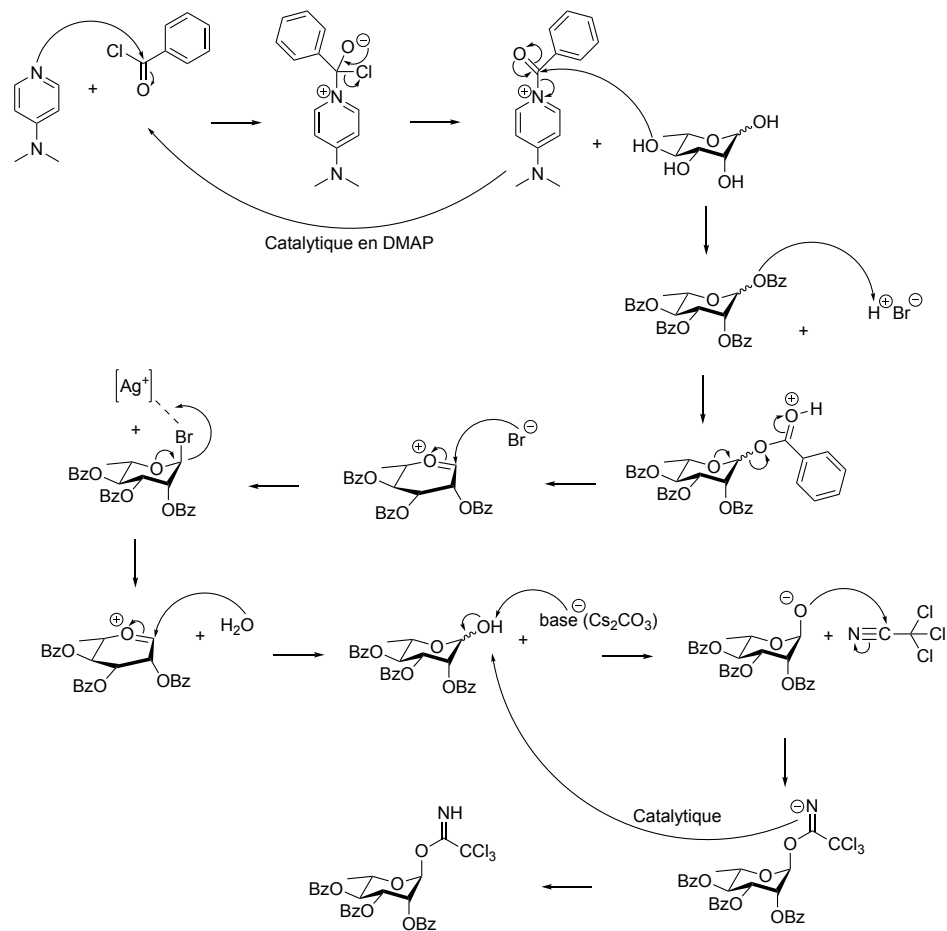
- (31) Wermuth, C. G. *The practice of medicinal chemistry*; Academic, 2003.
- (32) Nandurkar, N. S.; Zhang, J.; Ye, Q.; Ponomareva, L. V.; She, Q.-B.; Thorson, J. S. The Identification of Perillyl Alcohol Glycosides with Improved Antiproliferative Activity. *J. Med. Chem.* **2014**, *57* (17), 7478-7484. DOI: 10.1021/jm500870u.
- (33) McCune, L. M.; Johns, T. Antioxidant activity in medicinal plants associated with the symptoms of diabetes mellitus used by the Indigenous Peoples of the North American boreal forest. *J. Ethnopharmacol.* **2002**, *82* (2), 197-205. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00180-0](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00180-0).
- (34) Uprety, Y.; Asselin, H.; Dhakal, A.; Julien, N. Traditional use of medicinal plants in the boreal forest of Canada: review and perspectives. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* **2012**, *8* (1), 7. DOI: 10.1186/1746-4269-8-7.
- (35) Li, Y.; Qin, F.; Wang, S. M.; Guo, R. X.; Zhang, Y. F.; Gu, Y. C.; Shi, Q. W. Chemical studies on *Taxus canadensis*. *Chem. Biodivers.* **2013**, *10* (10), 1729-1753. DOI: 10.1002/cbdv.201200032 From NLM.
- (36) Meden, H.; Rath, W.; Kuhn, W. [Taxol—a new cytostatic drug for therapy of ovarian and breast cancer]. *Geburtshilfe Frauenheilkd* **1994**, *54* (4), 187-193. DOI: 10.1055/s-2007-1023580 From NLM.
- (37) Xu, R.; Fazio, G. C.; Matsuda, S. P. T. On the origins of triterpenoid skeletal diversity. *Phytochemistry* **2004**, *65* (3), 261-291. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2003.11.014>.
- (38) Phillips, D. R.; Rasbery, J. M.; Bartel, B.; Matsuda, S. P. T. Biosynthetic diversity in plant triterpene cyclization. *Curr. Opin. Plant Biol.* **2006**, *9* (3), 305-314. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.03.004>.
- (39) Bruneton, J.; Poupon, E. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*; Lavoisier Tec & Doc, 2016.
- (40) Fulda, S.; Kroemer, G. Targeting mitochondrial apoptosis by betulinic acid in human cancers. *Drug Discov. Today* **2009**, *14* (17-18), 885-890. DOI: 10.1016/j.drudis.2009.05.015 From NLM.
- (41) Gupta, M. B.; Bhalla, T. N.; Gupta, G. P.; Mitra, C. R.; Bhargava, K. P. Anti-inflammatory activity of natural products. I. Triterpenoids. *Eur. J. Pharmacol.* **1969**, *6* (1), 67-70. DOI: 10.1016/0014-2999(69)90067-3 From NLM.
- (42) Lee, H. Y.; Chung, H. Y.; Kim, K. H.; Lee, J. J.; Kim, K. W. Induction of differentiation in the cultured F9 teratocarcinoma stem cells by triterpene acids. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **1994**, *120* (9), 513-518. DOI: 10.1007/bf01221027 From NLM.
- (43) Liu, J. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. *J. Ethnopharmacol.* **1995**, *49* (2), 57-68. DOI: 10.1016/0378-8741(95)90032-2 From NLM.
- (44) Sparg, S. G.; Light, M. E.; van Staden, J. Biological activities and distribution of plant saponins. *J. Ethnopharmacol.* **2004**, *94* (2), 219-243. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.05.016>.
- (45) Riguera, R. Isolating bioactive compounds from marine organisms. *J. Mar. Biotechnol.* **1997**, *5*, 187-193.
- (46) Zhang, Z.-f.; Lu, L.-y.; Luo, P.; Qing, L.-s.; Liu, Y. Two new ursolic acid saponins from *Morina nepalensis* var. *alba* Hand-Mazz. *Nat. Prod. Res.* **2013**, *27* (24), 2256-2262. DOI: 10.1080/14786419.2013.824441.

- (47) Baglin, I.; Mitaine-Offer, A. C.; Nour, M.; Tan, K.; Cavé, C.; Lacaille-Dubois, M. A. A review of natural and modified betulinic, ursolic and echinocystic acid derivatives as potential antitumor and anti-HIV agents. *Mini Rev. Med. Chem.* **2003**, *3* (6), 525-539. DOI: 10.2174/1389557033487917 From NLM.
- (48) Shan, J.-z.; Xuan, Y.-y.; Zheng, S.; Dong, Q.; Zhang, S.-z. Ursolic acid inhibits proliferation and induces apoptosis of HT-29 colon cancer cells by inhibiting the EGFR/MAPK pathway. *J. Zhejiang Univ. Sci. B* **2009**, *10* (9), 668-674. DOI: 10.1631/jzus.B0920149.
- (49) Panda, S. S.; Thangaraju, M.; Lokeshwar, B. L. Ursolic Acid Analogs as Potential Therapeutics for Cancer. *Molecules* **2022**, *27* (24). DOI: 10.3390/molecules27248981 From NLM.
- (50) Alarcón, B.; González, M. E.; Carrasco, L. Megalomycin C, a macrolide antibiotic that blocks protein glycosylation and shows antiviral activity. *FEBS Lett.* **1988**, *231* (1), 207-211. DOI: [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(88\)80732-4](https://doi.org/10.1016/0014-5793(88)80732-4) (accessed 2024/05/22).
- (51) Prudhomme, M. Rebeccamycin analogues as anti-cancer agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, *38* (2), 123-140. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0223-5234\(03\)00011-4](https://doi.org/10.1016/S0223-5234(03)00011-4).
- (52) Onaka, H.; Taniguchi, S.; Igarashi, Y.; Furumai, T. Characterization of the biosynthetic gene cluster of rebeccamycin from *Lechevalieria aerocolonigenes* ATCC 39243. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2003**, *67* (1), 127-138. DOI: 10.1271/bbb.67.127 From NLM.
- (53) Theurer, M. E.; Amachawadi, R. G. Antimicrobial and Biological Methods to Control Liver Abscesses. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* **2022**, *38* (3), 383-394. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2022.07.001>.
- (54) O'Hagan, D. The polyether and macrolide antibiotics: biogenetic analysis and structural correlations. *Nat. Prod. Rep.* **1989**, *6* (2), 205-219, 10.1039/NP9890600205. DOI: 10.1039/NP9890600205.
- (55) Illuminati, D.; Fantinati, A. Methyl-Containing Pharmaceuticals. *Pharmaceuticals* **2024**, *17* (5), 563.
- (56) Dalisay, D. S.; Williams, D. E.; Wang, X. L.; Centko, R.; Chen, J.; Andersen, R. J. Marine Sediment-Derived *Streptomyces* Bacteria from British Columbia, Canada Are a Promising Microbiota Resource for the Discovery of Antimicrobial Natural Products. *PLOS ONE* **2013**, *8* (10), e77078. DOI: 10.1371/journal.pone.0077078.
- (57) Ren, Y.; Chen, W. L.; Lantvit, D. D.; Sass, E. J.; Shriwas, P.; Ninh, T. N.; Chai, H. B.; Zhang, X.; Soejarto, D. D.; Chen, X.; et al. Cardiac Glycoside Constituents of *Streblus asper* with Potential Antineoplastic Activity. *J. Nat. Prod.* **2017**, *80* (3), 648-658. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.6b00924 From NLM.
- (58) Smiataczowa, K.; Kosmalski, J.; Widernik, T.; Warnke, Z. Mechanism of the transition-metal-catalyzed mutarotation reaction of N-(p-chlorophenyl)- β -d-glucopyranosylamine in methanol. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338* (9), 969-975. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(03\)00023-5](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(03)00023-5).
- (59) Gormand, P.; Pichette, A.; Legault, J.; Alsarraf, J. Synthesis and Cytotoxicity of Monomethylated Betulinic Acid 3-O- α -l-Rhamnopyranosides. *ACS Omega* **2023**, *8* (39), 36118-36125. DOI: 10.1021/acsomega.3c04301.
- (60) Dimakos, V.; Taylor, M. S. Site-Selective Functionalization of Hydroxyl Groups in Carbohydrate Derivatives. *Chem. Rev.* **2018**, *118* (23), 11457-11517. DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00442.

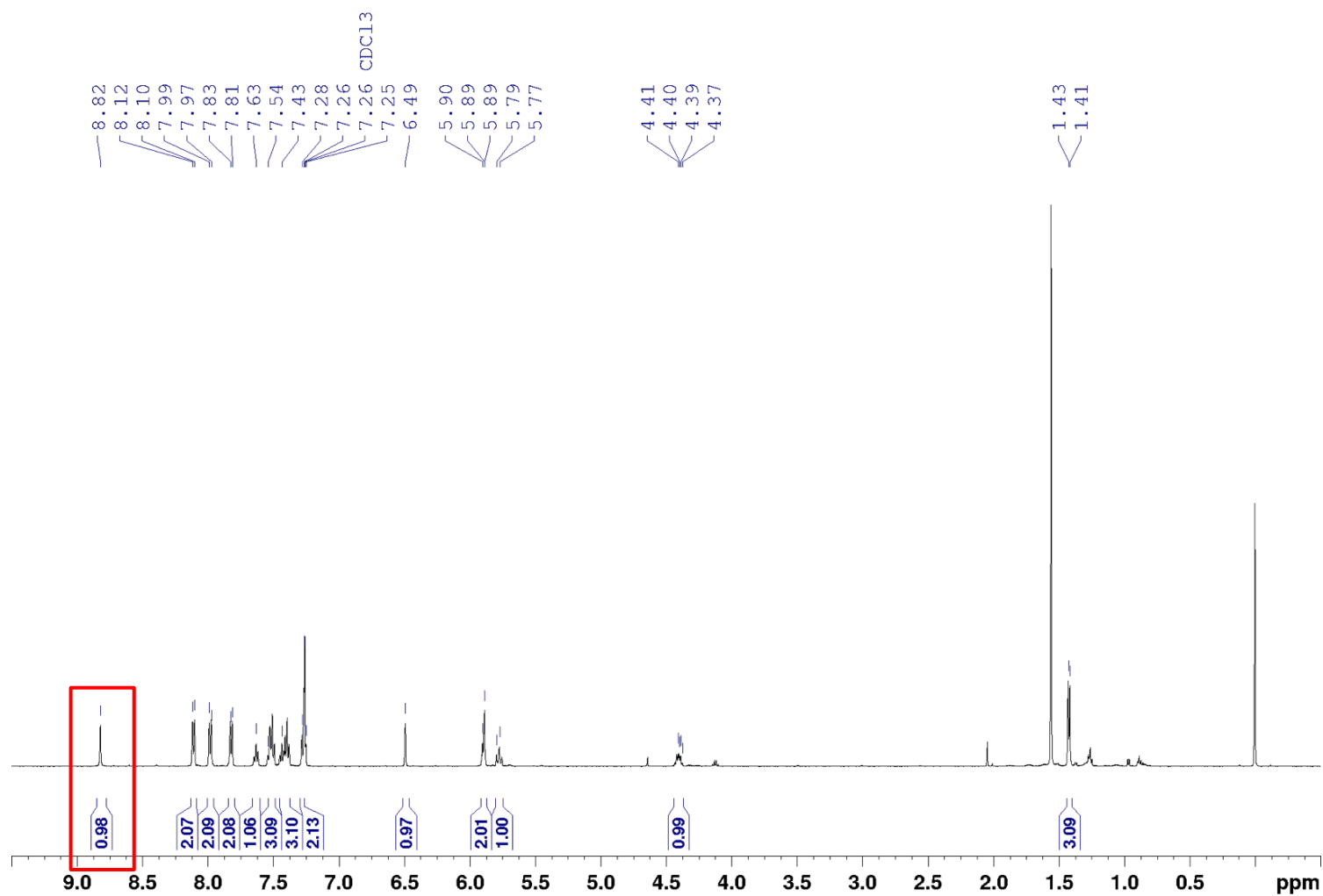
- (61) Chan, L.; Taylor, M. S. Regioselective Alkylation of Carbohydrate Derivatives Catalyzed by a Diarylborinic Acid Derivative. *Org. Lett.* **2011**, *13* (12), 3090-3093. DOI: 10.1021/ol200990e.
- (62) Saikam, V.; Dara, S.; Yadav, M.; Singh, P. P.; Vishwakarma, R. A. Dimethyltin Dichloride Catalyzed Regioselective Alkylation of cis-1,2-Diols at Room Temperature. *J. Org. Chem.* **2015**, *80* (24), 11916-11925. DOI: 10.1021/acs.joc.5b01898.
- (63) Xu, H.; Lu, Y.; Zhou, Y.; Ren, B.; Pei, Y.; Dong, H.; Pei, Z. Regioselective Benzoylation of Diols and Polyols by Catalytic Amounts of an Organotin Reagent. *Adv. Synth. Catal.* **2014**, *356* (8), 1735-1740. DOI: <https://doi.org/10.1002/adsc.201301152>.
- (64) Nagashima, N.; Ohno, M. An Efficient O-Monoalkylation of Dimethyl L-Tartrate via O-Stannylene Acetal with Alkyl Halides in the Presence of Cesium Fluoride. *Chem. Lett.* **1987**, *16* (1), 141-144. DOI: 10.1246/cl.1987.141 (accessed 7/17/2024).
- (65) Lu, S.; Boyd, R. J.; Grindley, T. B. Role of fluoride in accelerating the reactions of dialkylstannylene acetals. *J. Org. Chem.* **2015**, *80* (6), 2989-3002. DOI: <https://doi.org/10.1021/jo502560q>.
- (66) Ziegler, T.; Bien, F.; Jurisch, C. Chemoenzymatic synthesis of enantiomerically pure alkene 1,2-diols and glycosides thereof. *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9* (5), 765-780. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(98\)00051-2](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(98)00051-2).
- (67) Plé, K.; Chwalek, M.; Voutquenne-Nazabadioko, L. Synthesis of α -Hederin, δ -Hederin, and Related Triterpenoid Saponins. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, *2004* (7), 1588-1603. DOI: <https://doi.org/10.1002/ejoc.200300723>.
- (68) Wang, Z. Schmidt Glycosylation. In *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*, 2010; pp 2498-2502.
- (69) Tsuji, J.; Takahashi, H.; Morikawa, M. Organic syntheses by means of noble metal compounds XVII. Reaction of π -allylpalladium chloride with nucleophiles. *Tetrahedron Lett.* **1965**, *6* (49), 4387-4388. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)71674-1](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)71674-1).
- (70) Fulmer, G. R.; Miller, A. J. M.; Sherden, N. H.; Gottlieb, H. E.; Nudelman, A.; Stoltz, B. M.; Bercaw, J. E.; Goldberg, K. I. NMR Chemical Shifts of Trace Impurities: Common Laboratory Solvents, Organics, and Gases in Deuterated Solvents Relevant to the Organometallic Chemist. *Organometallics* **2010**, *29* (9), 2176-2179. DOI: 10.1021/om100106e.
- (71) Liu, H.; Zhou, S.-Y.; Wen, G.-E.; Liu, X.-X.; Liu, D.-Y.; Zhang, Q.-J.; Schmidt, R. R.; Sun, J.-S. The 2,2-Dimethyl-2-(ortho-nitrophenyl)acetyl (DMNPA) Group: A Novel Protecting Group in Carbohydrate Chemistry. *Org. Lett.* **2019**, *21* (19), 8049-8052. DOI: 10.1021/acs.orglett.9b03025.
- (72) Mallavadhani, U. V.; Mahapatra, A.; Pattnaik, B.; Vanga, N.; Suri, N.; Saxena, A. K. Synthesis and anti-cancer activity of some novel C-17 analogs of ursolic and oleanolic acids. *Med. Chem. Res.* **2013**, *22* (3), 1263-1269. DOI: 10.1007/s00044-012-0106-y.

ANNEXES

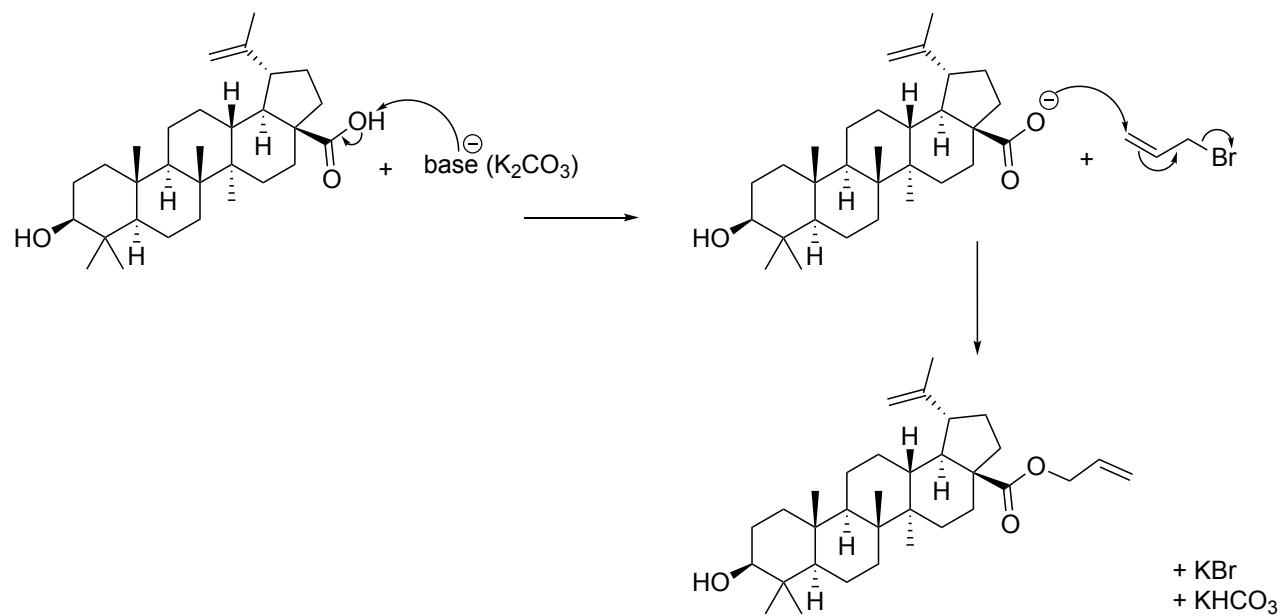
ANNEXE 1 : Mécanisme réactionnel de la préparation d'un donneur de sucre



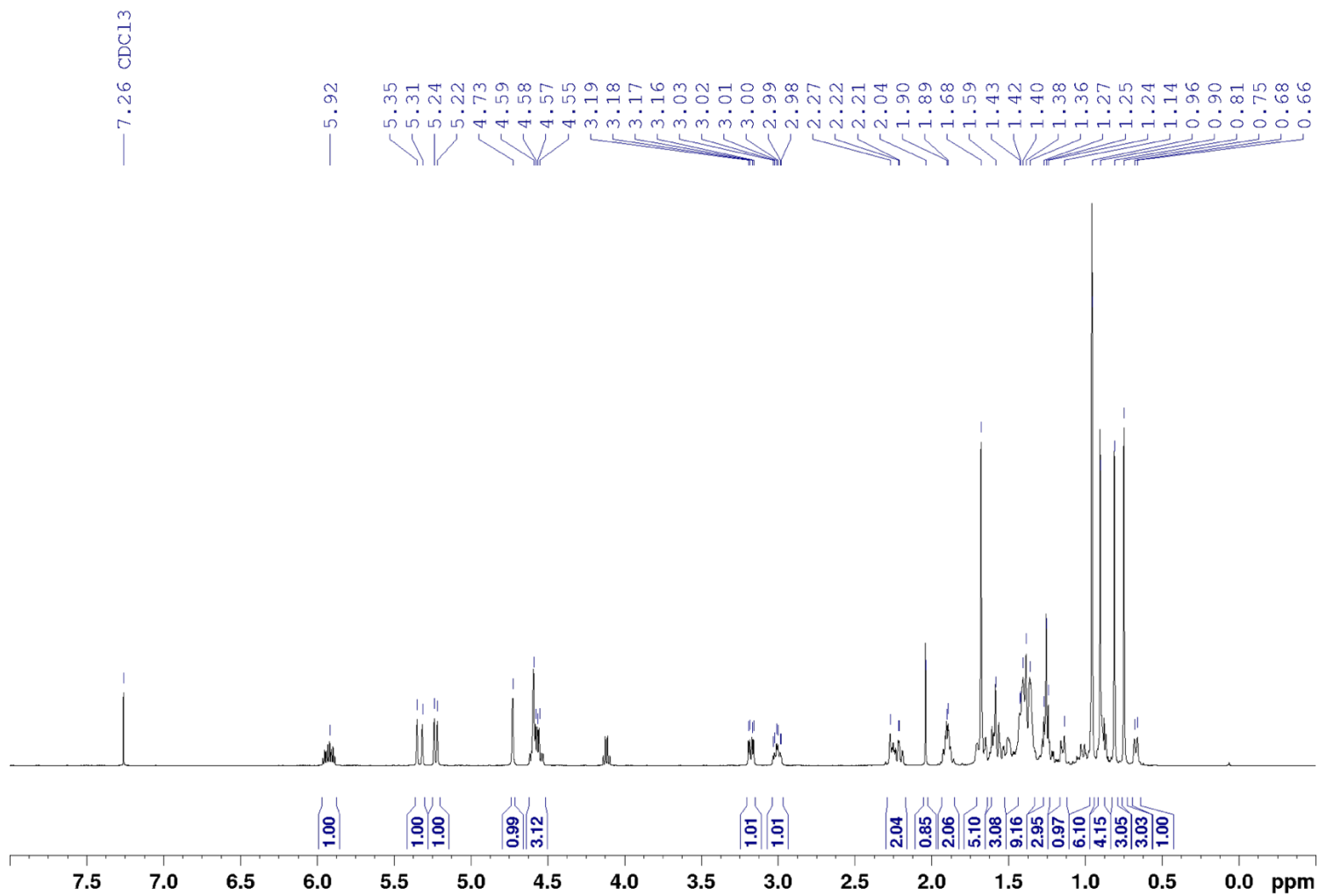
ANNEXE 2 : RMN ¹H d'un sucre trichloroacétimide



