

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI
DÉPARTEMENT DES SCIENCES FONDAMENTALES

MÉMOIRE PRÉSENTÉ COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN RESSOURCES RENOUVELABLES

**SYNTHÈSE D'ANTICANCÉREUX, DÉRIVÉS D'ACIDE
BÉTULINIQUE, TIRANT PROFIT DES PROPRIÉTÉS DE CIBLAGE
DU FRAGMENT CARBAMOYLMANNOSE DES BLÉOMYCINES**

PAR

LAURA VIALA

Bachelière ès Sciences (Chimie)

Été 2021

RÉSUMÉ

Le cancer est la première cause de mortalité dans le monde, il présente une incidence très élevée qui ne cesse d'augmenter à chaque année. Les différents traitements utilisés à l'heure actuelle pour le cancer manquent de sélectivité pour cibler les cellules cancéreuses. Par conséquent, ces traitements s'accompagnent de lourdes conséquences, engendrant la destruction de cellules saines, manifestées par l'apparition de nombreux effets secondaires. C'est pourquoi des travaux de recherches ont été entrepris afin de proposer de nouvelles solutions innovantes. Parmi celles-ci, l'utilisation d'un fragment carbamoylmannose semblerait avoir un avenir prometteur en tant que traitement de chimiothérapie ciblée. L'équipe de Hecht a développé un groupement disaccharide provenant des bléomycines, famille de composés reconnue pour ses propriétés de ciblage spécifique envers les cellules cancéreuses de différentes lignées cellulaires. Un an plus tard, cette même équipe affine ses résultats en attribuant la sélectivité de différentes lignées cellulaires cancéreuses au fragment monosaccharidique carbamoylé des bléomycines. Basé sur ces résultats, mon projet de recherche a été de développer ce type de composés constitués d'un fragment carbamoylmannose. C'est dans cette perspective que se sont inscrits les deux objectifs de mon projet de maîtrise. Le premier objectif a été de synthétiser des donneurs de glycosides avec et sans le fragment carbamoylmannose en position 3 selon deux voies de synthèses différentes. L'une d'elles est bien connue de la littérature et l'autre encore inconnue du domaine scientifique. Le deuxième objectif a été de greffer un agent cytotoxique sur nos donneurs glycosidiques afin d'accroître le potentiel biologique de nos conjugués originaux. Les composés attendus devraient cibler sélectivement les cellules cancéreuses sans affecter les tissus sains en combinant la sélectivité du fragment carbamoylmannose aux propriétés cytotoxiques de l'acide bétulinique.

Le premier objectif a été atteint avec succès permettant un gain de temps pour la voie de synthèse non décrite dans la revue de littérature scientifique. Quant au deuxième objectif, il n'a pu être atteint que partiellement. Effectivement, diverses complications au niveau des étapes de déprotections ont entravé la finalité de ce projet de recherche.

Ainsi, une nouvelle voie de synthèse a permis d'accélérer la synthèse de donneur de glycosides carbamoylés. En revanche, l'optimisation des étapes finales pour l'obtention de ces conjugués originaux reste à finaliser afin d'évaluer leurs potentiels biologiques. Ces conjugués pourraient représenter un avancement considérable pour le traitement du cancer.

TABLES DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	II
TABLES DES MATIÈRES	IV
LISTE DES TABLEAUX.....	VI
LISTE DES FIGURES.....	VII
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	IX
REMERCIEMENTS	XII
INTRODUCTION	1
Chapitre 1 : ÉTAT DES CONNAISSANCES ET OBJECTIFS	8
1.1. Revue de littérature	8
1.1.1. Cancer et limites de la chimiothérapie	8
1.1.2. Les triterpènes	13
1.1.2.1. Triterpènes de type lupane	13
1.1.3. Saponines triterpéniques	18
1.1.4. Intérêt de préparer des glycosides triterpéniques	21
1.1.5. Les bléomycines.....	22
1.1.5.1. Activités des bléomycines.....	23
1.1.5.2. Toxicité des bléomycines.....	24
1.1.5.3. Fragment carbamoylmannose	25
1.2. Objectifs	29
1.3. Approche de synthèse de saponines triterpéniques	30
Chapitre 2 : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS.....	32
2.1. Synthèse des donneurs de glycosides.....	32
2.1.1. Synthèse du donneur 3-carbamoylmannoside selon la voie classique	32
2.1.2. Synthèse du donneur 3-carbamoylmannoside selon la nouvelle stratégie de synthèse mise au point au sein du laboratoire.....	40
2.1.3. Synthèse du donneur de <i>D</i> -mannose	46
2.2. Synthèse des glycosides d'acide bétulinique	47
2.2.1. Préparation du composé carbamoylé en position 3 selon la voie de synthèse classique	47
2.2.2. Préparation du composé carbamoylé en position 3 selon la nouvelle stratégie de synthèse mise au point au laboratoire	54
Chapitre 3 : PARTIE EXPÉRIMENTALE	60
3.1. Méthode générale	60
3.2. Synthèse des composés	61
CONCLUSION.....	87
REFERENCES.....	87