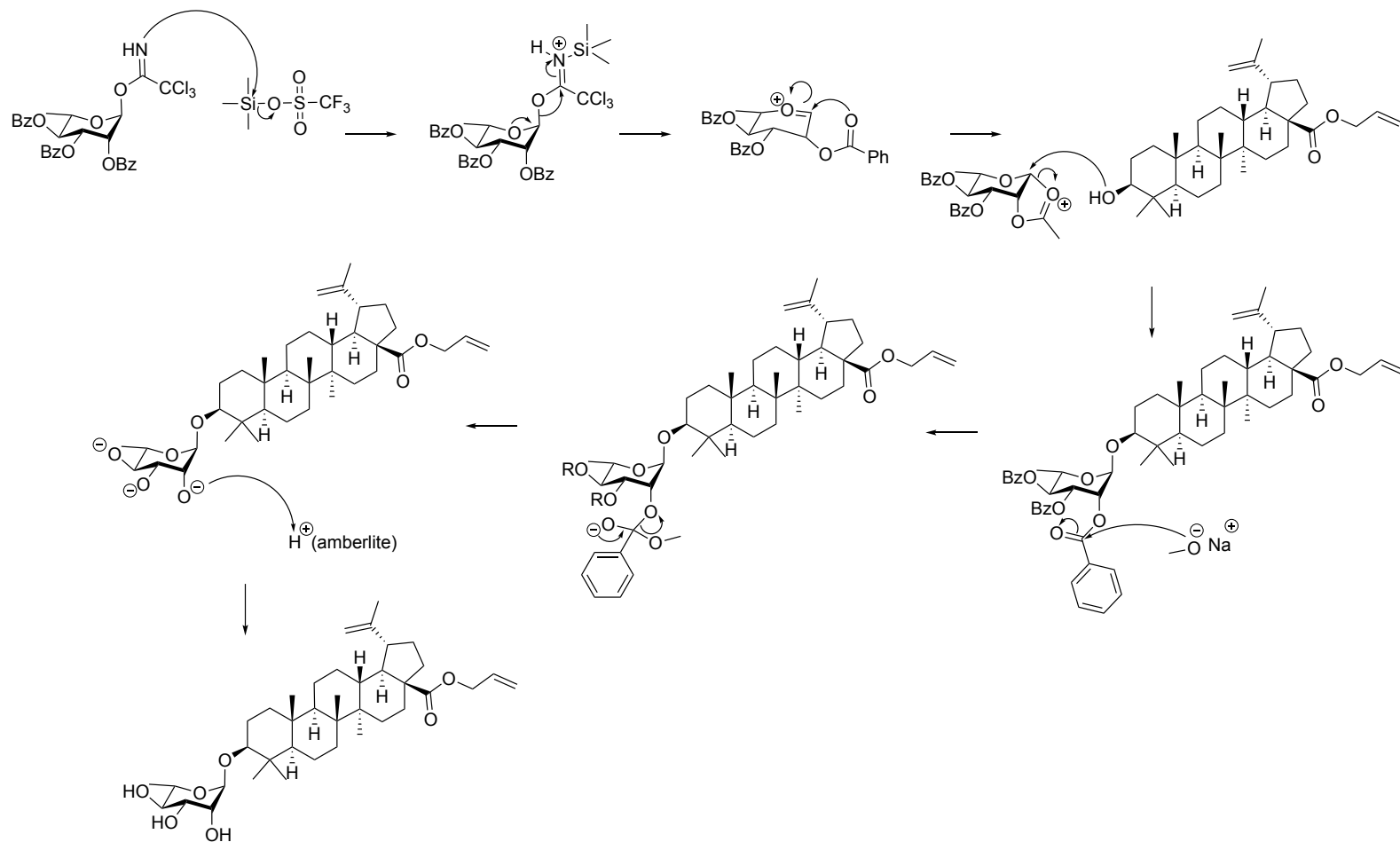
ANNEXE 3 : Mécanisme réactionnel de la protection d'un aglycone



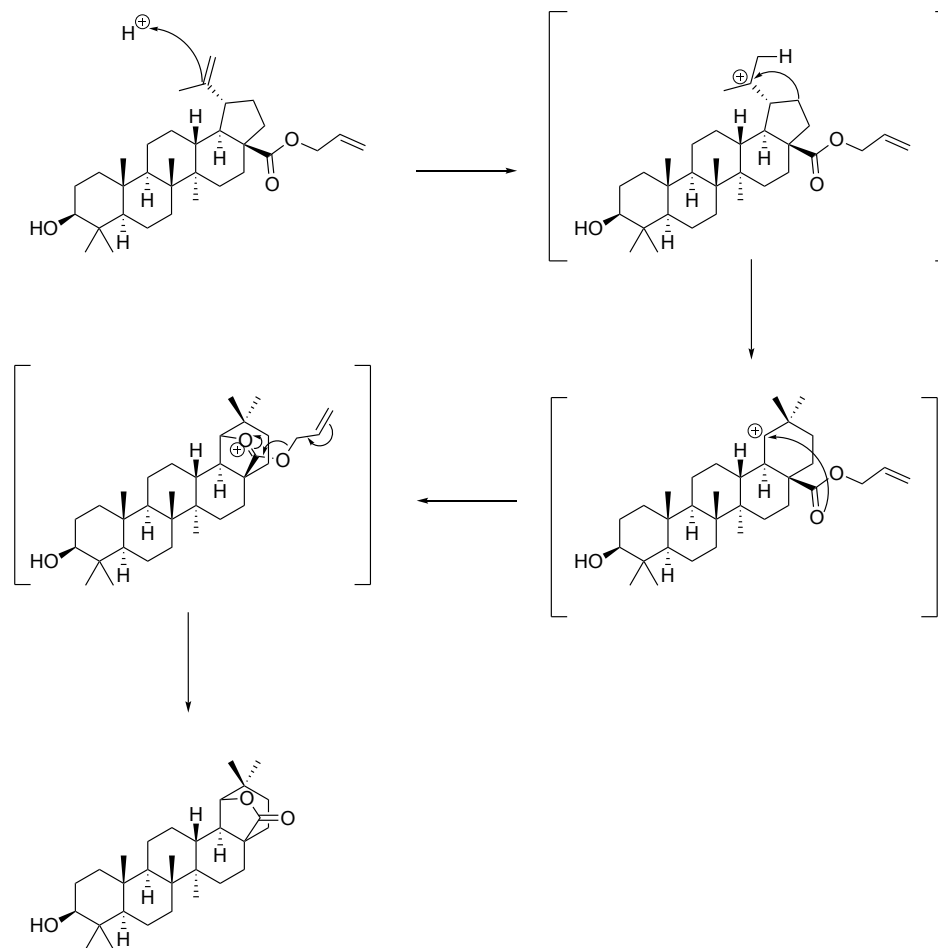
ANNEXE 4 : RMN ¹H d'un triterpène protégé



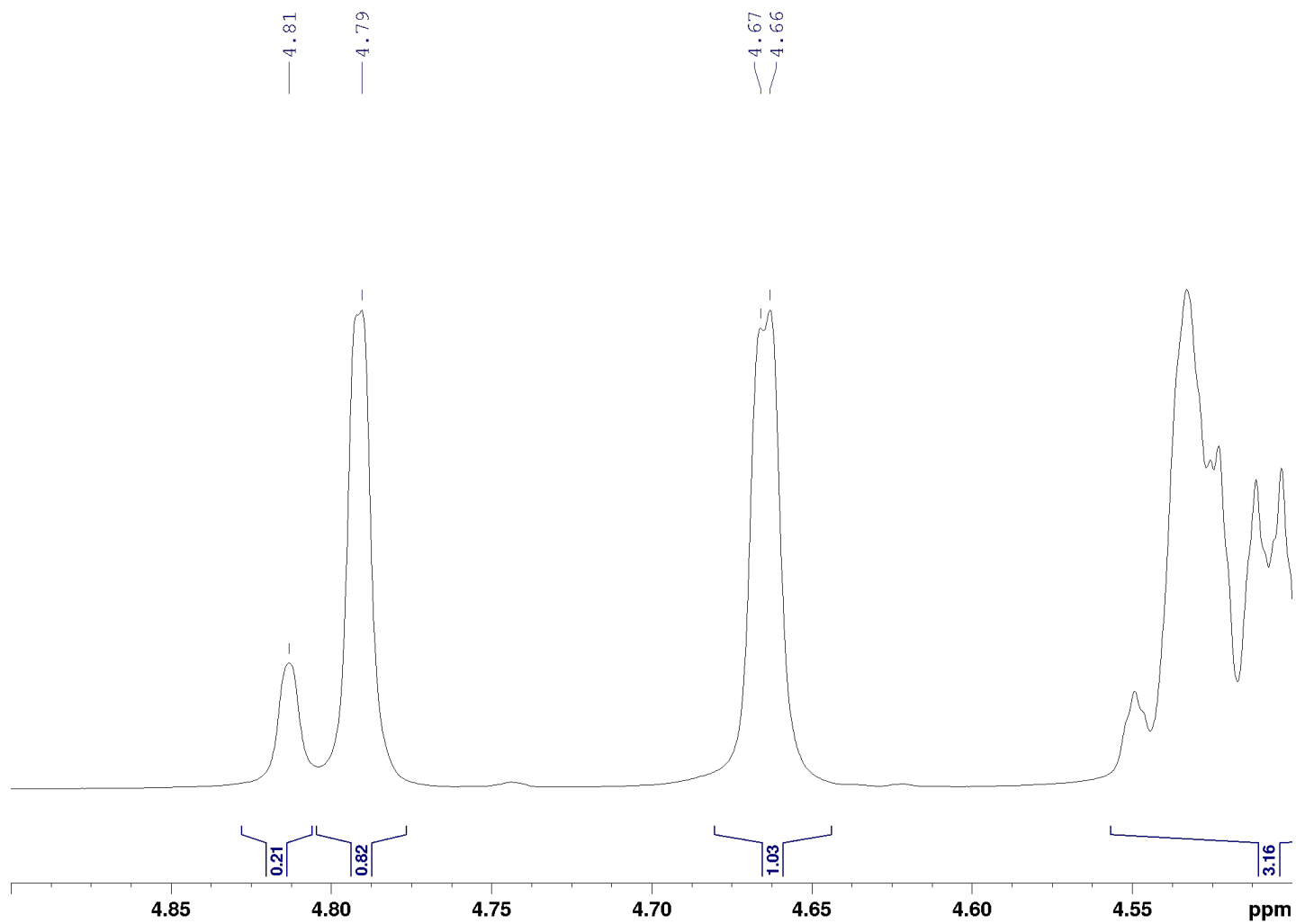
ANNEXE 5 : Mécanisme réactionnel de la glycosylation et des déprotections de la saponine triterpénique



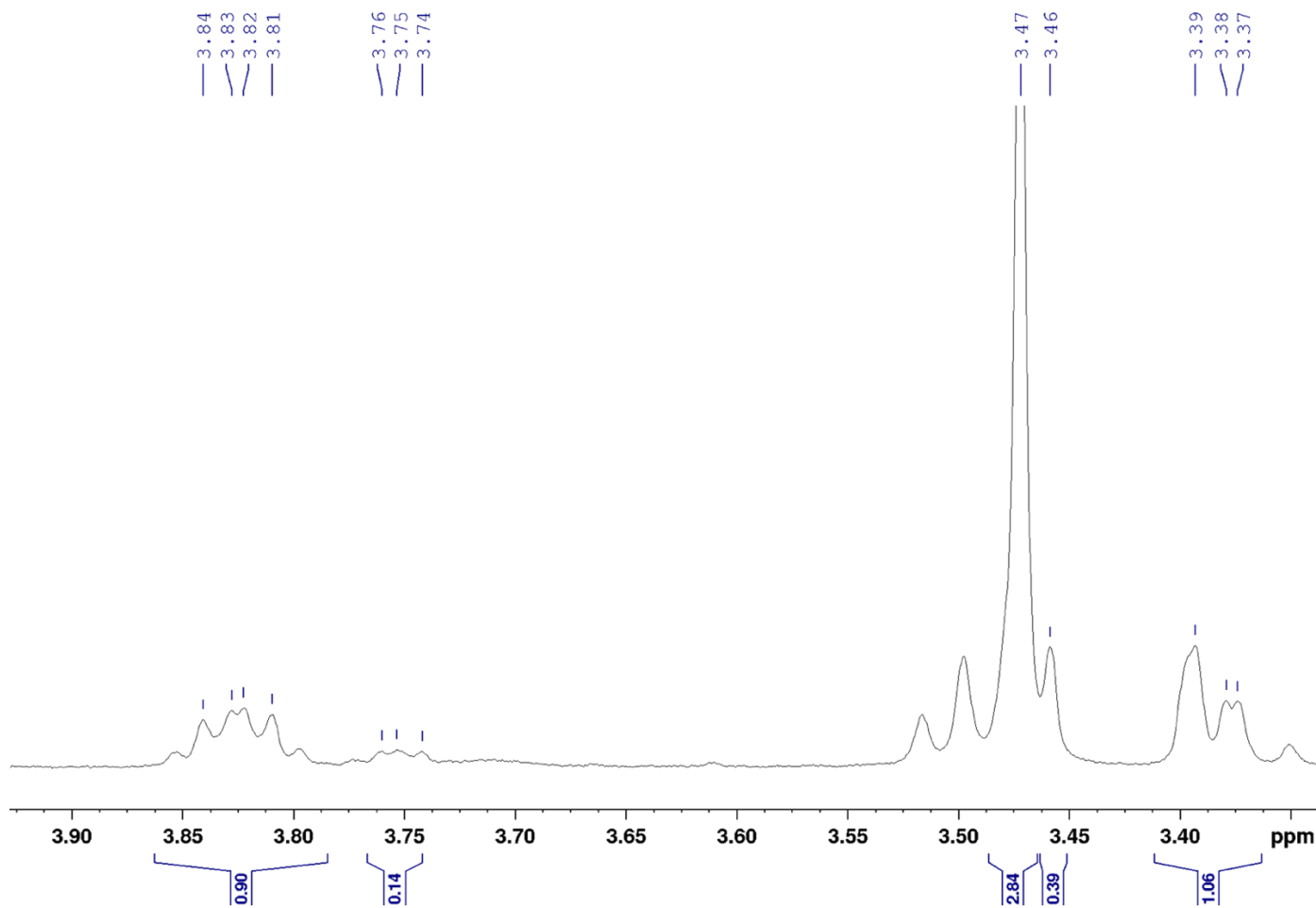
ANNEXE 6 : Réarrangement du squelette triterpénique aboutissant à la formation de 28-oxoallobétuline



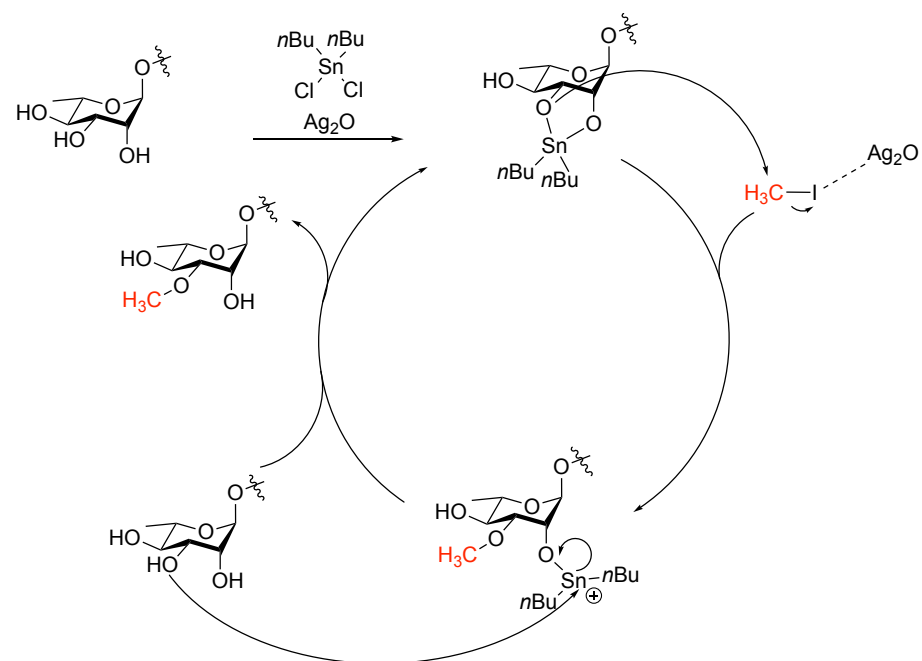
ANNEXE 7 : RMN 1H d'une méthylation avec du fluor donnant un rapport 8:2 entre deux positions monométhylées



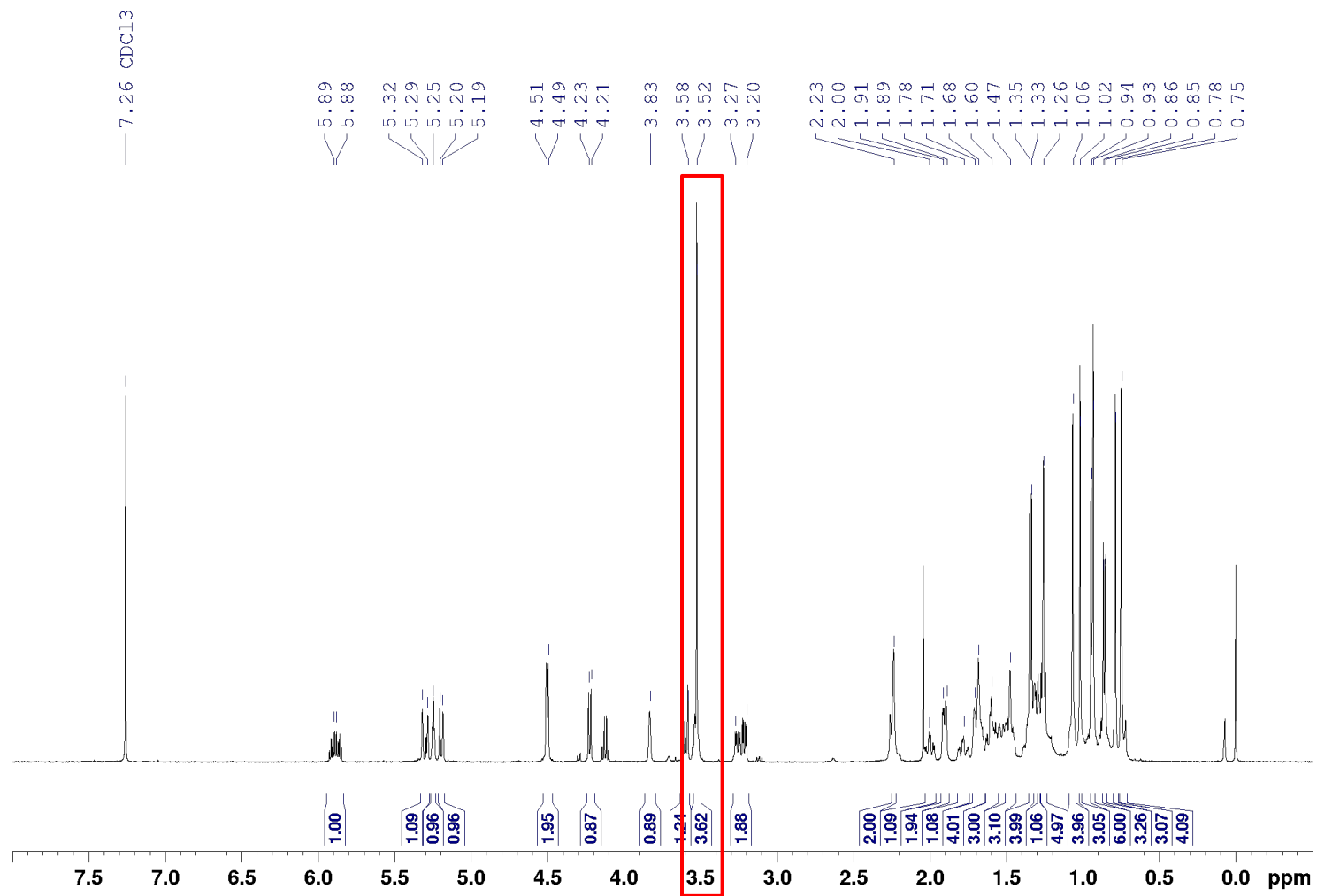
ANNEXE 8 : RMN ¹H d'une méthylation en présence de sels d'argent avec un rapport 9:1 entre deux produit de méthylation



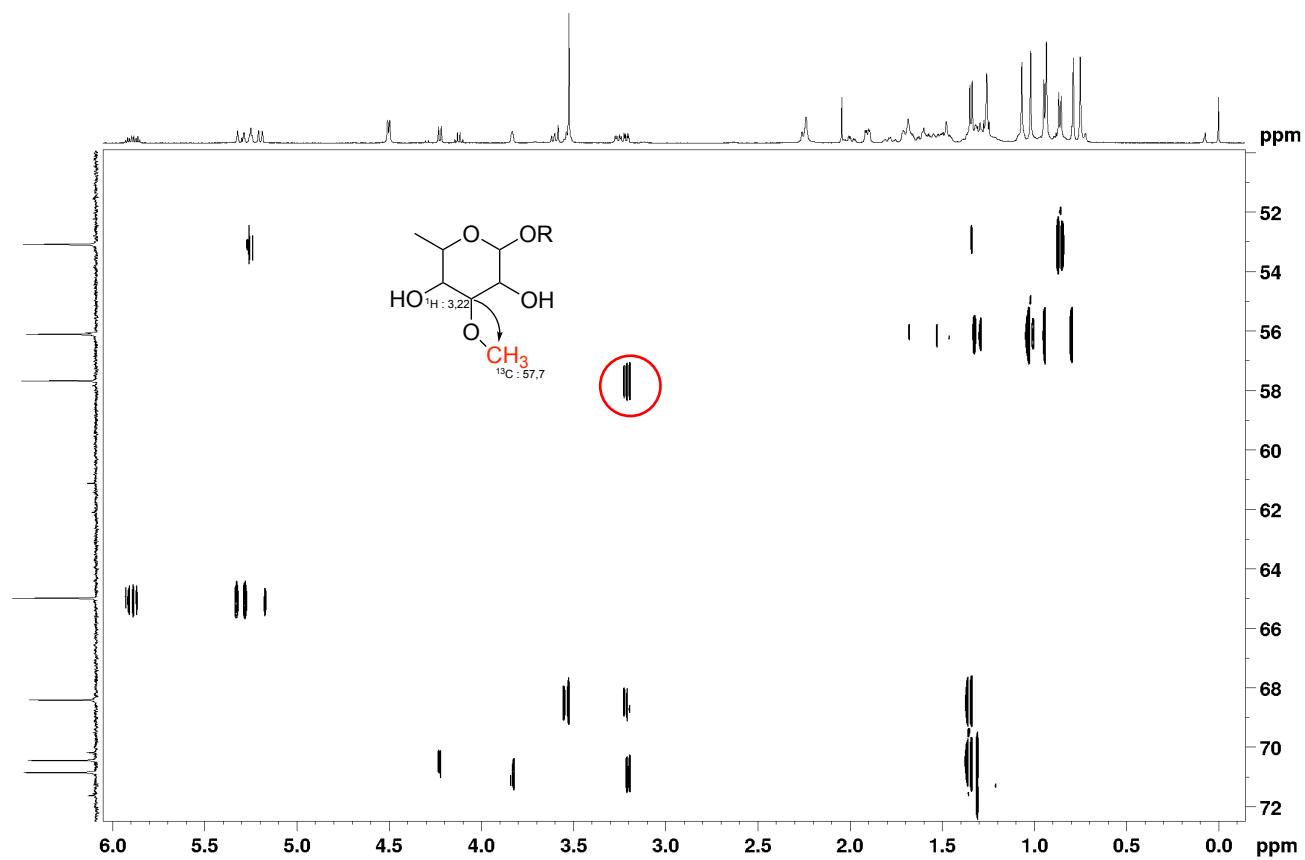
ANNEXE 9 : Mécanisme réactionnel de la méthylation catalytique site-sélective



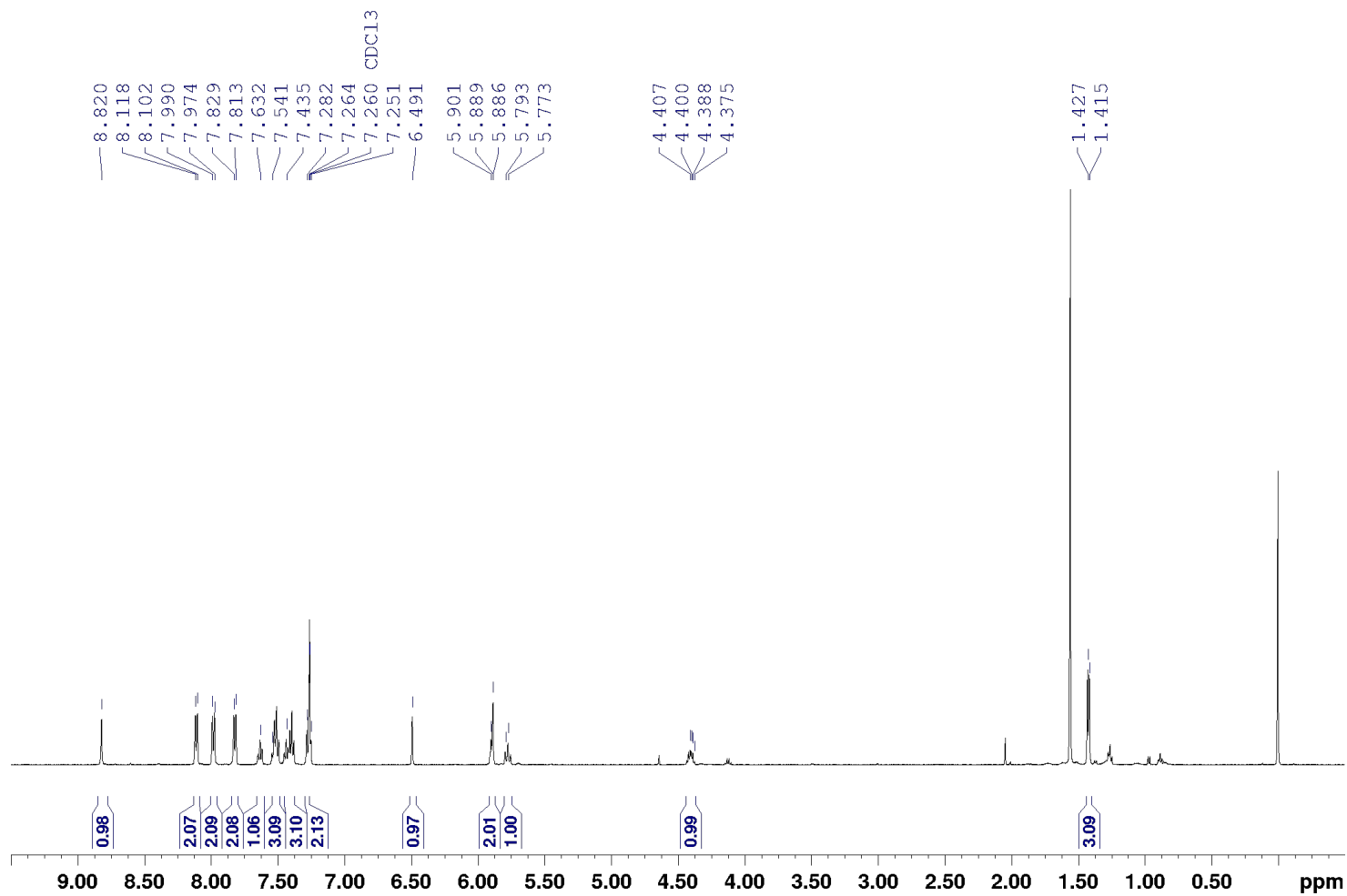
ANNEXE 10 : RMN ¹H d'un produit de méthylation

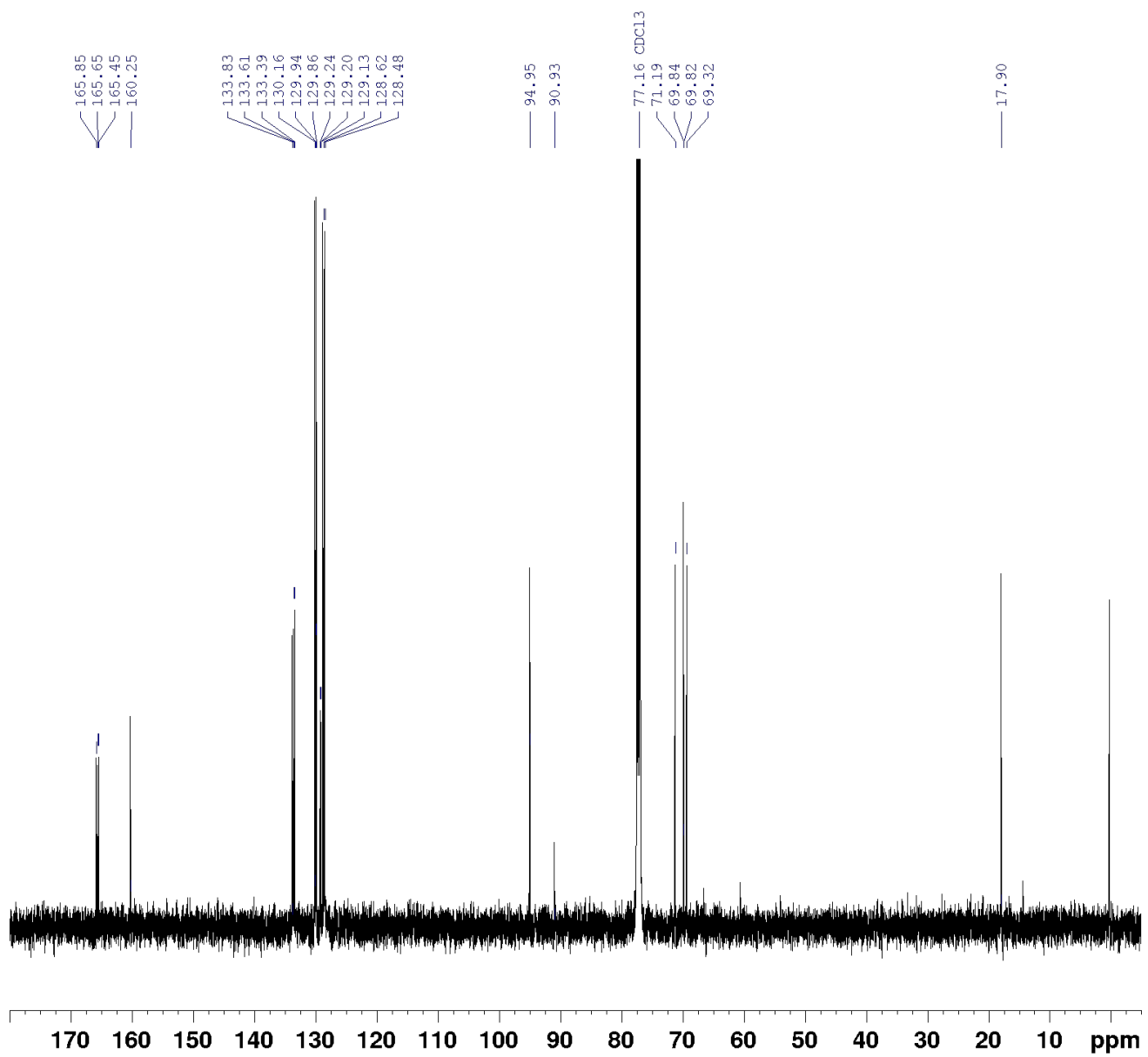


ANNEXE 11 : RMN HMBC, corrélation entre le méthyle est la position 3 du sucre

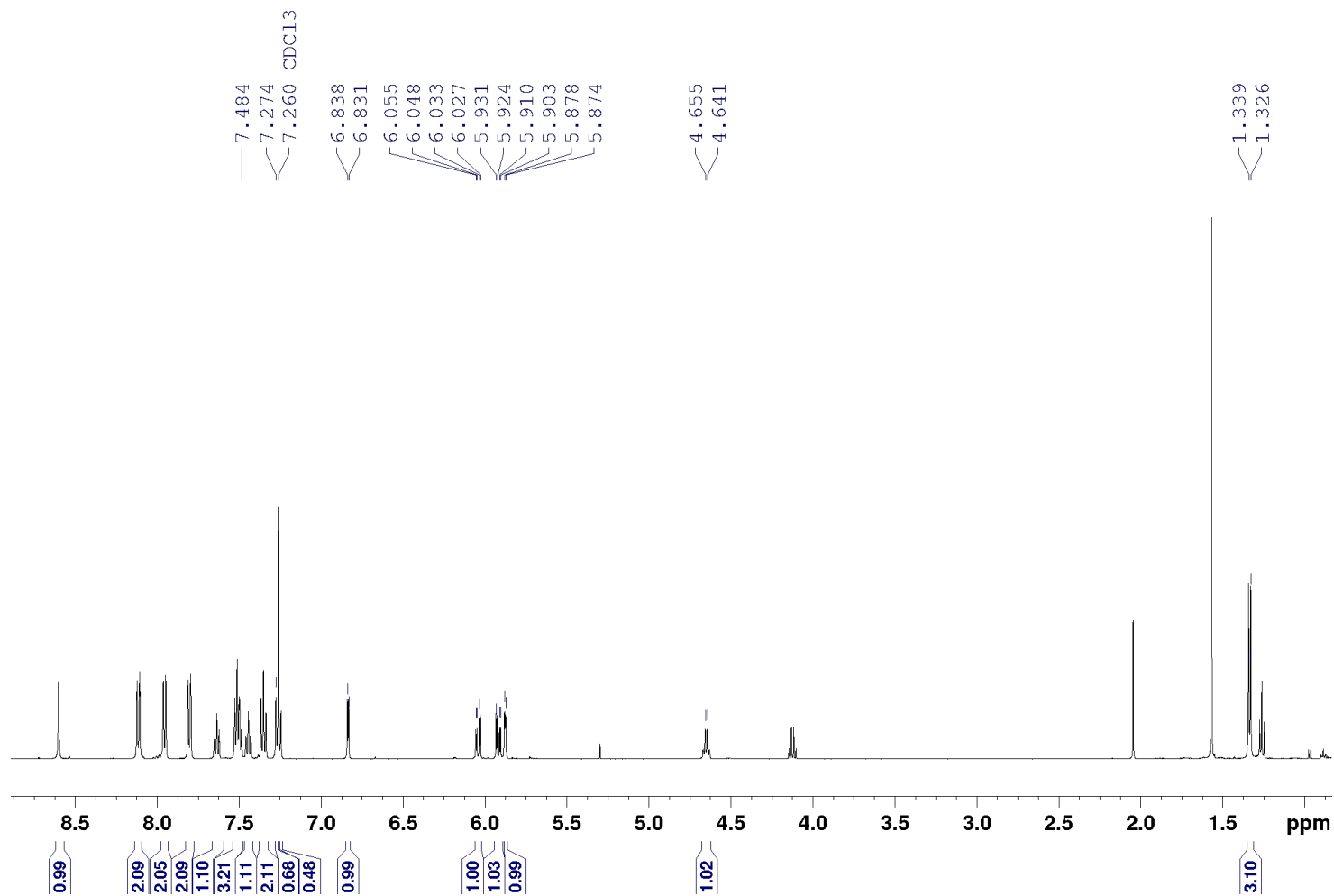


ANNEXE 12 : RMN ^1H et ^{13}C 2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyl trichloroacétimide (16d)

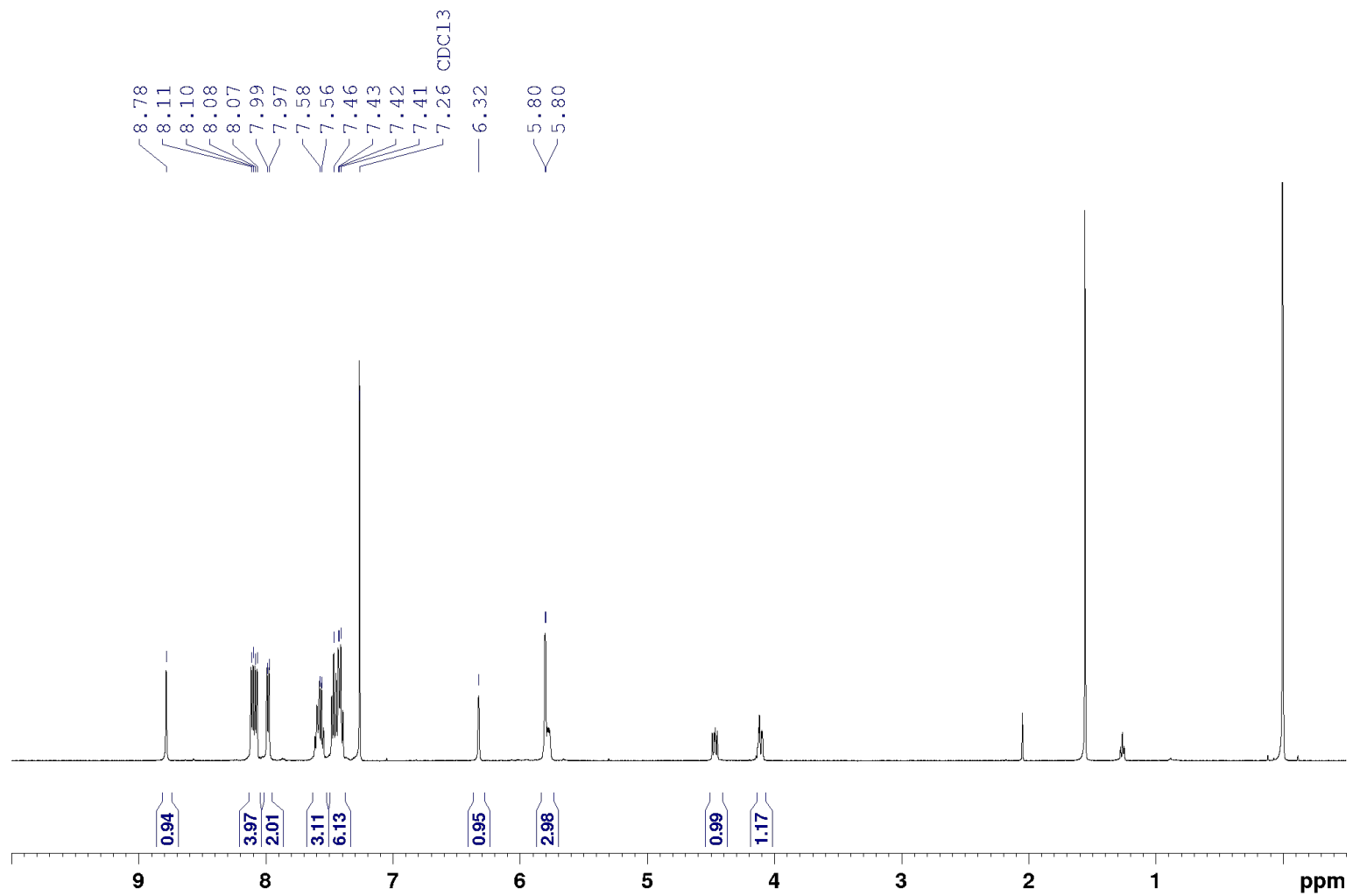




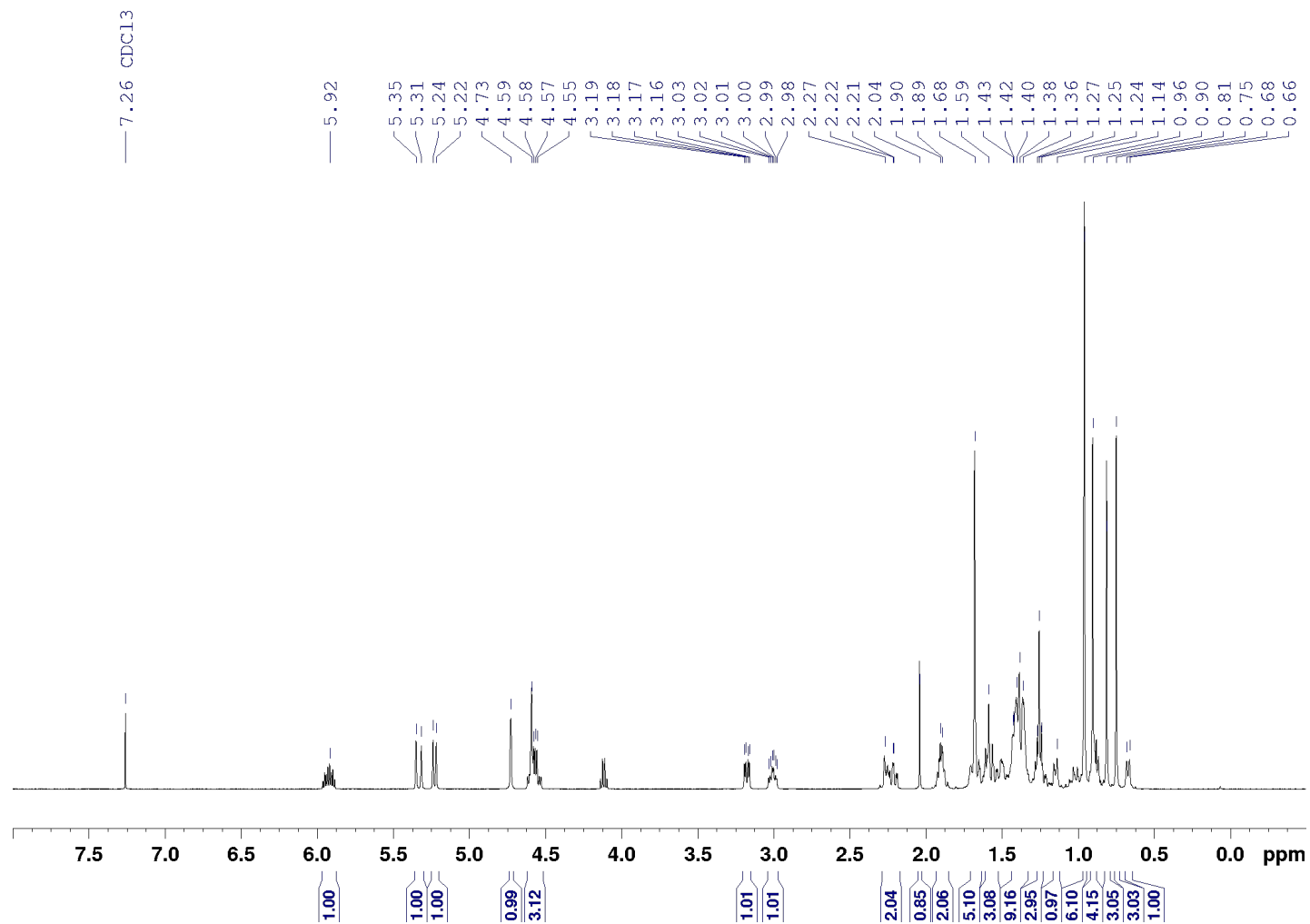
ANNEXE 13 : RMN ¹H 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- α -L-fucopyranosyl trichloroacetimidate (17d)



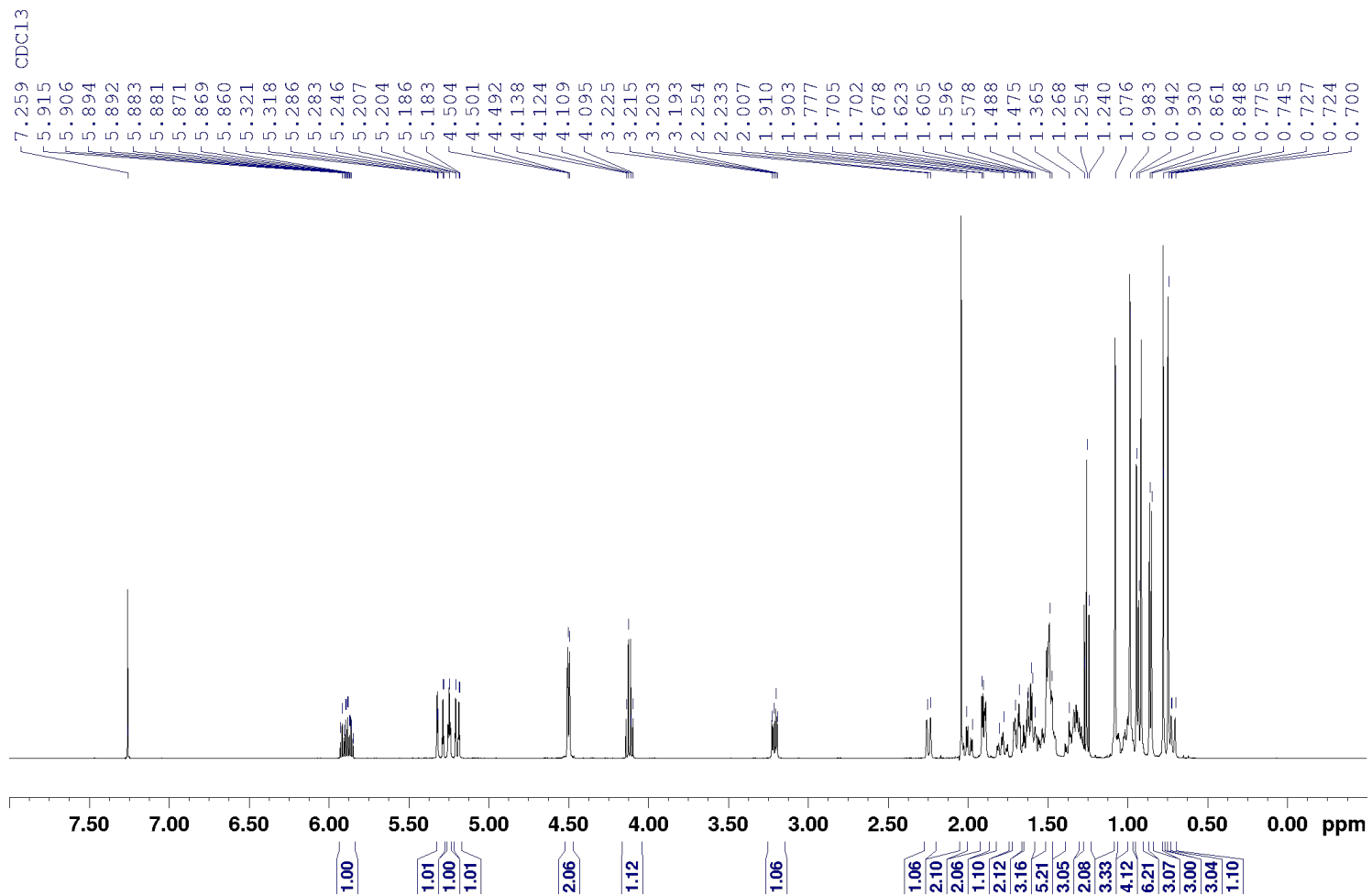
ANNEXE 14 : RMN ^1H 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- α -L-arabinopyranosyl trichloroacetimidate (**18d**)