ANNEXE	87
--------------	----

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Statistiques du nombre de cas et de décès selon le sexe en 2019.....	8
Tableau 2 : Proportions des cancers liés aux facteurs de risques.....	9
Tableau 3 : Activité cytotoxique et indice de sélectivité de l'acide bétulinique sur différentes lignées cellulaires cancéreuses.....	17
Tableau 4 : Saponines triterpéniques d'acide bétulinique d'origine naturelle	19
Tableau 5 : Résultats des tests de cytotoxicité sur différentes lignées cellulaires du rhamnose d'acide bétulinique par rapport à l'acide bétulinique.....	22
Tableau 6 : Quantification de la liaison/absorption de Cy5, BLM-Cy5 15 , déglyco BLM-Cy5 16 et BLM-disaccharide-Cy5 17 dans les cellules saines Pz-HPV-7 et cellules cancéreuses DU-145 de la prostate	26
Tableau 7 : Quantification liaison/absorption de BLM-disaccharide-Cy5 17 et de BLM-monosaccharide-Cy5 19 sur les lignées cellulaires cancéreuses du poumon, rein et pancréas....	28
Tableau 8 : Optimisation des conditions de réaction de la condensation de l'ammoniac.....	38
Tableau 9 : Listes des signaux m/z du profil HPLC du composé 24	52

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Composés actifs issus de la famille des taxanes.	4
Figure 2 : Triterpènes pentacycliques de types lupanes.	5
Figure 3 : Structure de la bléomycine A ₅ contenant la section disaccharidique d'un fragment carbamoylmannose.....	6
Figure 4 : Schéma du cycle cellulaire d'une cellule normale.	10
Figure 5 : Mécanismes d'action de différents types d'agents anticancéreux utilisés en chimiothérapie.....	12
Figure 6 : Voie biosynthétique d'une sélection de triterpènes.....	14
Figure 7 : Structure de saponines à spirostanol 8 et à furostanol 9	19
Figure 8 : Saponines triterpéniques d'origine naturelle d'acide bétulinique 10 et 11	21
Figure 9 : Structure du rhamnoside d'acide bétulinique 12	22
Figure 10 : Structure des bléomycines A ₅ 6 , A ₂ 13 et B ₂ 14	23
Figure 11 : Structure des conjugués BLM-Cy5 15 et déglycoBLM-Cy5 16	26
Figure 12 : Structure des conjugués BLM-disaccharide-Cy5 17 et décarbamoyl BLM-disaccharide-Cy5 18	27
Figure 13 : Structure des conjugués BLM-monosaccharide-Cy5 19 et décarbamoyl BLM-monosaccharide-Cy5 20	28
Figure 14 : Donneurs de glycosides avec carbamate 21 , 22 et sans carbamate 23	29
Figure 15 : Structure des conjugués carbamoylé 24 et dénué de carbamate 25	30
Figure 16 : Schématisation de la réaction de glycosylation.	31
Figure 17 : Rétrosynthèse du donneur de glycoside 21 par la voie de synthèse initiale.	33
Figure 18 : Synthèse de l'acétal 26 et du diacétal 27	33
Figure 19 : Mécanisme d'acétalisation.	34
Figure 20 : Synthèse du composé 28 , protégé régiosélectivement en position 3.	35
Figure 21 : Synthèse des composés 28 et 29 , différenciés par leur groupement protecteur en position 3 ou en position 2.	35
Figure 22 : Synthèse du composé péracétylé 30	36
Figure 23 : Synthèse du composé 31 , hydrogéné en position 3.	36
Figure 24 : Synthèse du carbonate activé 32	37
Figure 25 : Synthèse du composé 33 comportant le motif carbamate en position 3 du sucre.....	37
Figure 26 : Synthèse du composé 34 , déprotégé en position anomérique.....	38
Figure 27 : Synthèse du donneur de glycoside 21	39
Figure 28 : Mécanisme réactionnel illustrant l'activation du sucre grâce au TCA.....	40
Figure 29 : Rétrosynthèse du donneur de glycoside 22	41
Figure 30 : Synthèse du réactif 35 pour la préparation du donneur de glycoside 22	42
Figure 31 : Synthèse du catalyseur 36 intervenant dans la synthèse du donneur de glycoside 21	42
Figure 32 : Synthèse du réactif de carbamoylation 37 intervenant dans la synthèse du donneur de glycoside 22	43
Figure 33 : synthèse du composé 38 carbamoylé en position 3.	43
Figure 34 : Visualisation de la réaction de carbamoylation.	44
Figure 35 : Synthèse du composé péracétylé 39	44
Figure 36 : Synthèse du composé 40 déprotégé en position anomérique.....	45
Figure 37 : Synthèse du donneur de glycoside 22	45
Figure 38 : Rétrosynthèse du donneur de glycoside 23 dépourvu du carbamate.	46
Figure 39 : Rétrosynthèse du composé 24	48
Figure 40 : Glycosylation du composé 44 carbamoylé en position 3.....	49
Figure 41 : Mécanisme de la glycosylation de Schmidt.....	50