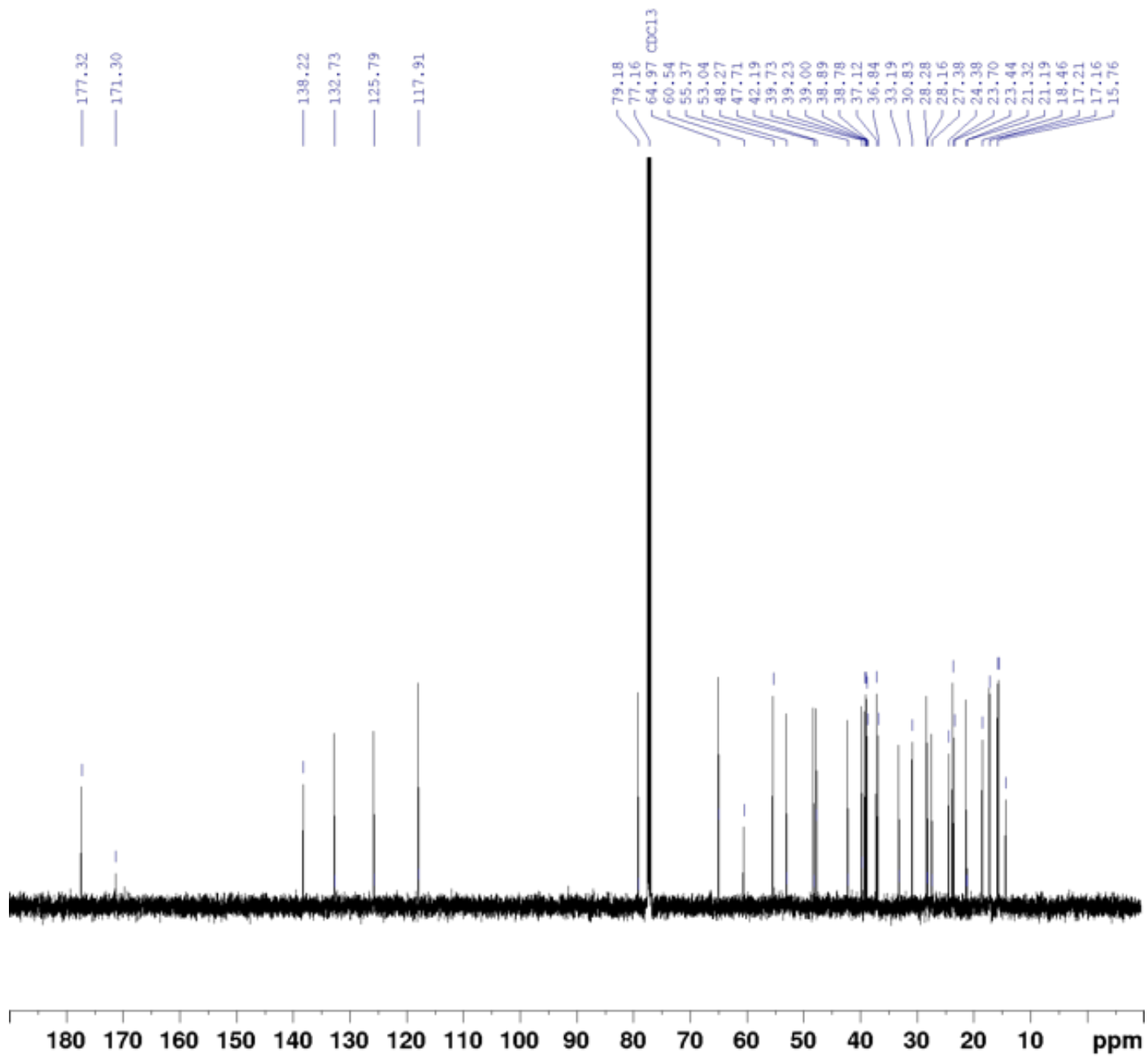


ANNEXE 15 : RMN ¹H allyl betulinate (**5b**)

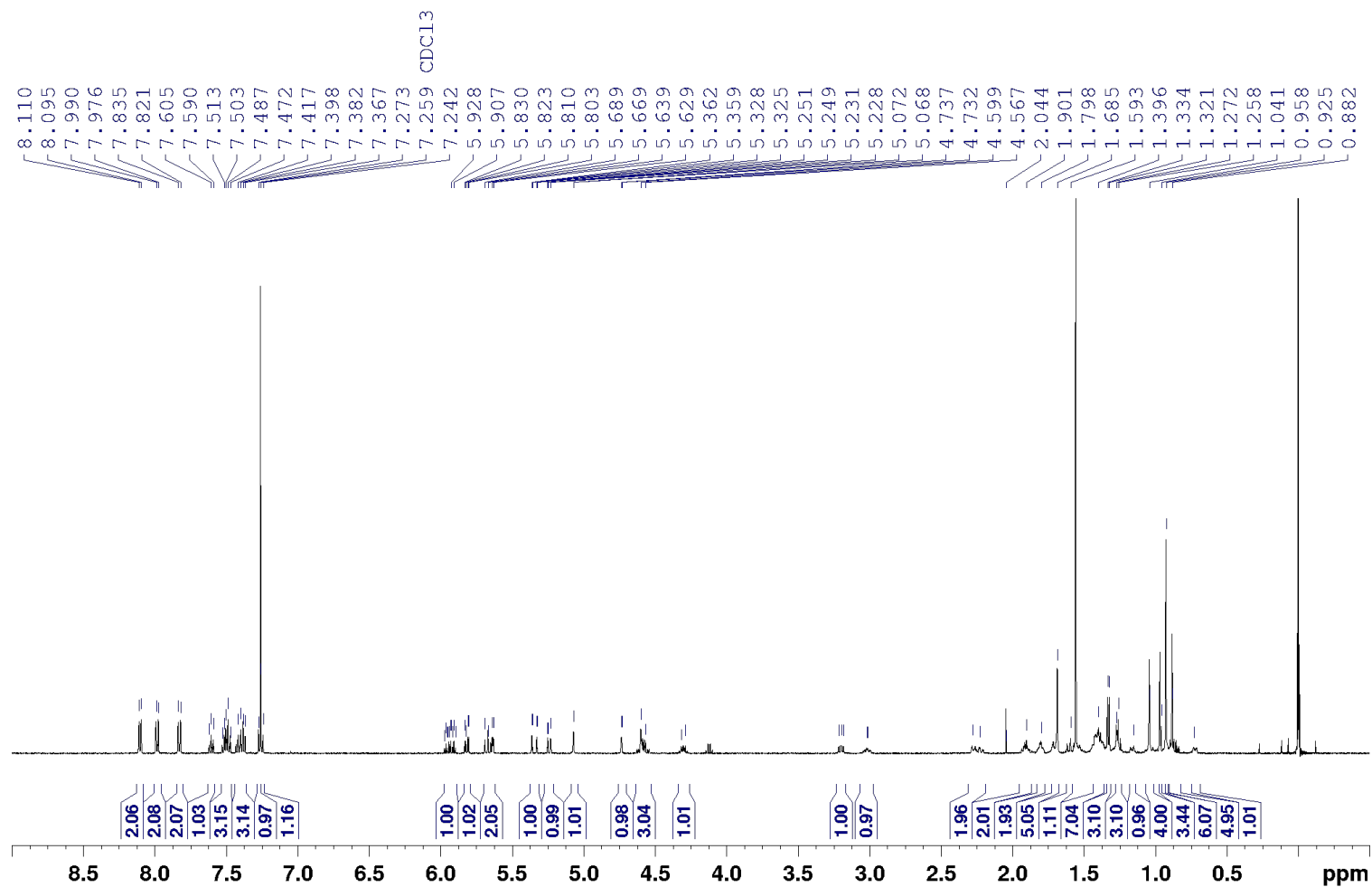


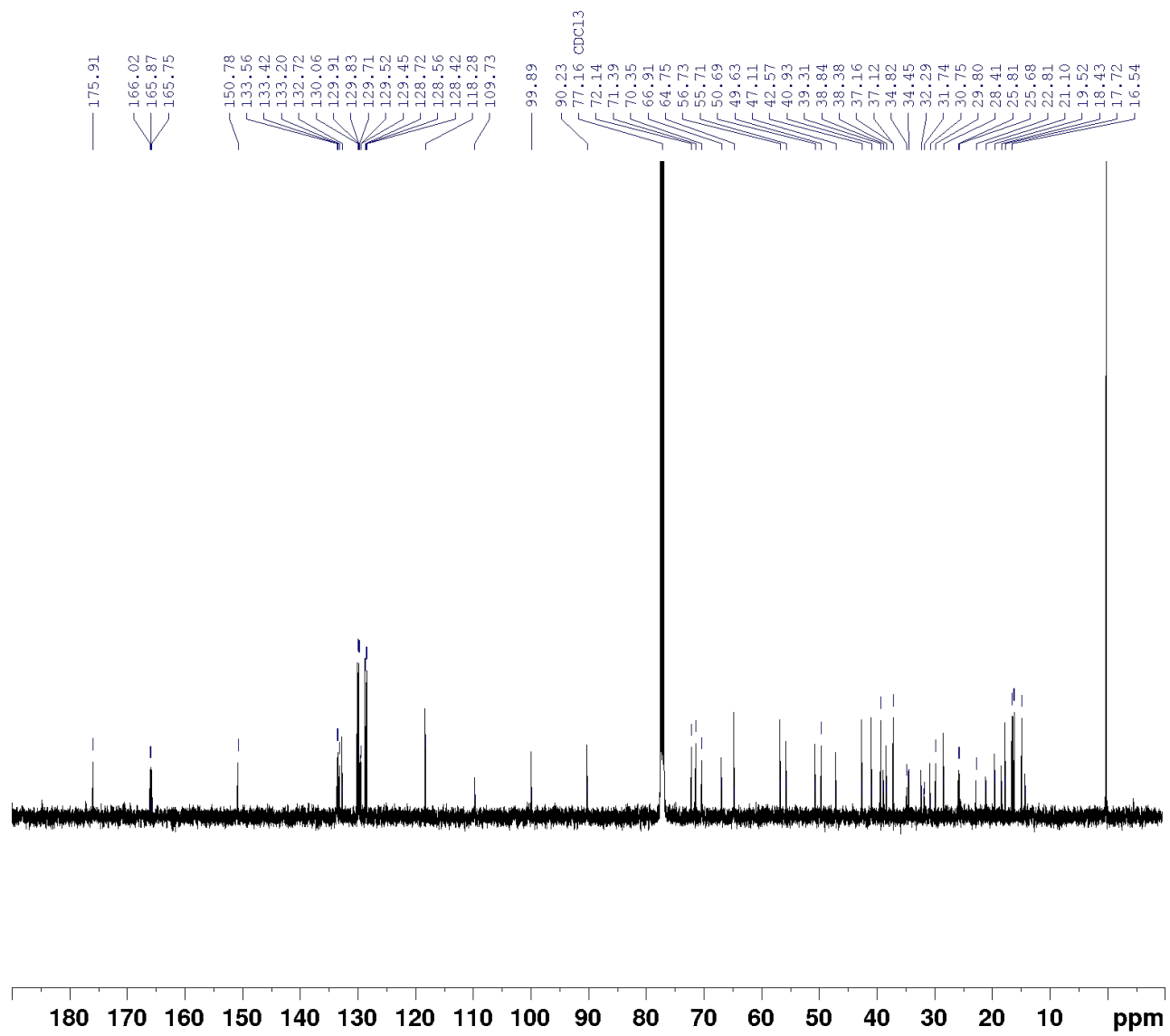
ANNEXE 16 : RMN ¹H et ¹³C allyl ursolate (**8b**)



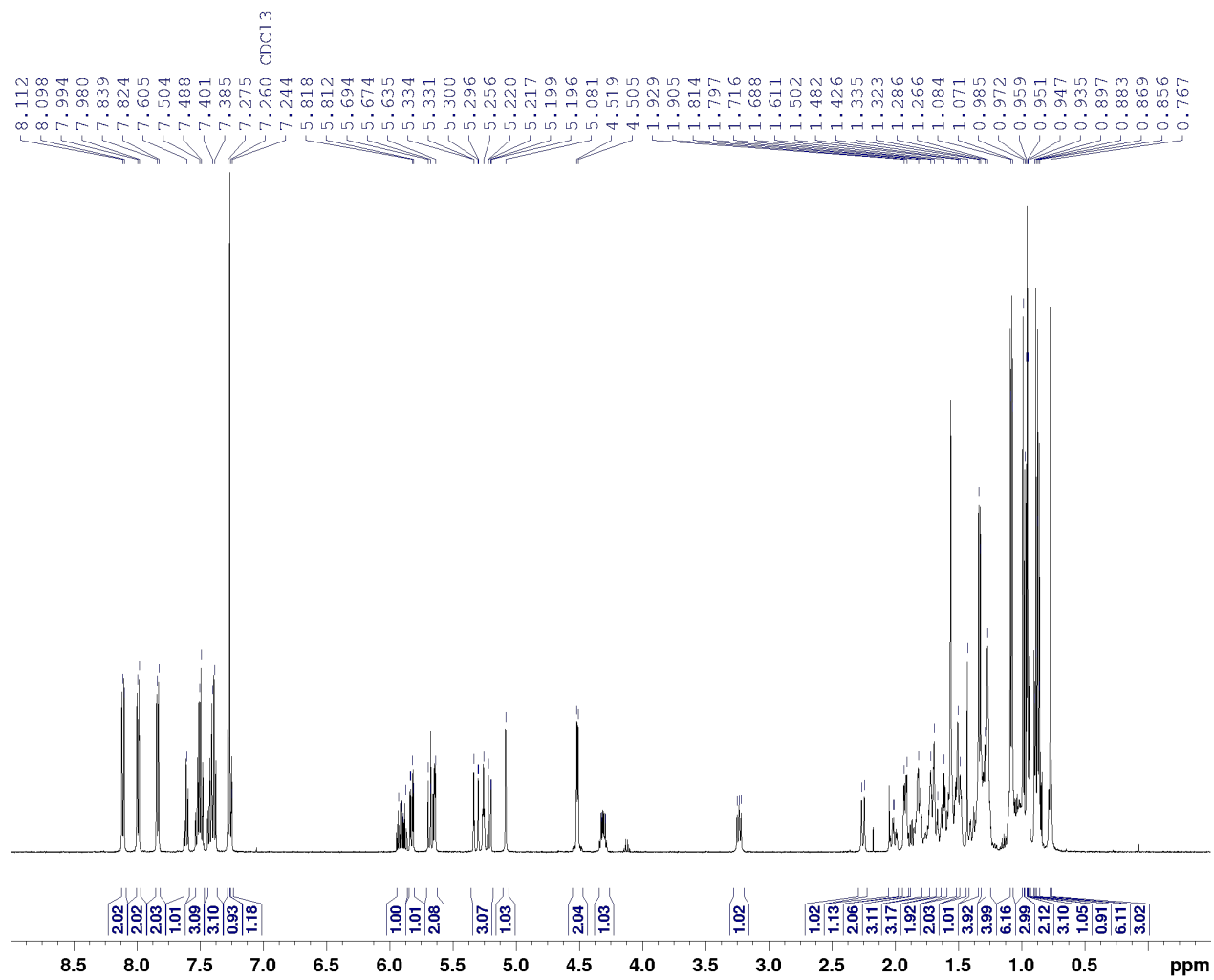


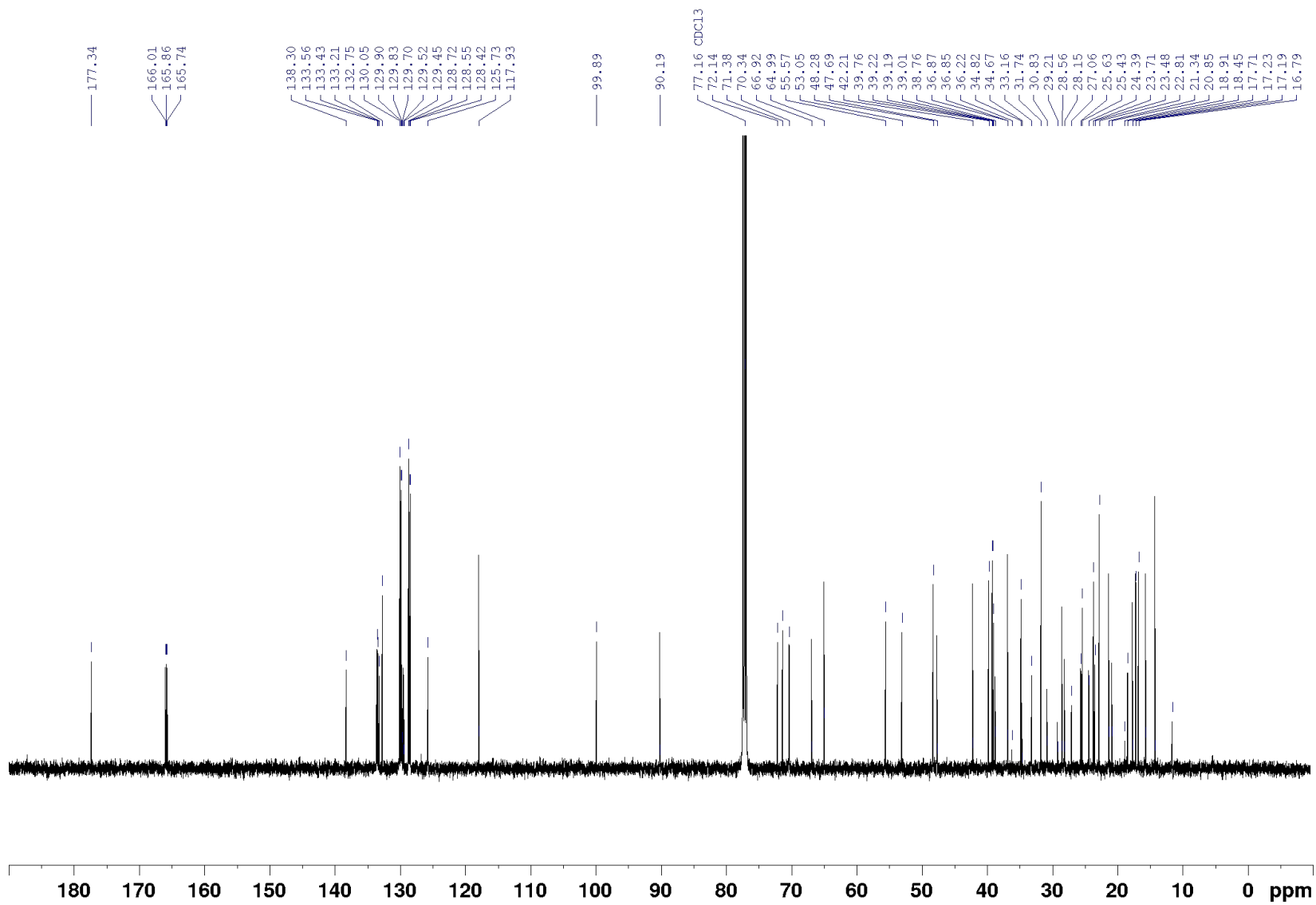
ANNEXE 17 : RMN ¹H et ¹³C 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyl)-28-allyl betulinate (19a)



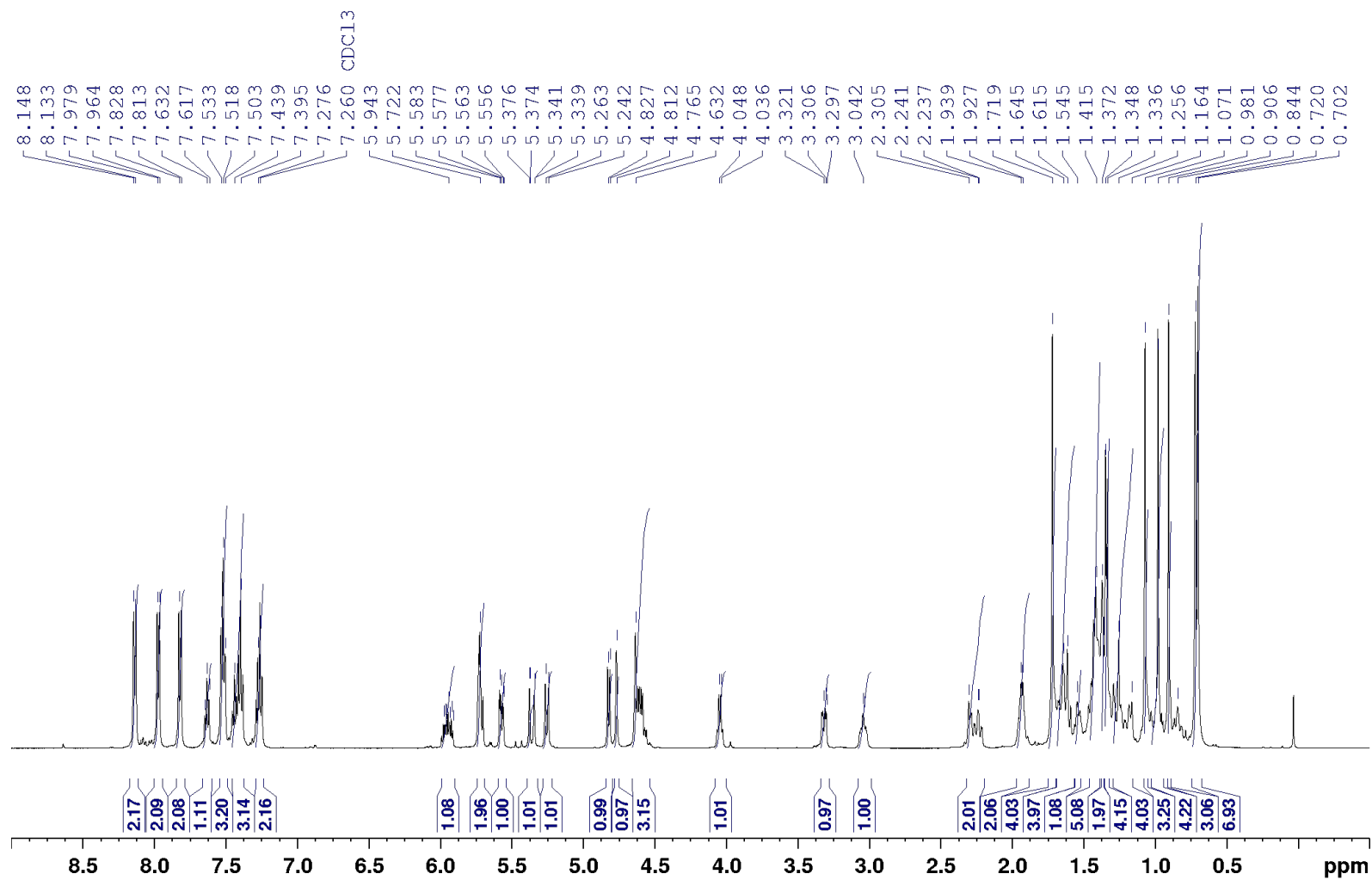


ANNEXE 18 : RMN ¹H et ¹³C 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyl)-28-allyl ursolate (20a)

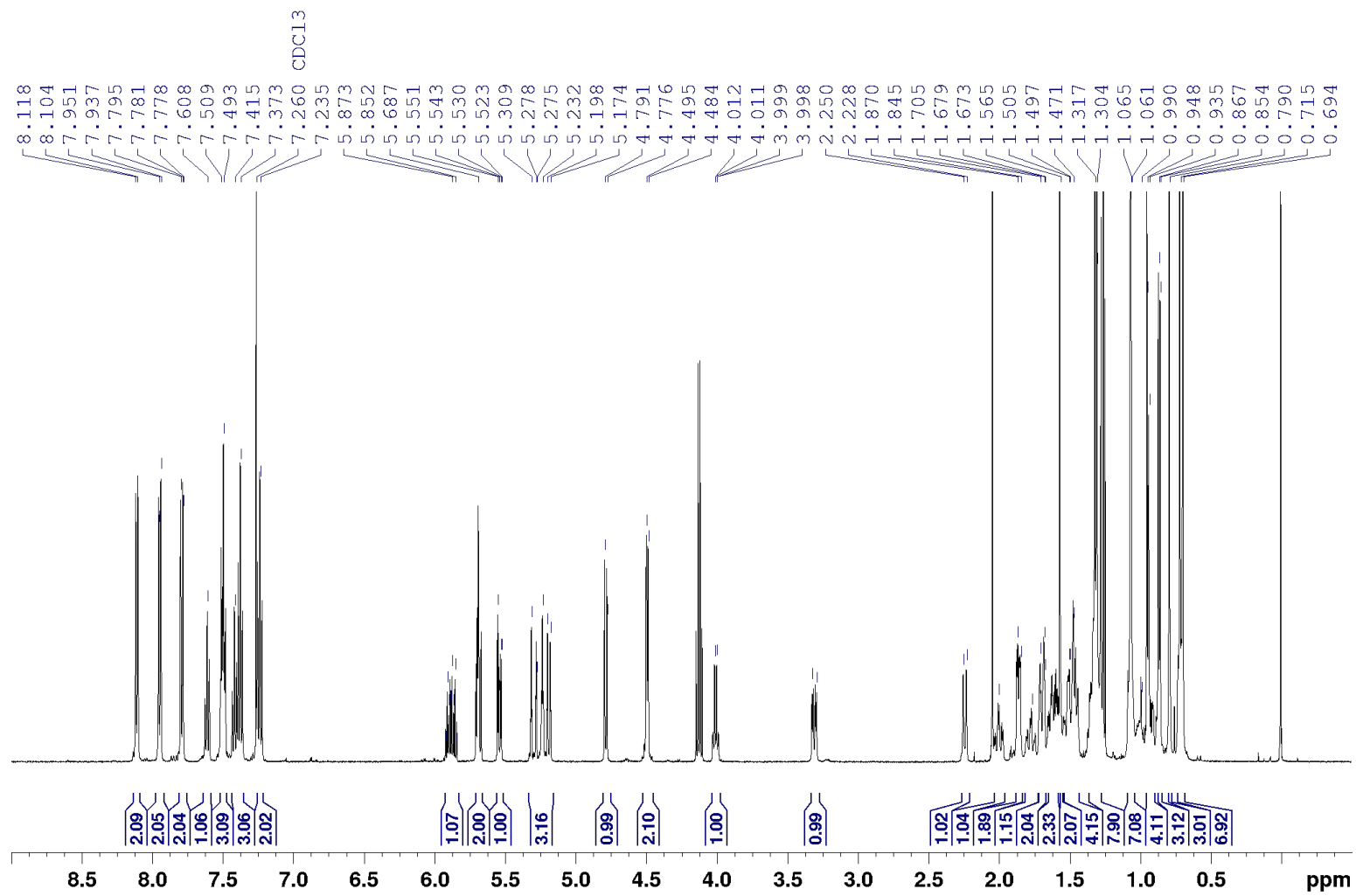




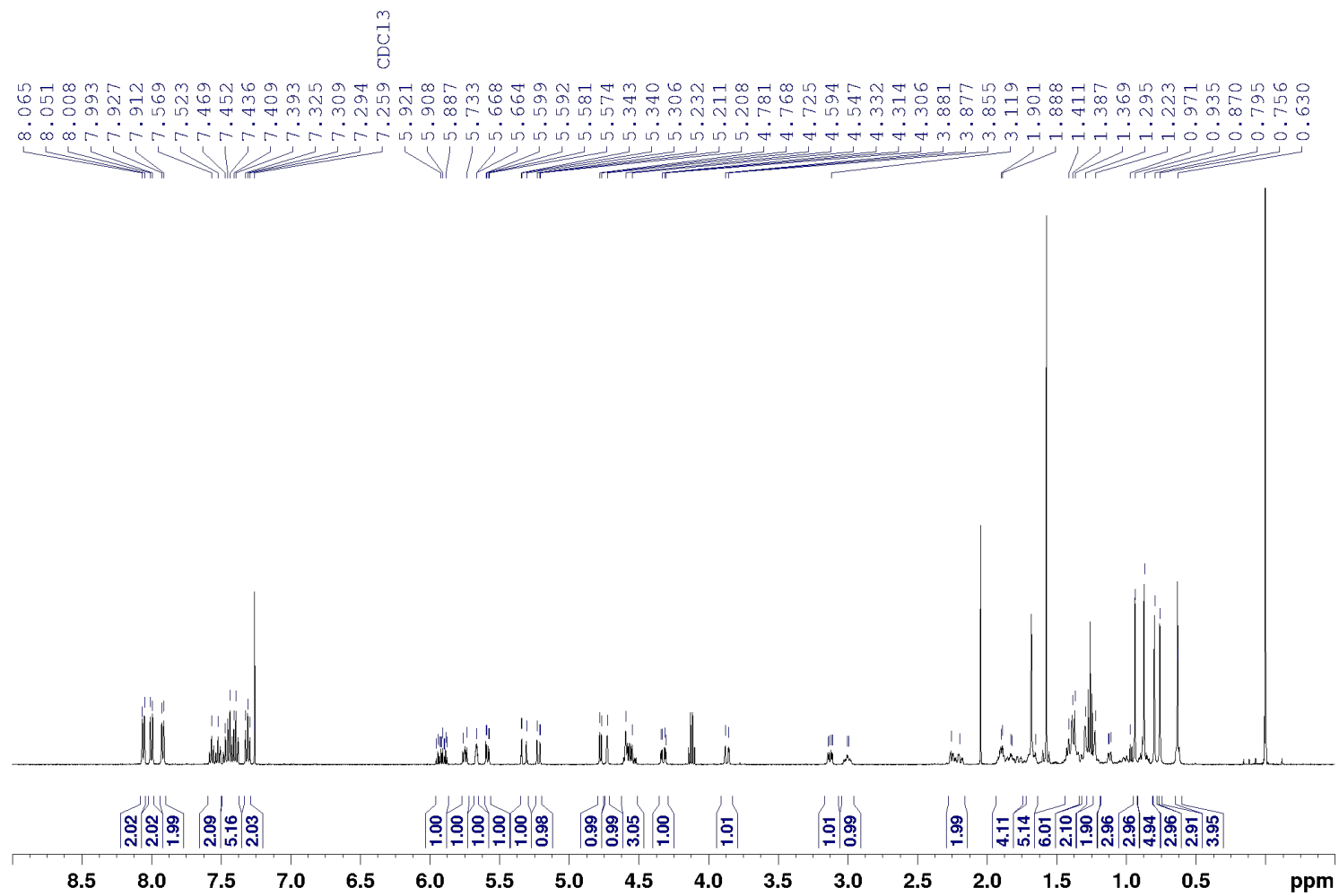
ANNEXE 19 : RMN ¹H 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-fucopyranosyl)-28-allyl betulinate (21a)

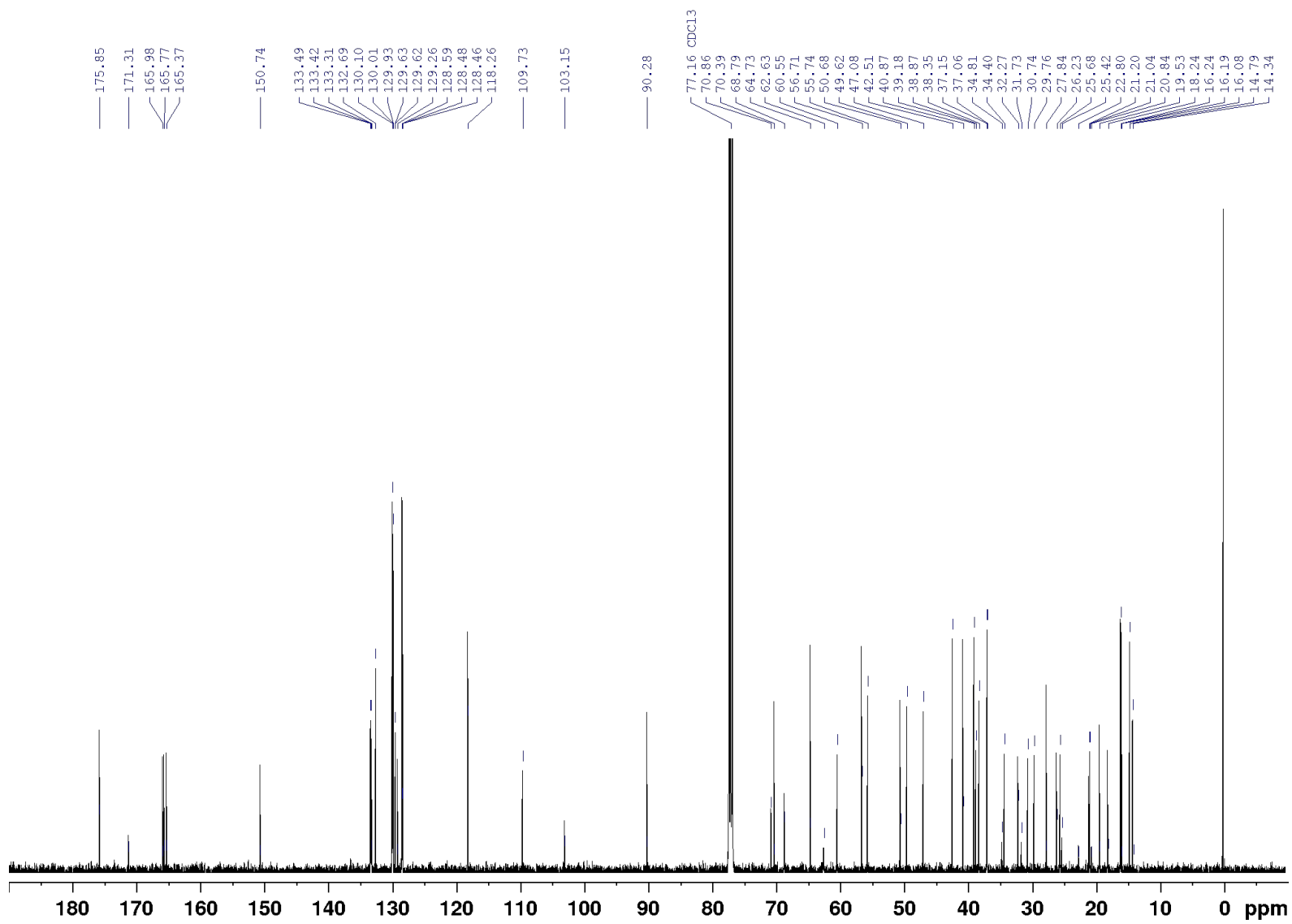


ANNEXE 20 : RMN ¹H 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-fucopyranosyl)-28-allyl ursolate (22a)

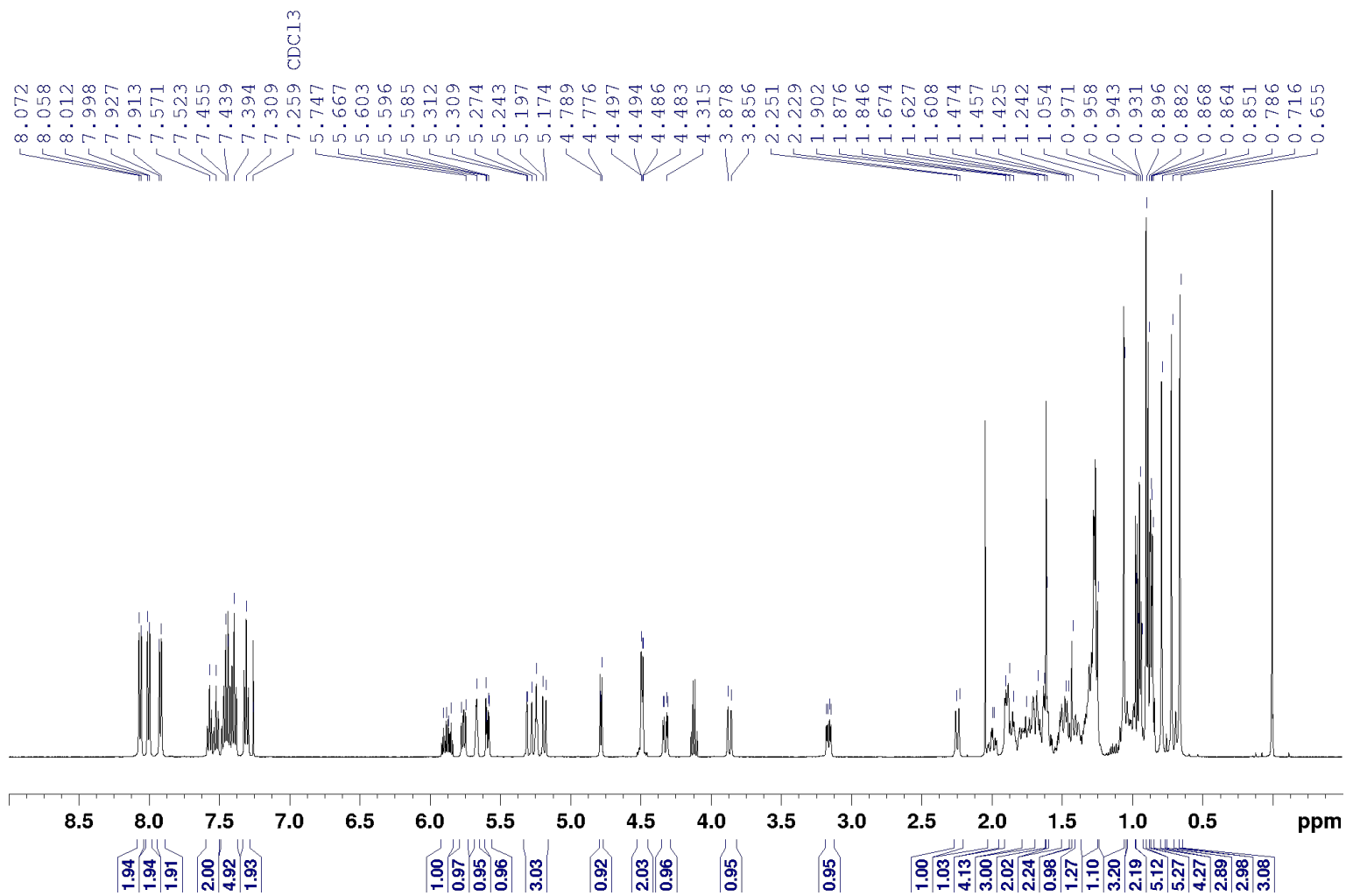


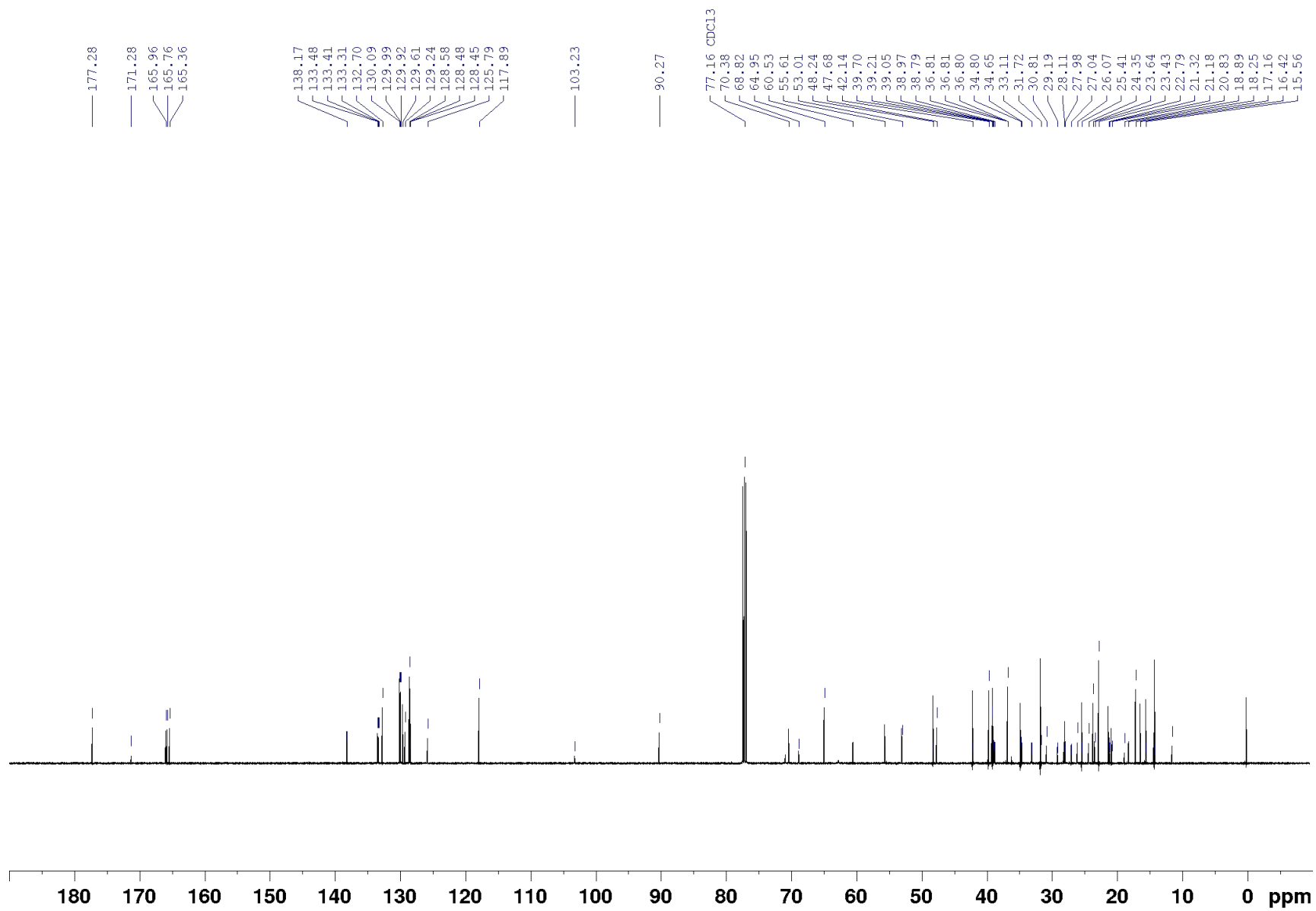
ANNEXE 21 : RMN ¹H et ¹³C 3-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- α -L-arabinopyranosyl)-28-allyl betulinate (23a)



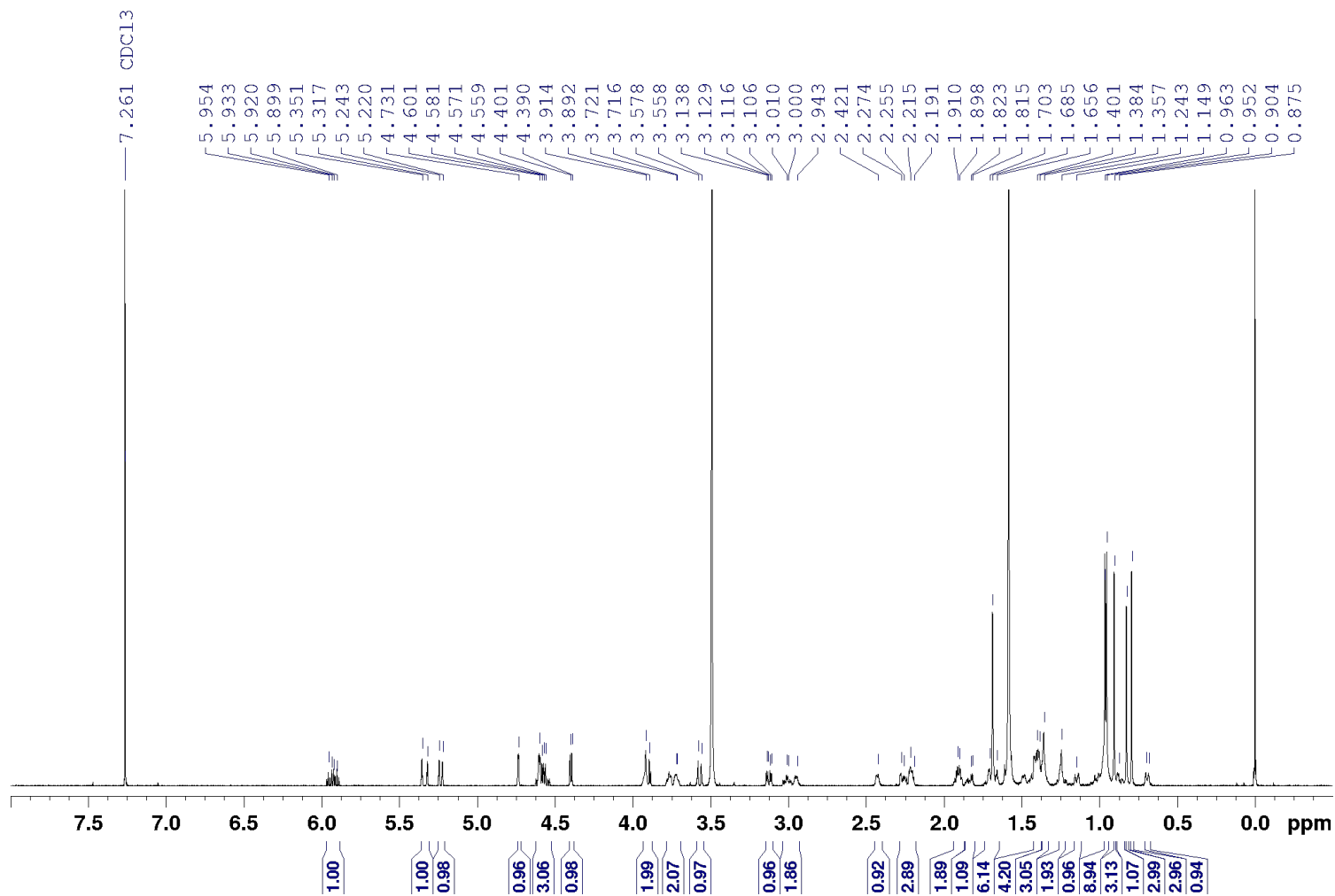


ANNEXE 22 : RMN ^1H et ^{13}C 3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- α -L-arabinopyranosyl)-28-allyl ursolate (**24a**)