Figure 42 : Synthèse du composé 45 après déprotection des acétates.	50
Figure 43 : Synthèse du composé final 24	51
Figure 44 : Profil HPLC-MS du composé final 24 carbamoylé en position 3.	53
Figure 45 : Synthèse du composé glycosylé 46	54
Figure 46 : Synthèse du composé déprotégé 47	55
Figure 47 : Synthèse du composé final 48 , attendu, de la nouvelle stratégie synthétique mise au point au laboratoire.	56
Figure 48 : Synthèse du composé glycosylé 49 dépourvu du carbamate.	57
Figure 49 : Représentation de la molécule 50 issue du réarrangement de Meerwein-Wagner. ..	58
Figure 50 : Synthèse du composé 51 , partiellement déprotégé.	58
Figure 51 : Synthèse du composé attendu 25	59

LISTE DES ABRÉVIATIONS

[α] : pouvoir rotatoire
Ac : acétate
AcOEt : acétate d'éthyle
ADN : acide désoxyribonucléique
B(OMe)₃ : triméthylborate
BLM : bléomycine
Bn : benzyle
BnBr : bromure de benzyle
BuLi : n-butyllithium
CAM : molybdate d'ammonium cérique
CCM : chromatographie sur couche mince
CDCl₃ : chloroforme deutéré
CDI : carbonyldiimidazole
CH₂Cl₂ : dichlorométhane
COSY : *correlation spectroscopy*
 δ : déplacement chimique
d : doublet
dd : doublet de doublet
DEPT : *distortionless enhancement by polarization transfer*
DIBAL-H : Hydrure de diisobutylaluminium
DMAP : diméthylaminopyridine
DMF : diméthylformamide
EC₅₀ : concentration efficace médiane
g : gramme(s)
GT : glycotransférases
h : heure(s)
HMBC : *heteronuclear multiple bond correlation*
HRMS : *High Resolution Mass Spectrometry*
HSQC : *heteronuclear single quantum correlation*
Hz : Hertz
IC₅₀ : concentration inhibant 50 % de l'activité biologique
J : constante de couplage
m : multiplet
MeOD : méthanol deutéré
MeOH : méthanol
MeCN : acétonitrile
mg : milligramme(s)
ml : millilitre(s)
mmol : millimole(s)
mol : mole(s)
m/z : ratio masse sur charge
MeONa : méthanolate de sodium
Pd/C : palladium sur charbon activé
Pd/C(OH)₂ : hydroxyle de palladium sur charbon
Ph : phényle
Ph₂O : diphényléther
ppm : parties par million
R_f : rapport frontal

RMN : résonance magnétique nucléaire

t.a : température ambiante

TCA : trichloroacétimide

TBDMSCl : *tert*-butylchlorodimethylsilane

THF : tétrahydrofurane

TMEDA : *N,N,N',N'*-tétraméthyléthylènediamine

TMSOTf : trifluorométhanesulfonate de triméthylsilyle

VIH : virus d'immunodéficience

À mes parents,

REMERCIEMENTS

Je souhaite remercier le professeur André Pichette, directeur de recherche de m'avoir permis d'intégrer le laboratoire LASEVE et de m'avoir offert la possibilité de me familiariser avec les produits naturels. Je remercie également Jean Legault, co-directeur de recherche pour ses conseils et son expertise en biologie.

Je tiens également à remercier François Simard et Balla Sylla, post-doctorants au sein du laboratoire LASEVE pour leurs précieux conseils, leurs sympathies et leurs bienveillances.

Ensuite, je tiens à saluer mes camarades Eloise Derot, Christopher Herailh, Paul Gormand, Diamondra Raminoson, Luciano Viana, Christel Blot et Marie Pier pour leur aide et les bons moments passés que ce soit au tour d'un verre ou au laboratoire.

De plus, j'accorde une pensée particulière à mon voisin de paillasse Clément Viretto. Je te remercie pour ta bonne humeur, le soutien mutuel que nous nous sommes apportés, tous les moments de rigolades, mais aussi pour tous les voyages et périples partagés.

Je remercie spécialement Léa Garcia, mon acolyte sans qui cette dernière année de maîtrise n'aurait jamais été aussi profitable. Je te remercie pour m'avoir épaulé dans les moments difficiles, pour nos moments de folies et de rires perpétuels.

Je souhaite terminer en remerciant mes parents pour leur soutien inconditionnel, pour avoir cru en moi et m'avoir offert la possibilité d'étudier au Canada, mais aussi pour m'avoir donné la force de faire ce projet.

INTRODUCTION

Au Canada, en 2005, le cancer est devenu la principale cause de décès : un Canadien sur quatre serait atteint d'un cancer durant sa vie. Dix ans plus tard, c'est 45 % des hommes et 43 % des femmes qui seraient atteints d'un cancer au cours de leur vie (Comité consultatif des statistiques canadiennes sur le cancer 2019). En 2019, 220 400 nouveaux cas de cancer ont été recensés et ainsi que près de 82 100 décès (Comité consultatif des statistiques canadiennes sur le cancer 2019) ont été enregistrés au Canada.

Le traitement dépend de l'âge du patient, du type de cancer et de son stade d'avancement. Il existe quatre stades différents pour classer un cancer : plus le stade est élevé et plus le cancer est avancé (Telloni 2017). Le stade I correspond à un cancer localisé de petite taille, limitée à son lieu d'origine (Telloni 2017). Le stade II est un cancer localement avancé qui s'étend au-delà du lieu de naissance du cancer, sans développer de métastases, ni atteindre les ganglions. Le stade III correspond à un cancer qui a atteint les ganglions. Le stade IV est le stade le plus critique. En effet, le cancer s'est propagé par le système sanguin ou par le système lymphatique à d'autres parties du corps, il s'agit d'un cancer métastatique ou généralisé (Telloni 2017). Donc, dépendamment de ces critères, le médecin sélectionnera le traitement le mieux adapté aux conditions du patient pour obtenir une efficacité optimale.

Les principaux traitements pour lutter contre le cancer sont la chirurgie, la radiothérapie, l'hormonothérapie et la chimiothérapie (Cella *et al.* 1993). Parmi ces traitements, certains sont dits locaux comme la radiothérapie et la chirurgie et d'autres dits généraux tels que l'hormonothérapie et la chimiothérapie (DeVita et Chu 2008). Les traitements locaux visent un organe particulier ou bien des zones locales atteintes alors que les traitements généraux se diffusent dans tout le corps.

Un des traitements le plus courant pour traiter le cancer est la chimiothérapie, il s'agit d'un traitement systémique à base de médicaments (DeVita et Chu 2008). Le choix du médicament sera déterminé en fonction de leurs modes d'action. Les agents anticancéreux visent à diminuer la croissance de la tumeur et à tuer les cellules cancéreuses. Malheureusement, plusieurs d'entre eux n'agissent pas uniquement sur les cellules cancéreuses, mais aussi sur les cellules saines. Cette conséquence se manifeste par la présence de plusieurs effets secondaires qui limitent l'utilisation de ces médicaments ainsi que leur efficacité.