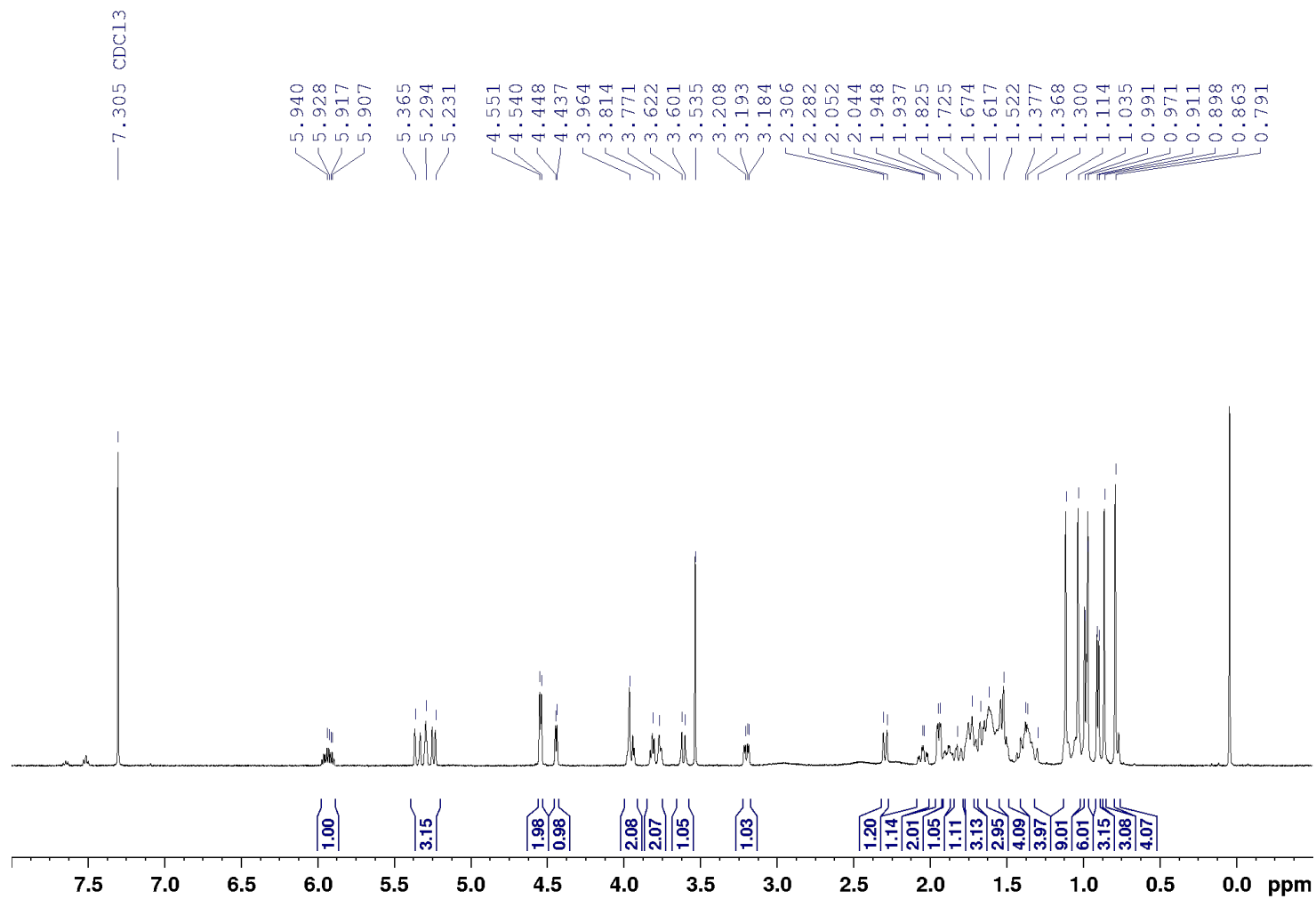




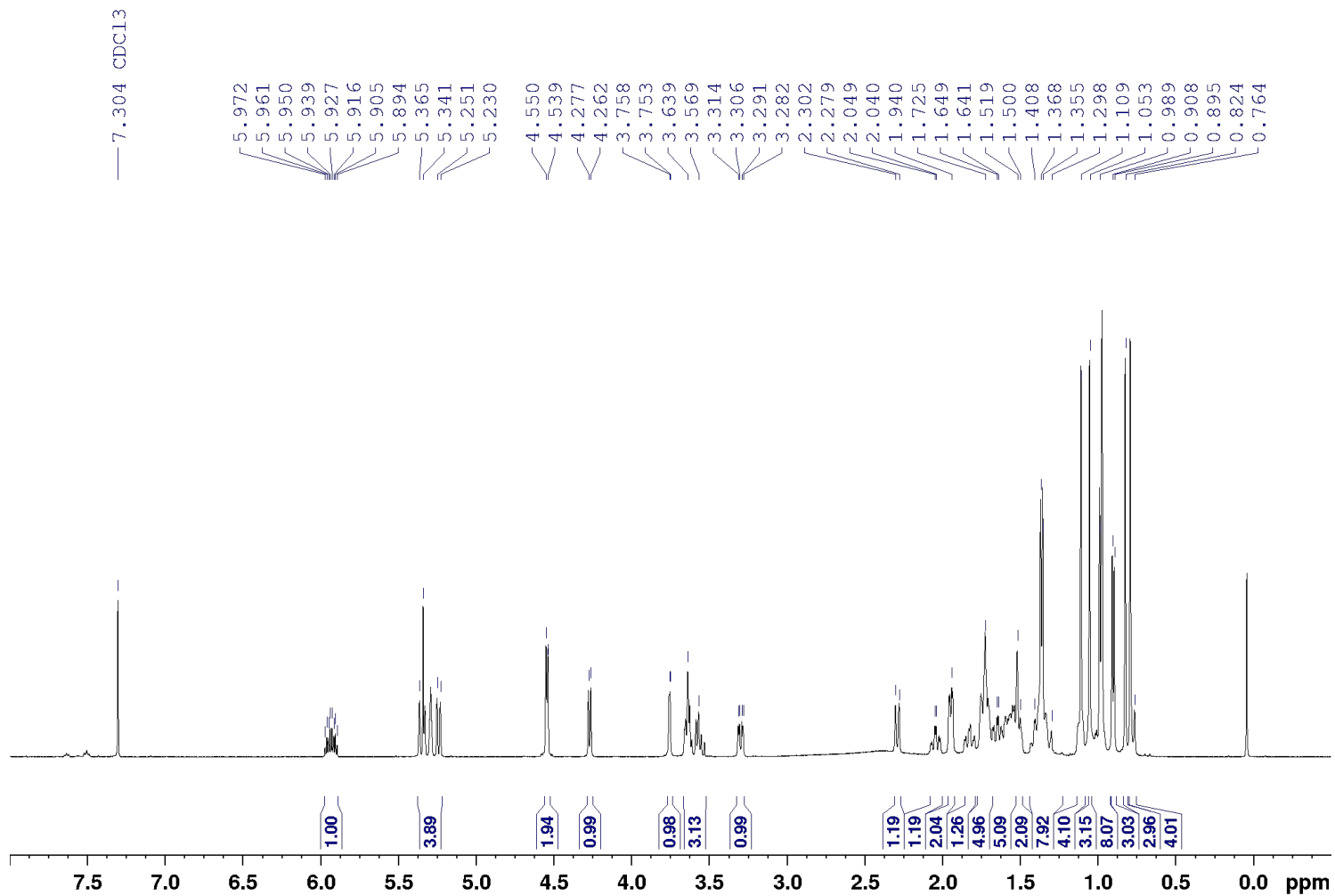
ANNEXE 23 : RMN ¹H 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-28-allyl betulinate (**19b**)

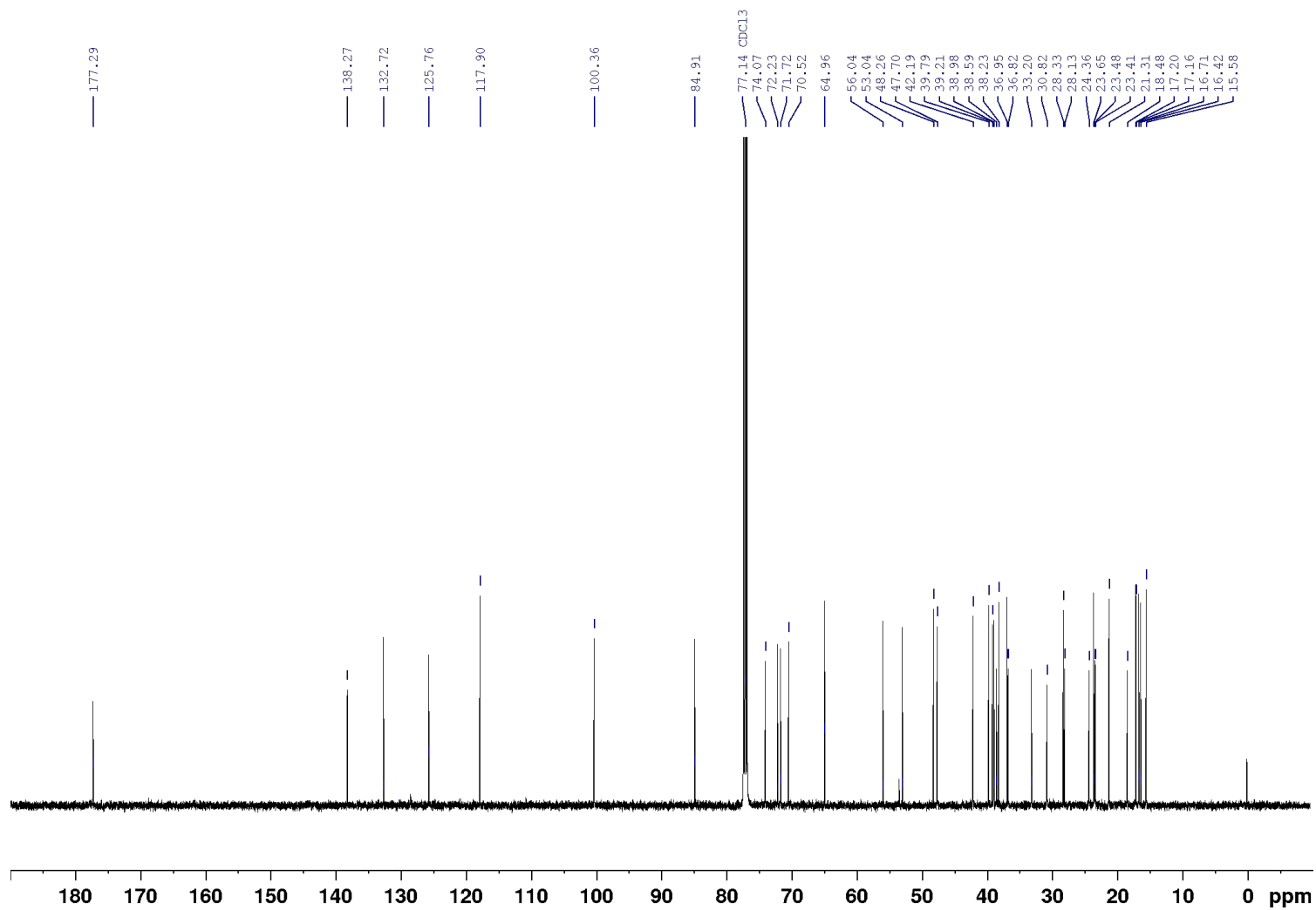


ANNEXE 24 : RMN ¹H 3-O- α -L-fucopyranosyl-28-allyl betulinate (**21b**)

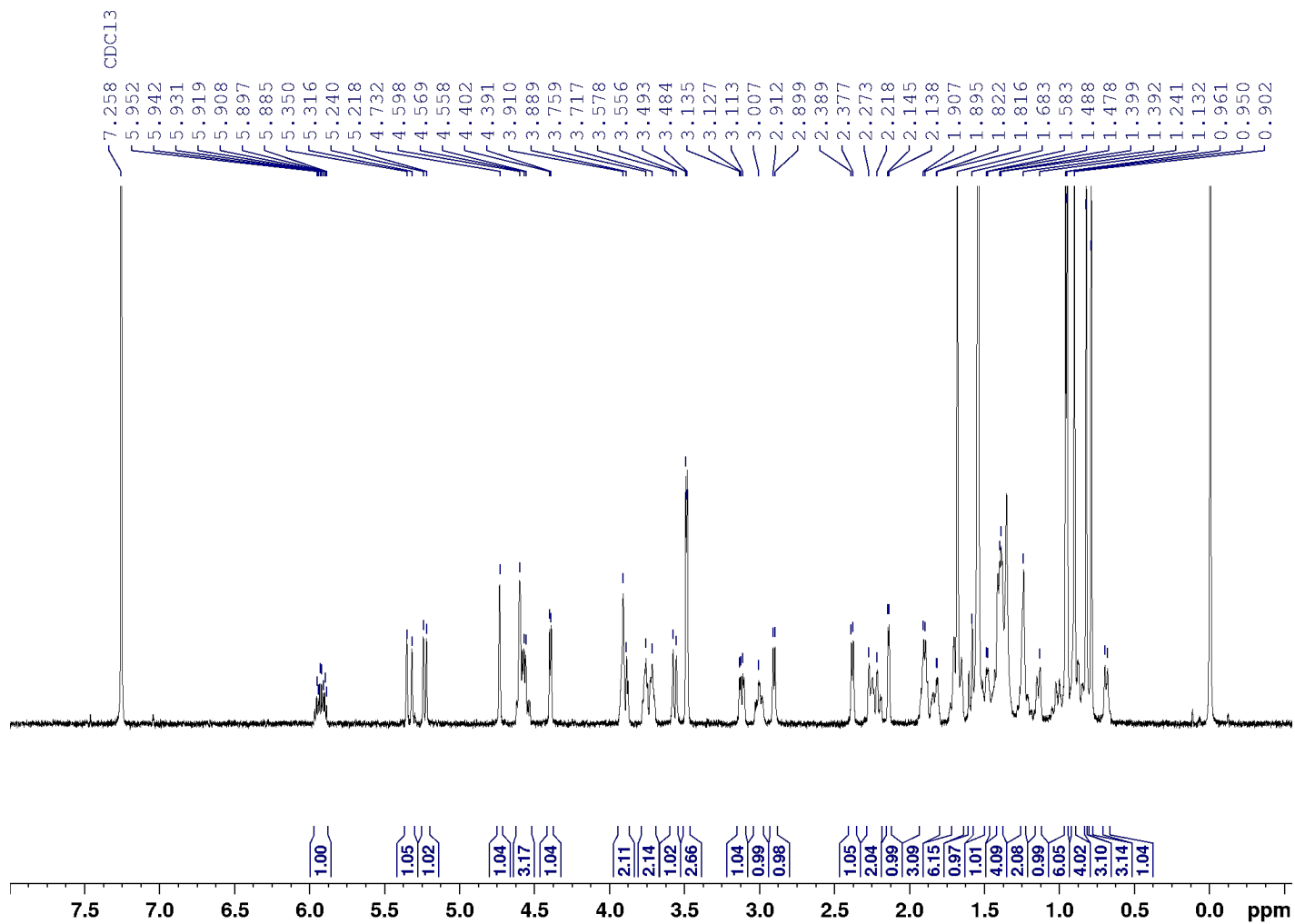


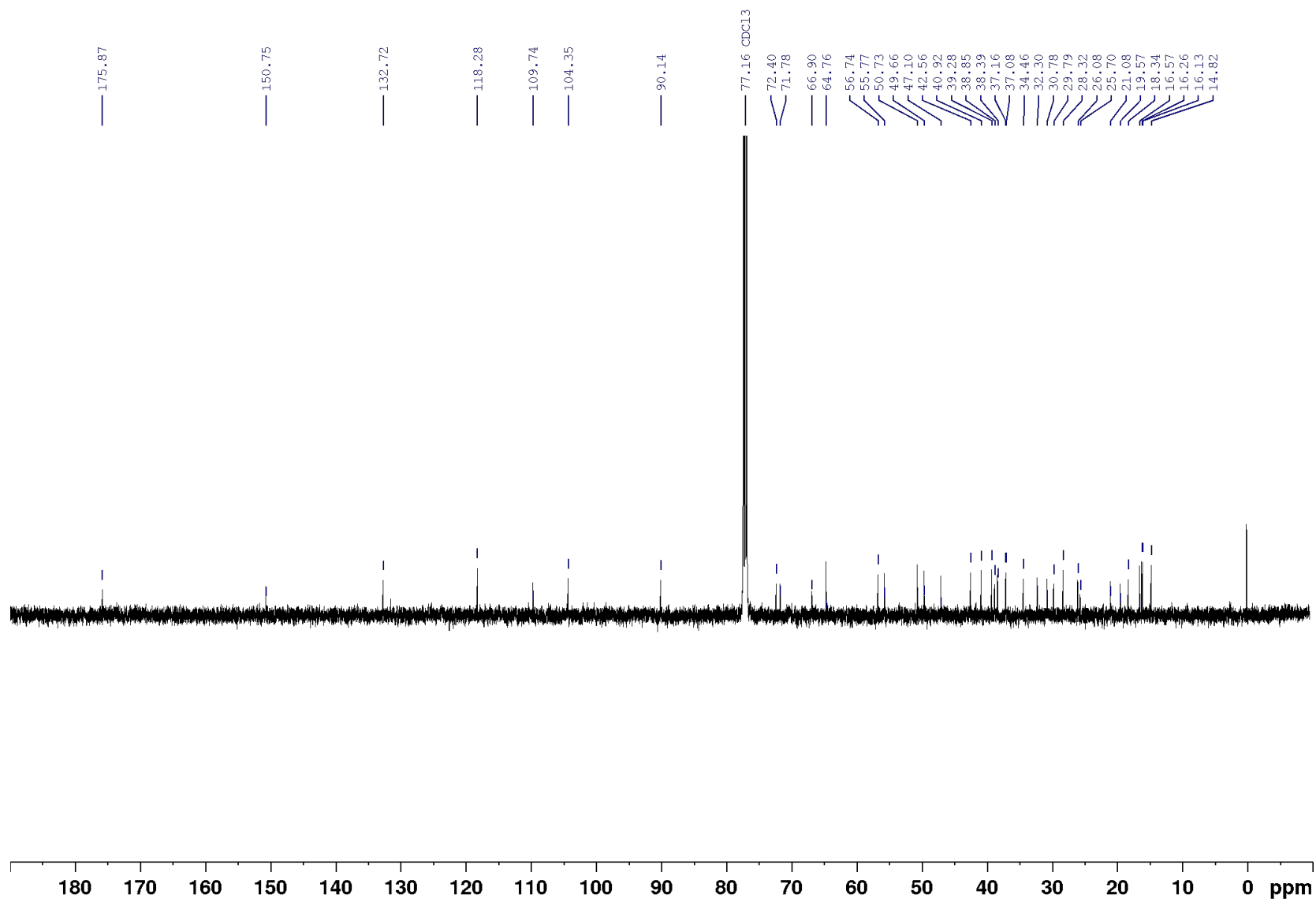
ANNEXE 25 : RMN ¹H et ¹³C 3-O- α -L-fucopyranosyl-28-allyl ursolate (22b)



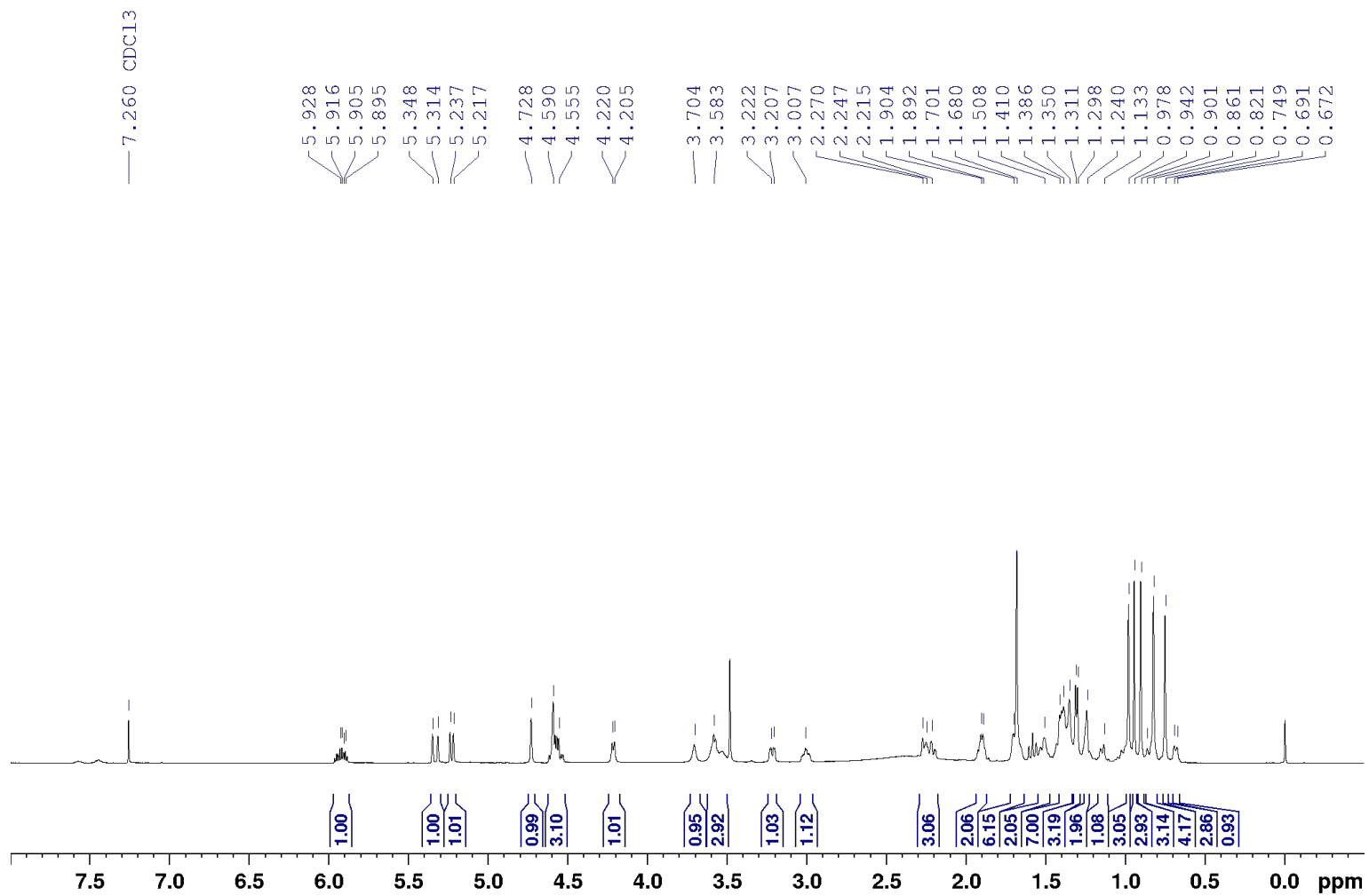


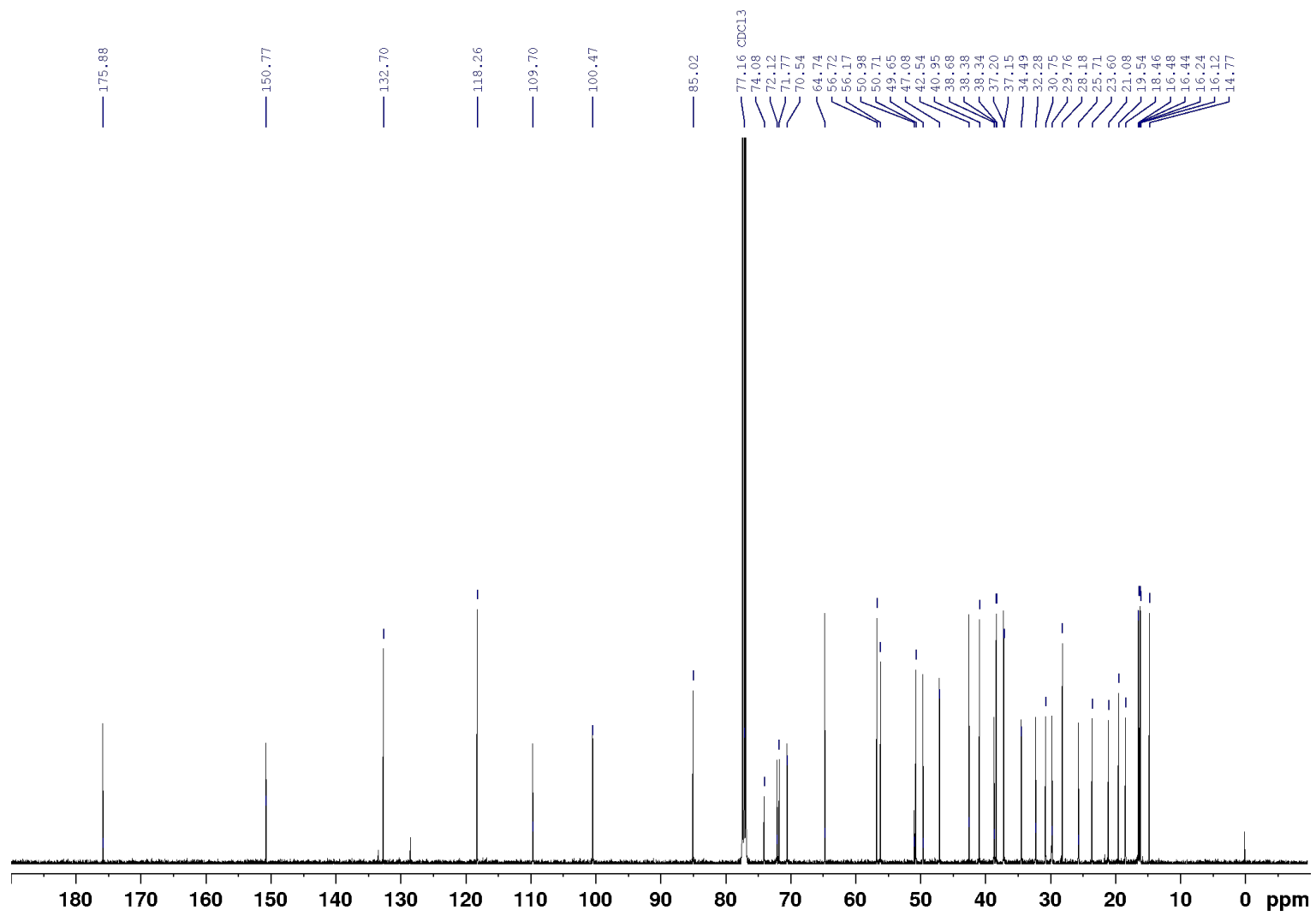
ANNEXE 26 : RMN ¹H et ¹³C 3-O- α -L-arabinopyranosyl-28-allyl betulinate (**23b**)