Les effets secondaires (Carol 2017) se traduisent, par exemple, par :

- Une toxicité hématologique (anémie, thrombopénie, ...) ;
- Une toxicité digestive (nausée, vomissements, diarrhée, constipation) ;
- Une toxicité cutanéomuqueuse et des phanères (alopécie) ;
- Une toxicité organique spécifique (cardiaque, hépatique, neurologique, pulmonaire, rénale, organes reproducteurs) ;
- Des troubles généraux.

Il existe un autre type de traitement, les thérapies ciblées qui regroupent l'immunothérapie, qui agit sur le système immunitaire propre à chaque individu et la chimiothérapie sélective (Vanneman et Dranoff 2012). La chimiothérapie sélective semble être l'un des traitements les plus appropriés pour contrer les nombreux effets secondaires. En effet, elle permet de cibler, de manière sélective, les cellules cancéreuses sans affecter les cellules saines (Madduri *et al.* 2015). Ce type de traitement est devenu l'un des enjeux majeurs de la recherche contre le cancer. La chimiothérapie ciblée est une médecine personnalisée à chaque individu, biologiquement différente des uns des autres (Baudino 2015). Une maladie possède plusieurs catégories, diverses classes, faisant d'elle une maladie unique possédant ses propres caractéristiques moléculaires. Donc, le choix final de ce traitement personnalisé est adapté à ces deux spécificités : le profil biologique

du patient et la signature moléculaire de la maladie. Suite à cela, la dose du médicament à administrer est déterminée grâce à la quantification d'un marqueur biologique.

De nombreux chercheurs à travers le monde se sont penchés sur le développement de traitement utilisant la chimiothérapie ciblée dans le but de trouver des solutions novatrices pour lutter contre le cancer. Certains d'entre eux ont fait le choix d'identifier des produits naturels à fort potentiel anticancéreux, aboutissant à la découverte de nouveaux agents anticancéreux. À ce titre, le paclitaxel 1, identifié de l'if du Pacifique (*Taxus brevifolia*) est l'un des produits naturels le plus utilisés comme agent de chimiothérapie (Cragg et Newman 2005). Le taxol, une formulation en intraveineuse développée avec le paclitaxel 1, a été disponible commercialement en 1993. Le taxol s'est avéré être une avancée déterminante pour le traitement contre le cancer du sein (Holmes *et al.* 1991), des poumons (Murphy *et al.* 1993) et des ovaires (Einzig *et al.* 1992). Le paclitaxel fait partie de la famille des taxanes (*Taxaceae*). Il peut être synthétisé à partir de précurseurs naturels présents dans les ifs. Certains taxanes naturels permettent aussi de préparer le docétaxel 2, un autre agent anticancéreux très utilisé en clinique (figure 1) (Fafard 2010). Par la suite, les chercheurs canadiens se sont intéressés aux richesses que pouvait leur apporter la forêt boréale, très peu étudiée à l'époque. Ils ont découvert que le paclitaxel était présent dans l'if du Canada (*Taxus canadensis*) (Cragg et Newman 2005), arbuste aussi appelé « sapin trainard » en raison de sa croissance lente. En 2003, les ventes du paclitaxel s'élevaient à plus de quatre milliards de dollars américains (Sirois 2005). Depuis l'expiration des brevets, entre 2008 et 2015, le prix au mg du paclitaxel et du docétaxel ont chutés respectivement de 86 % et 99 %, rendant ces anticancéreux davantage accessibles aux patients (Siorat *et al.* 2017).