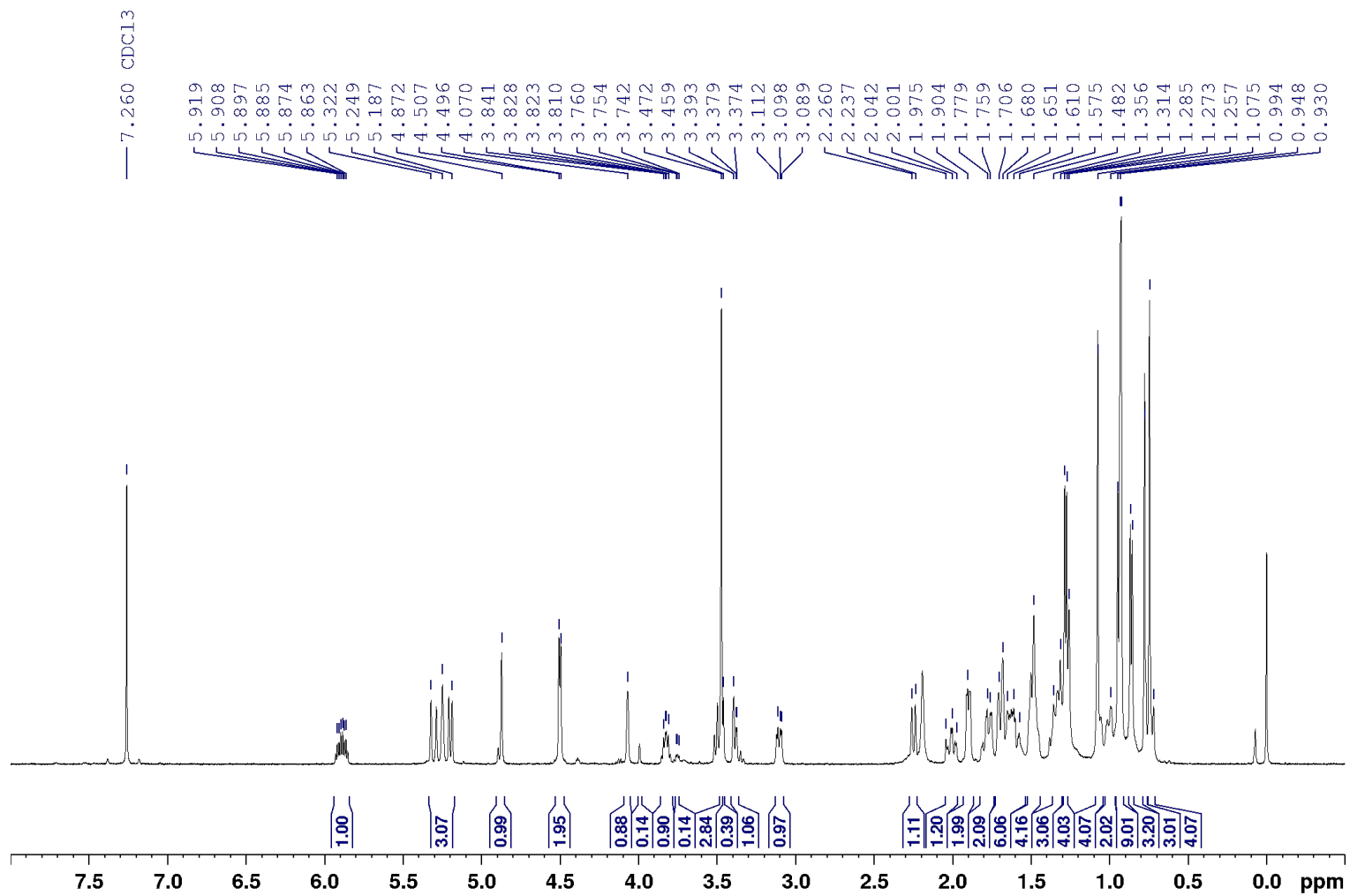


ANNEXE 27 : RMN ^1H et ^{13}C 3-O- α -L-arabinopyranosyl-28-allyl ursolate (**24b**)

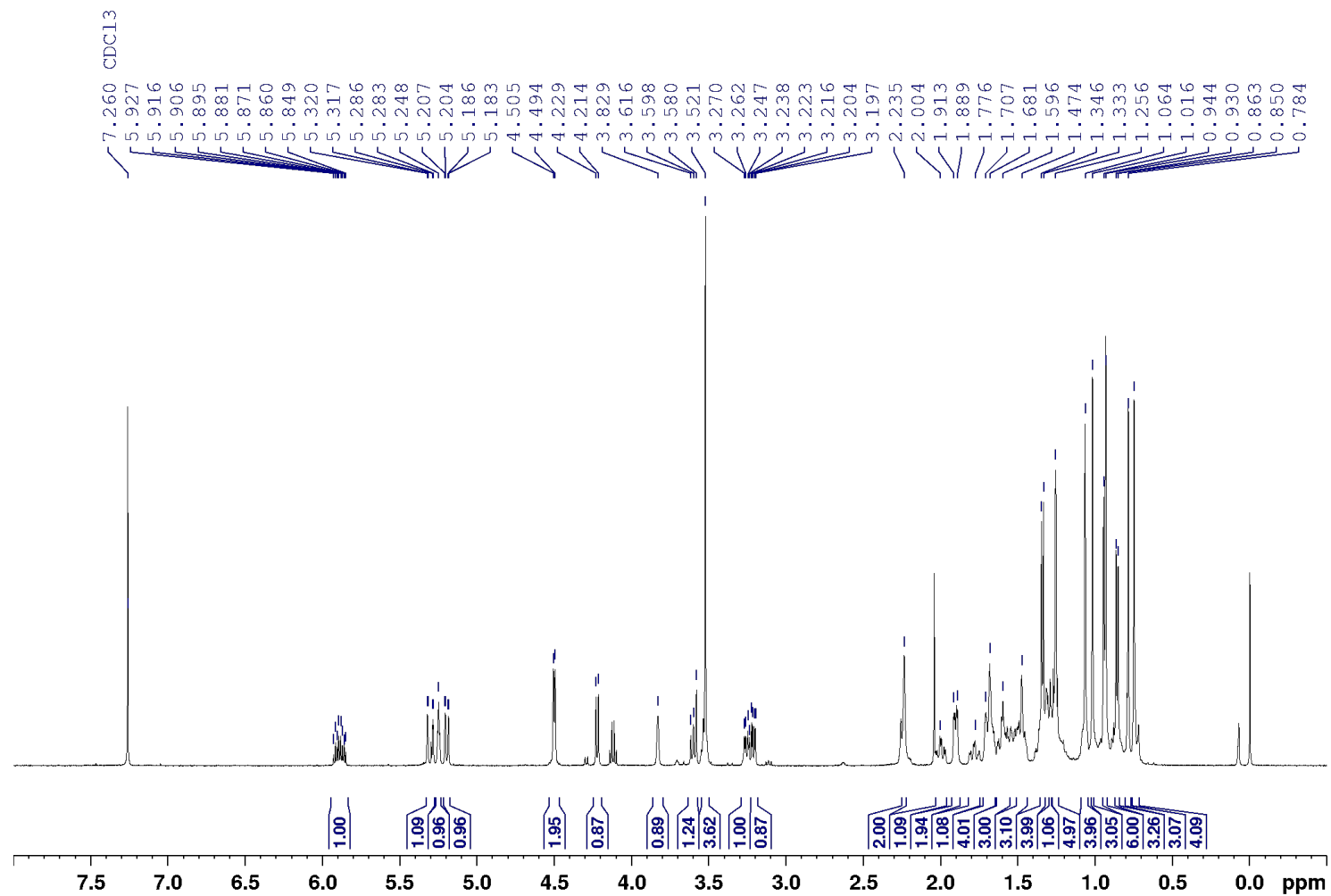


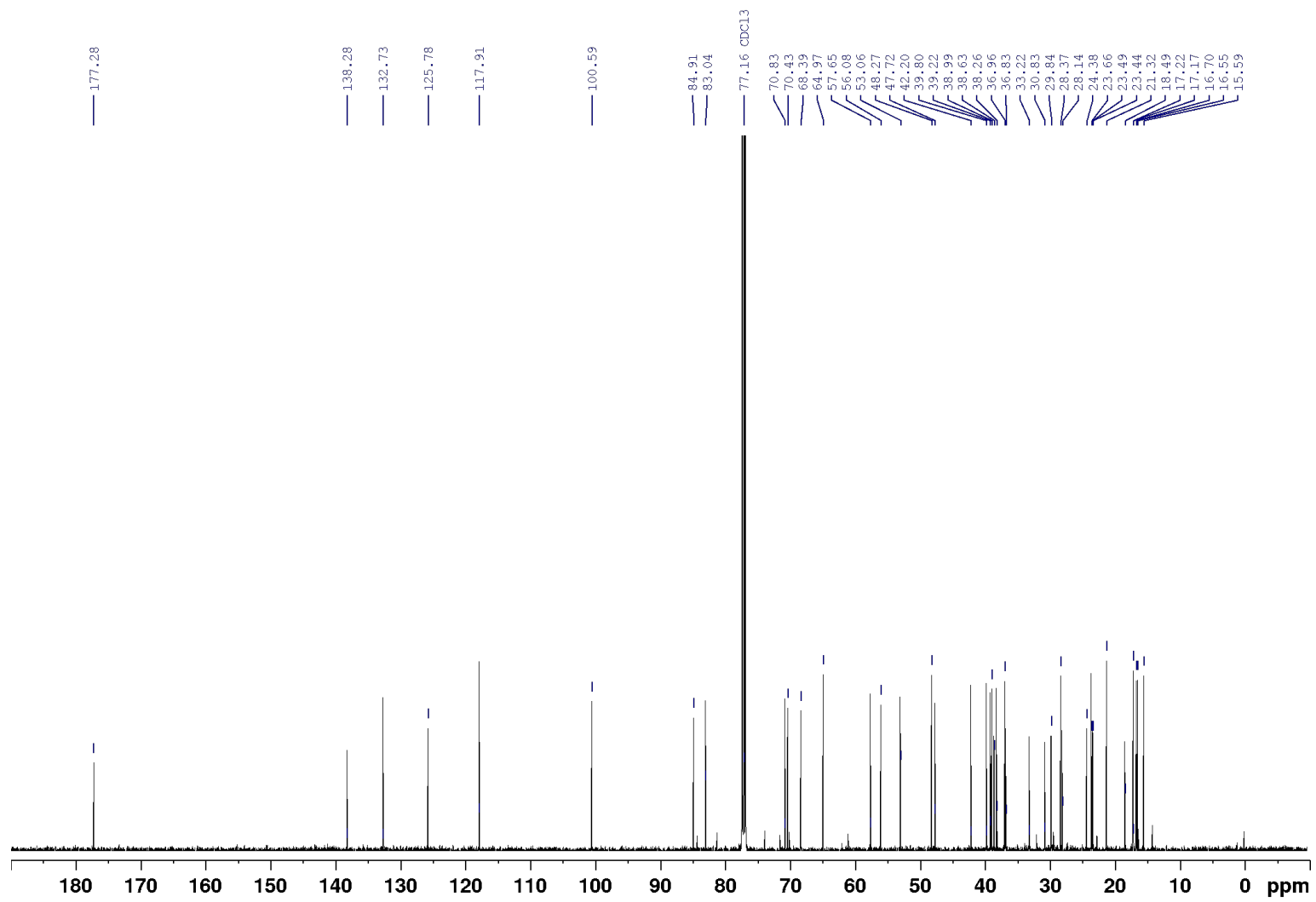


ANNEXE 28 : RMN ¹H 3-O-3-methoxy- α -L-rhamnopyranosyl-28-allyl ursolate (20d)

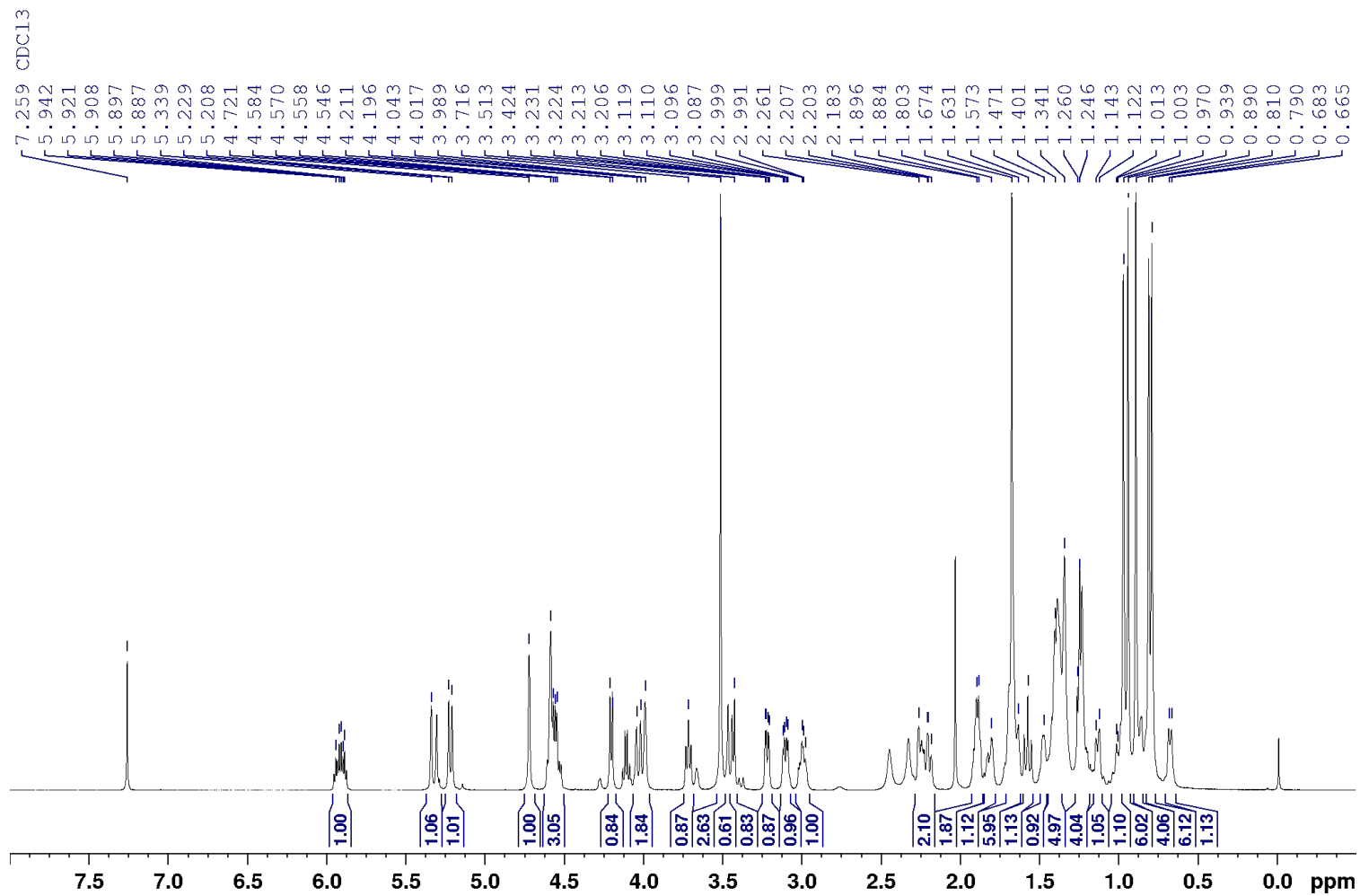


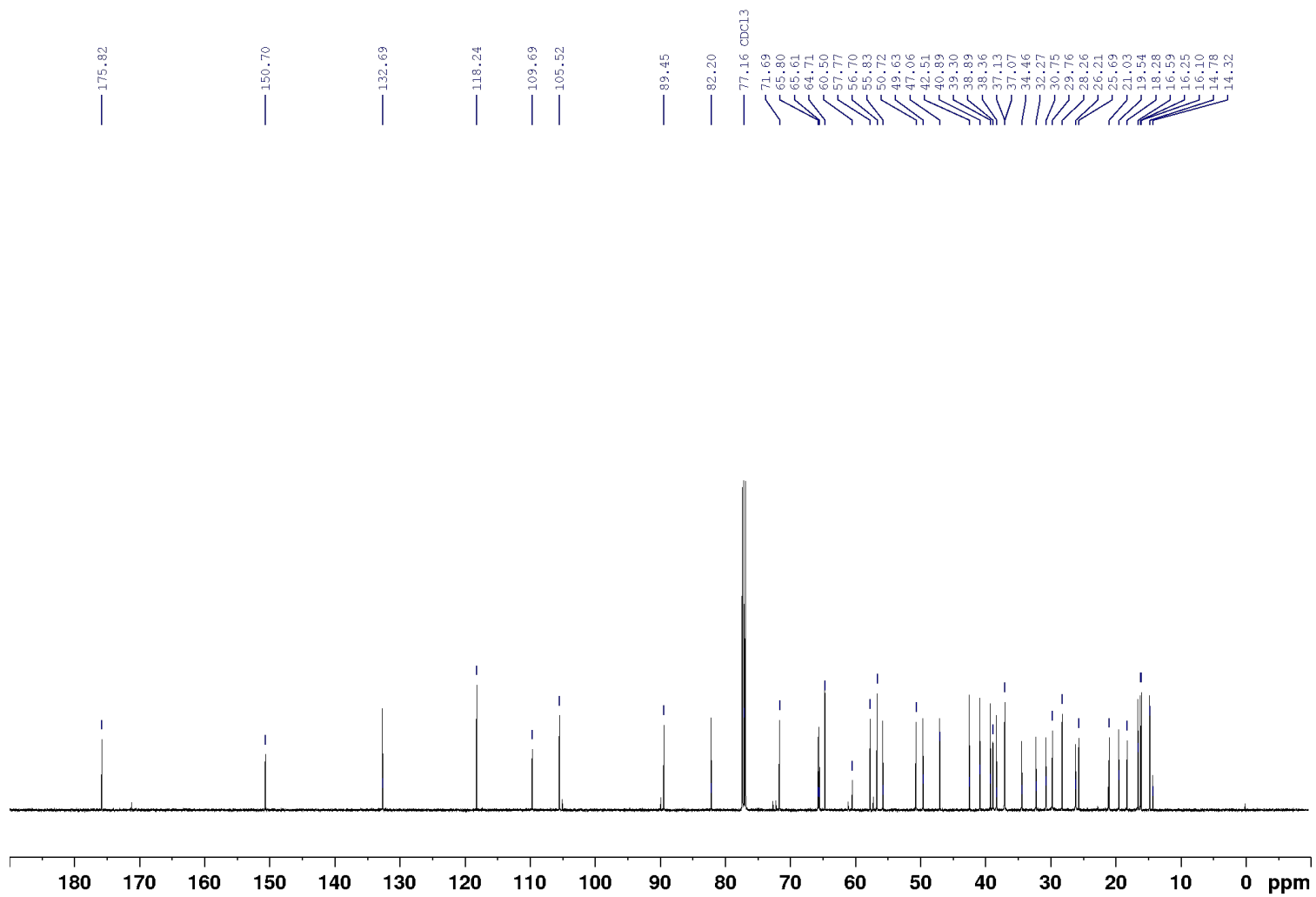
ANNEXE 29 : RMN ¹H et ¹³C 3-O-3-methoxy- α -L-fucopyranosyl-28-allyl ursolate (22d)



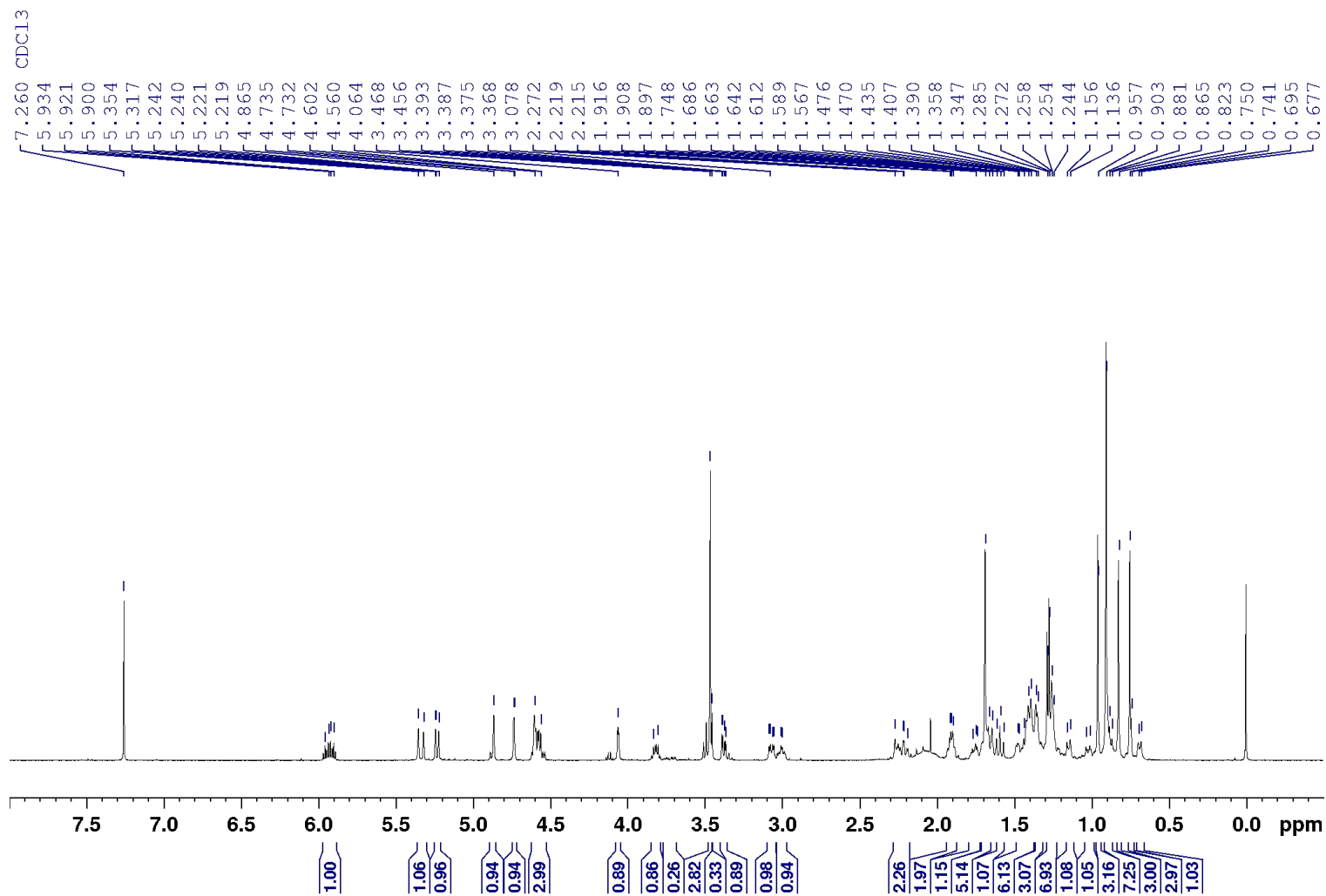


ANNEXE 30 : RMN ¹H et ¹³C 3-O-3-methoxy- α -L-arabinopyranosyl-28-allyl betulinate (23d)

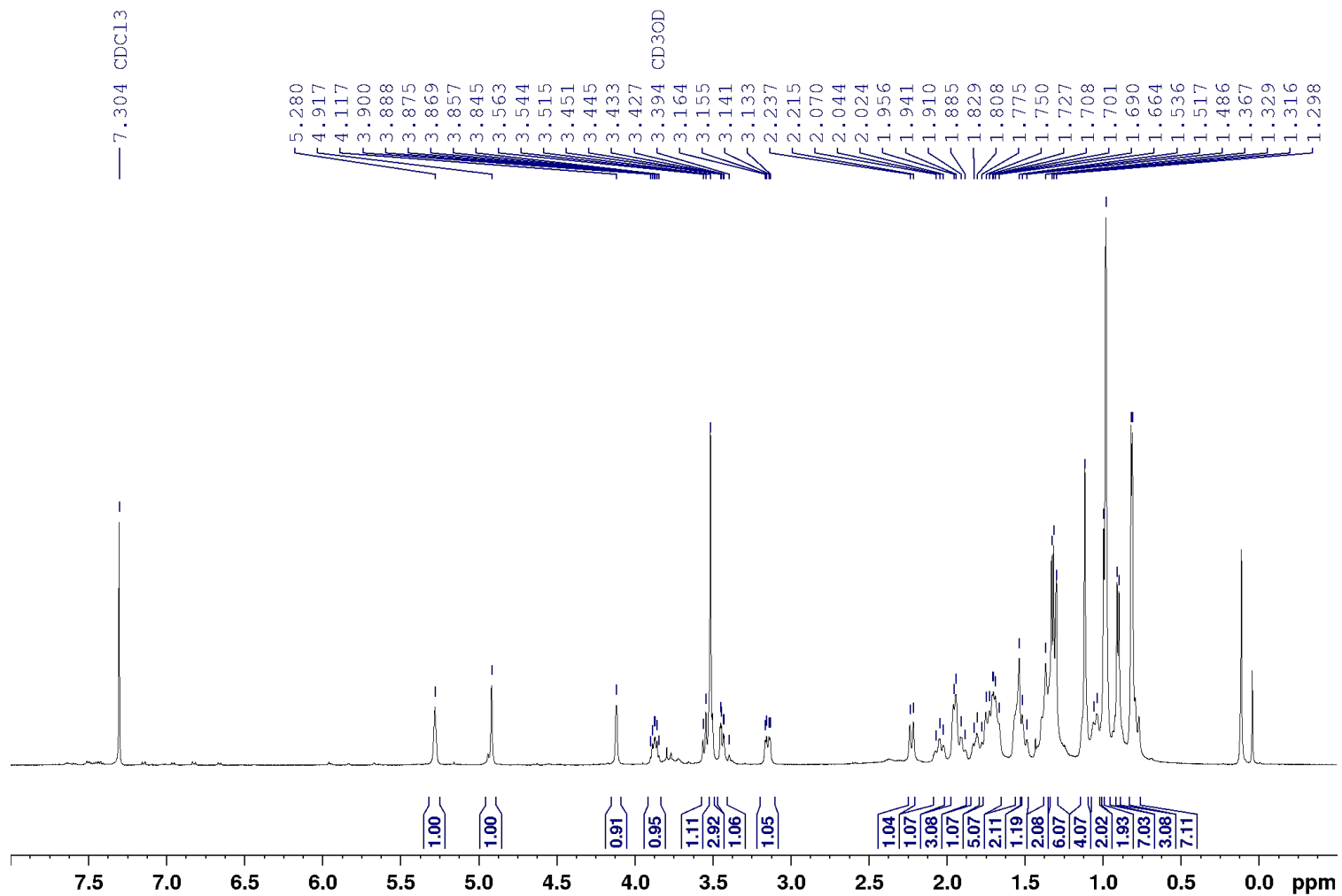


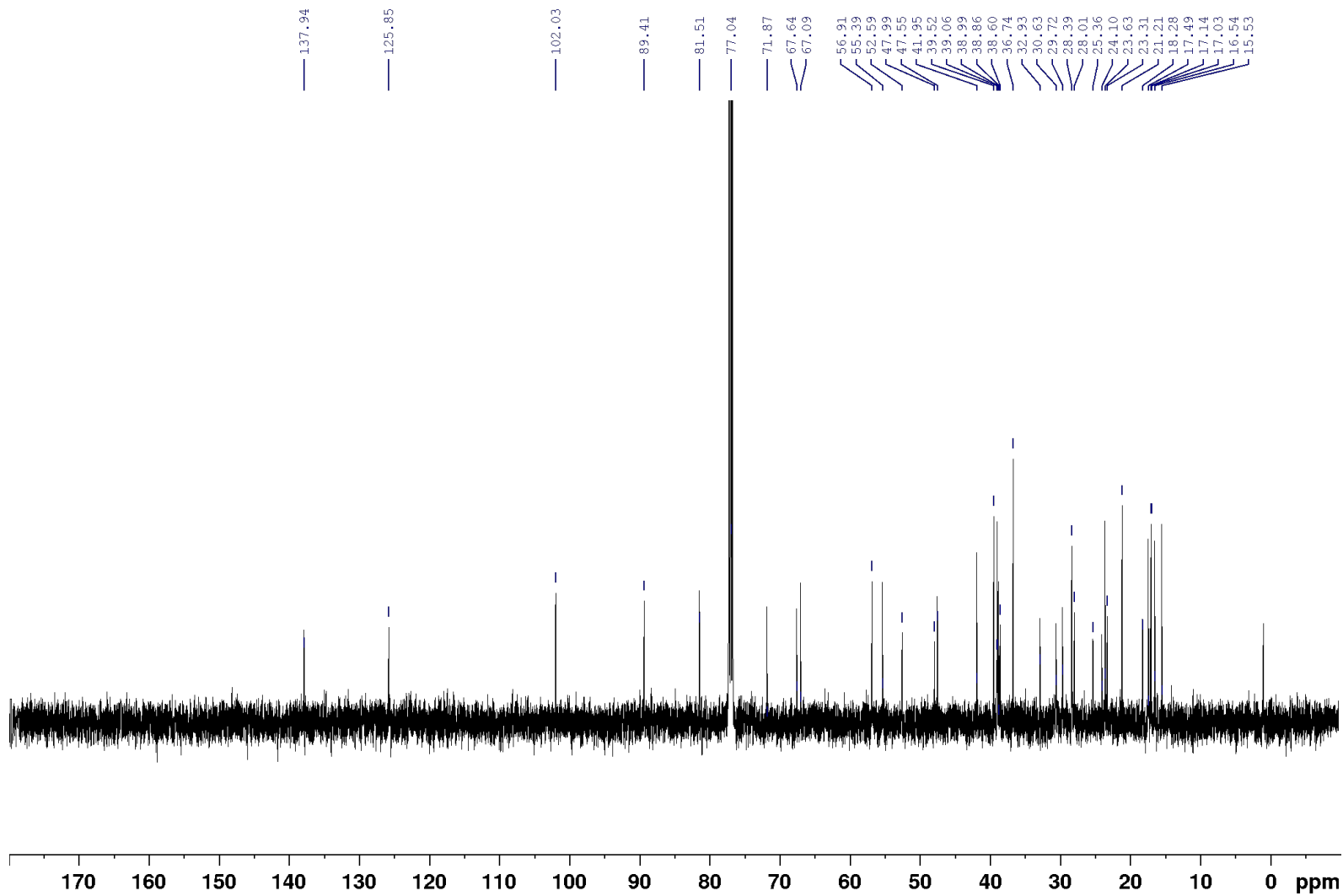


ANNEXE 31 : RMN ¹H 3-O-3-methoxy- α -L-rhamnopyranosyl-28-allyl betulinate (**19d**)

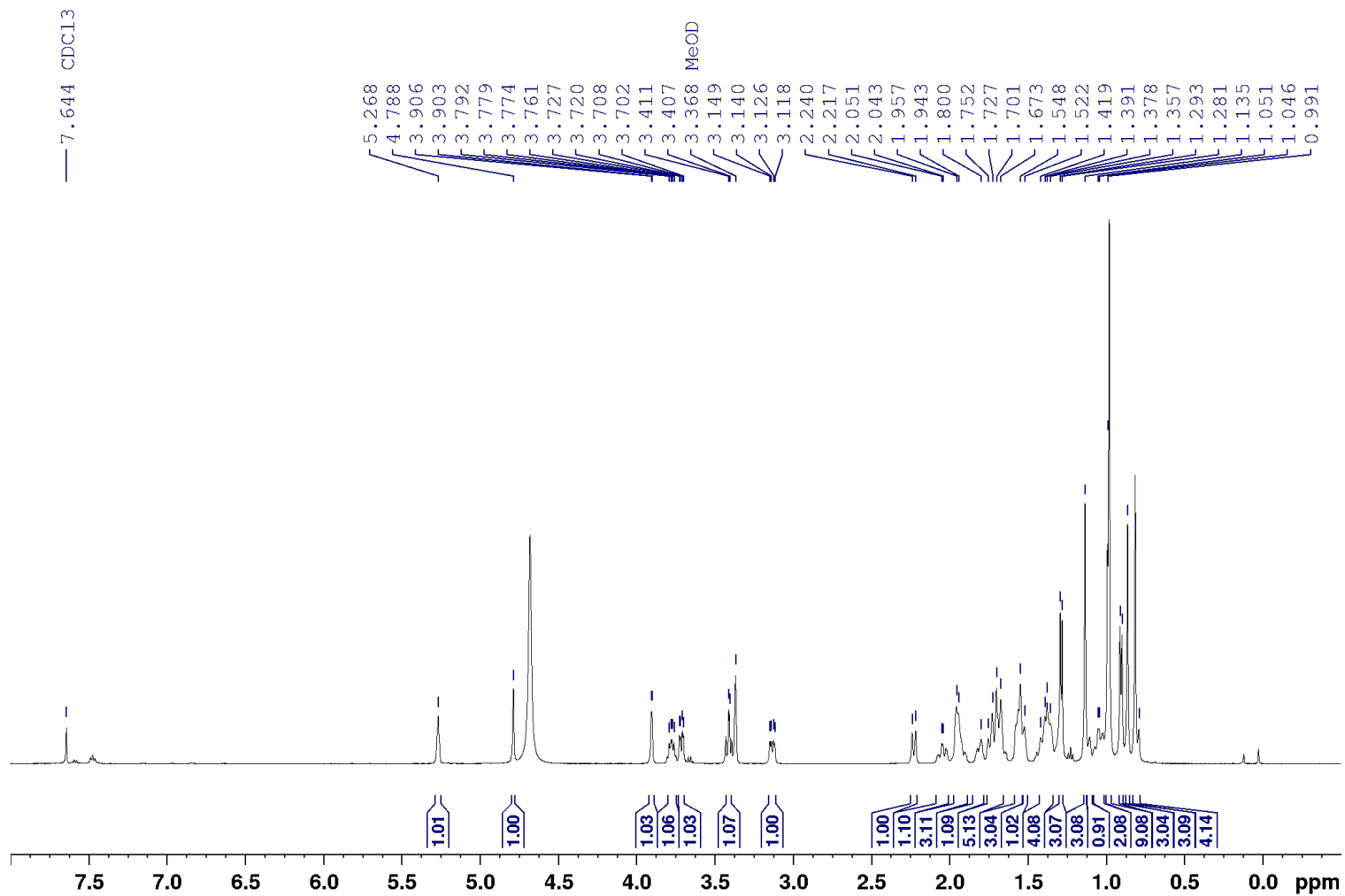


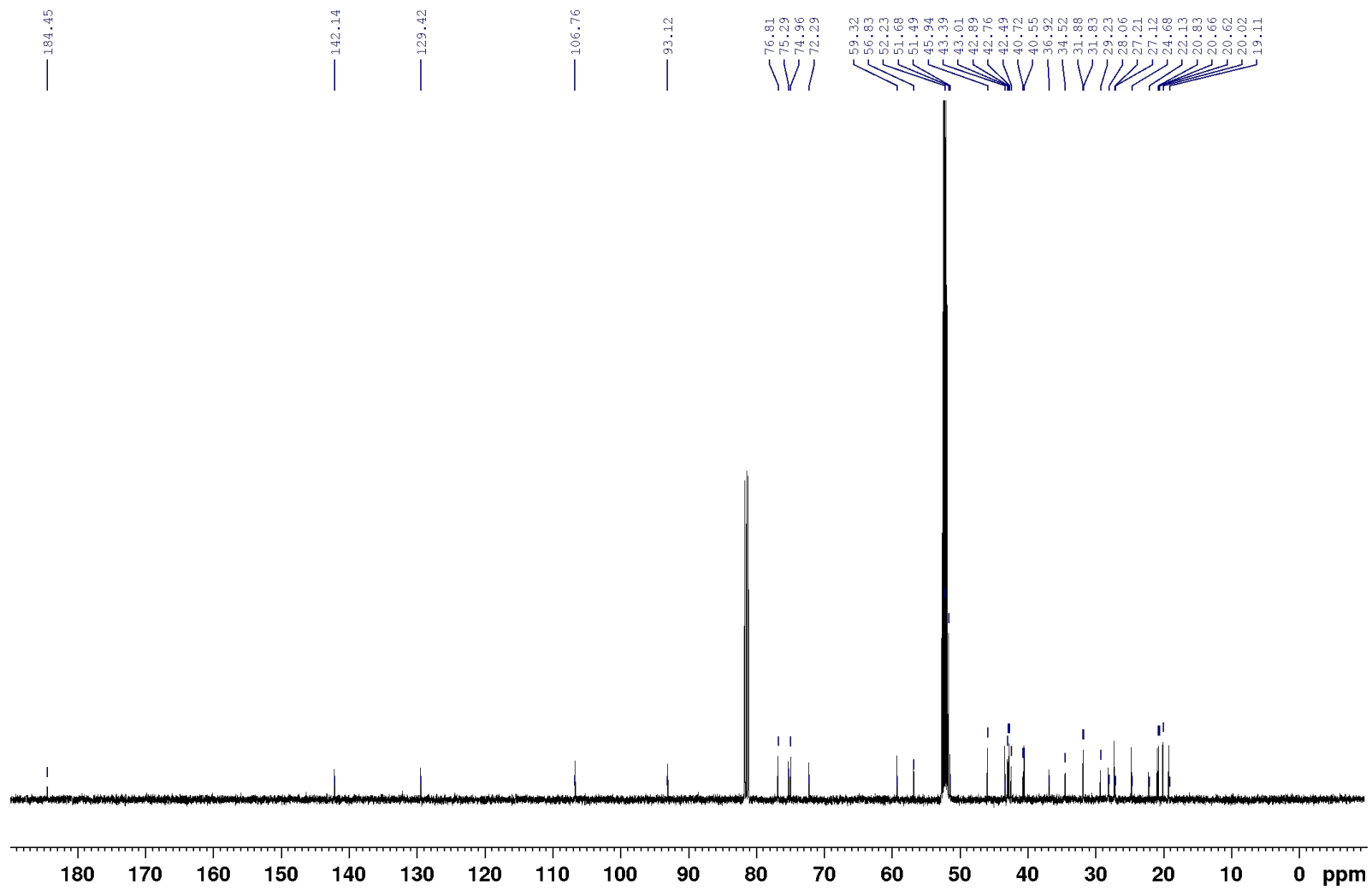
ANNEXE 32 : RMN ^1H et ^{13}C 3-O-3-methoxy- α -L-rhamnopyranosyl ursolic acid (20e)



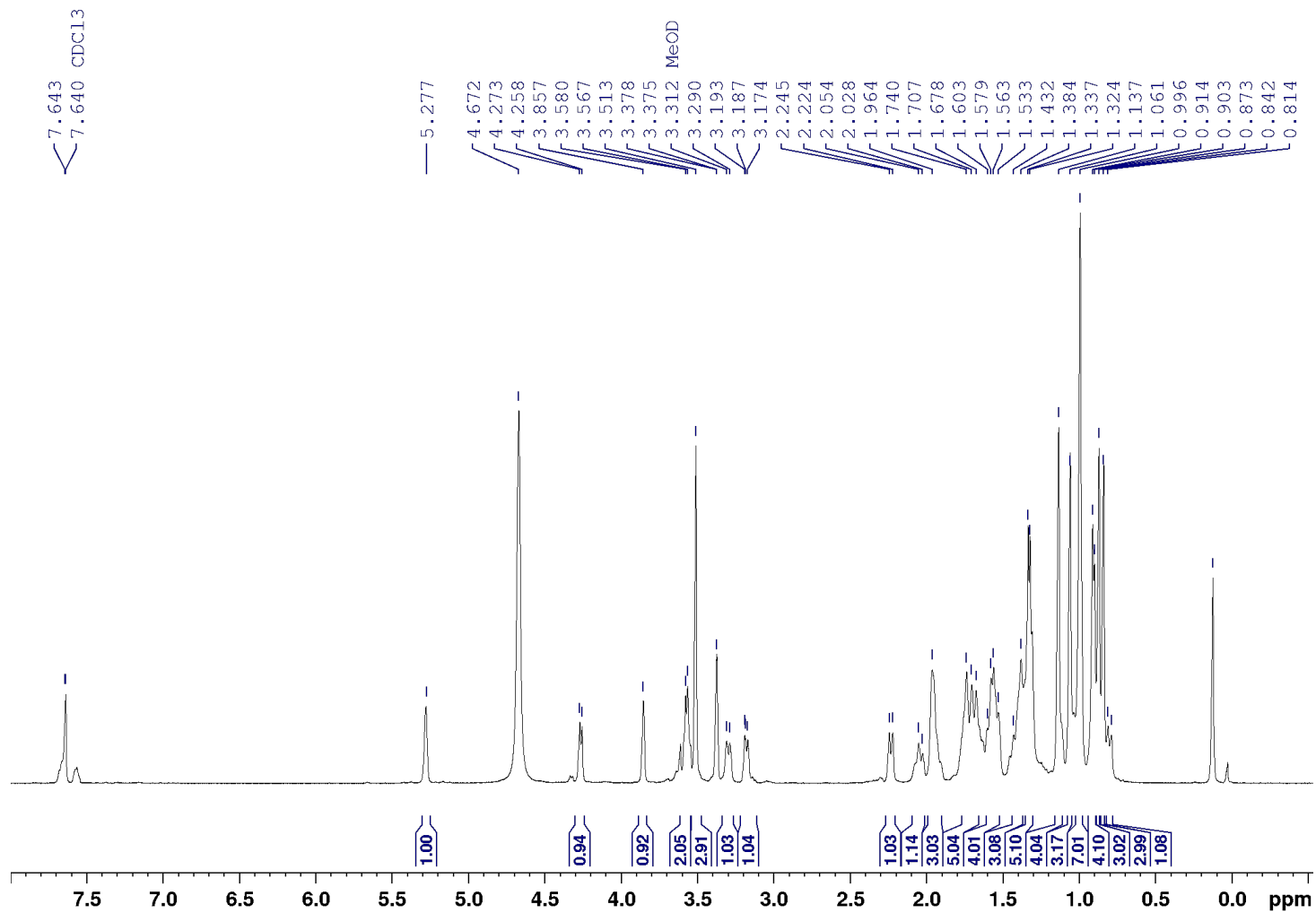


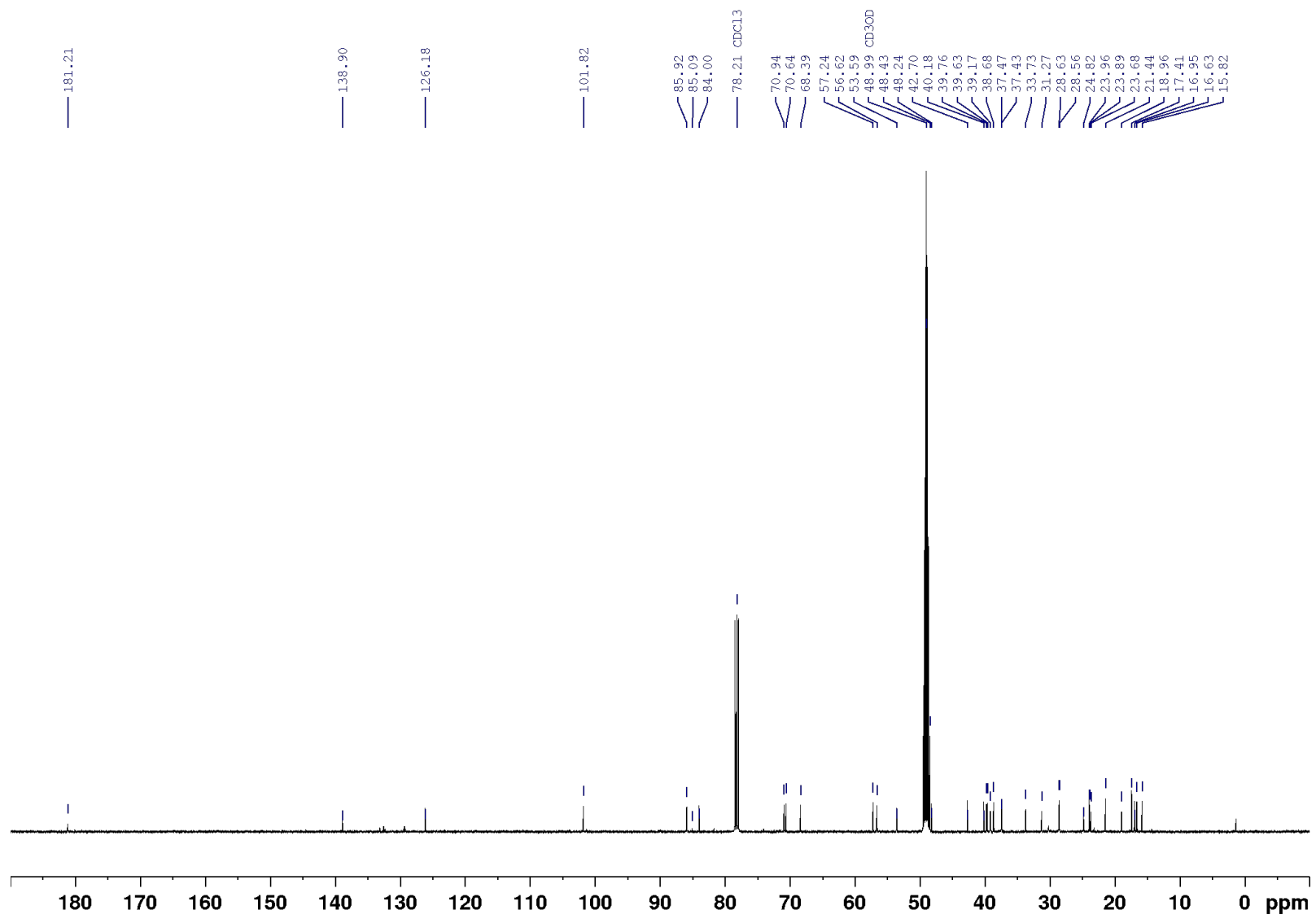
ANNEXE 33 : RMN ¹H et ¹³C 3-O- α -L-rhamnopyranosyl ursolic acid (20c)





ANNEXE 34 : RMN ¹H et ¹³C 3-O-3-methoxy- α -L-fucopyranosyl ursolic acid (22e)





ANNEXE 35 : RMN ¹H et ¹³C 3-O- α -L-fucopyranosyl ursolic acid (**22c**)