Suite à la découverte du paclitaxel, les recherches du laboratoire LASEVE se sont davantage orientées sur d'autres plantes de la forêt boréale (Lavoie 2001). L'une de ces espèces est le bouleau blanc (*Betula papyrifera*), un feuillu abondant dans la forêt

québécoise. Cet arbre, aussi nommé bouleau à papier, a longtemps été utilisé par les Amérindiens comme antalgique, tonique, antispasmodique et purgatif (Lavoie 2001). Depuis une dizaine d'années, le potentiel de l'écorce externe du bouleau blanc a été attribué à la présence de molécules actives : les triterpènes pentacycliques de type lupanes (O'Connell *et al.* 1988). Ces composés triterpéniques ont attiré l'attention des scientifiques, car ils possèdent des activités biologiques variées telles que bactéricide (Bringmann *et al.* 1997; Krasutsky 2006), antivirale (Kim *et al.* 1997; Dzubak *et al.* 2006; Krasutsky 2006), anti-inflammatoire (Bernard *et al.* 2001; Dzubak *et al.* 2006), cytotoxique (Trumbull *et al.* 1976), antitumorale (Lavoie 2001; Dzubak *et al.* 2006; Krasutsky 2006).

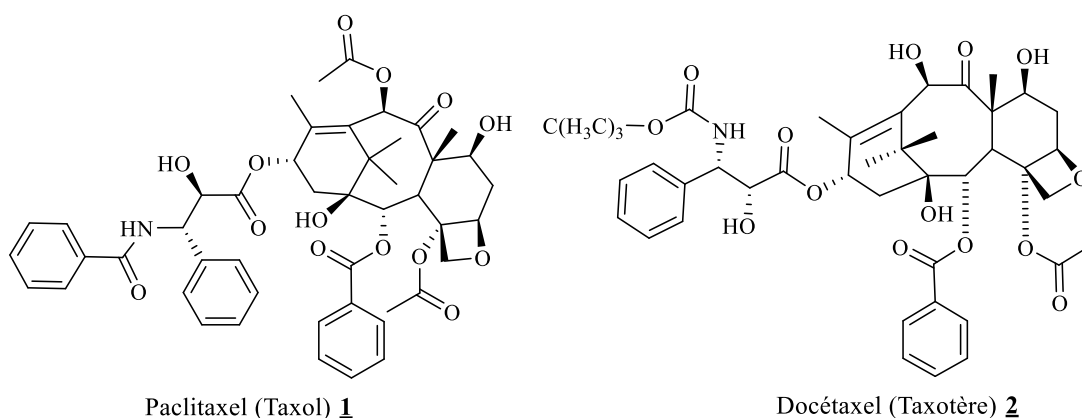


Figure 1 : Composés actifs issus de la famille des taxanes.

En effet, le bétulinol **3**, l'acide bétulinique **4** et le lupéol **5** représentés à la figure 2 ont fait l'objet de plusieurs études (Mahato *et al.* 1992; Mahato et Sen 1997; Dzubak *et al.* 2006; Krasutsky 2006; Tolstikova *et al.* 2006).

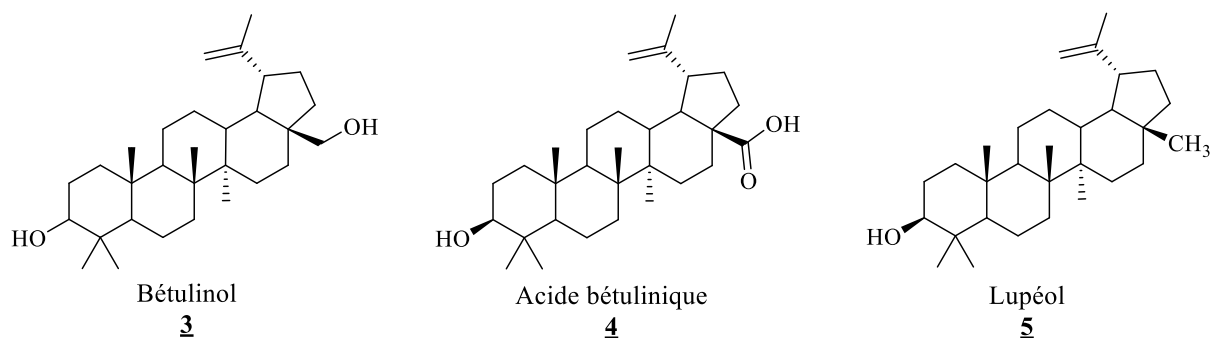


Figure 2 : Triterpènes pentacycliques de types lupanes.

Selon les connaissances actuelles, l'acide bétulinique est l'un des composés les plus prometteurs dans le secteur de l'oncologie (Baglin *et al.* 2003b; Cichewicz et Kouzi 2004; Bi *et al.* 2005; Mukherjee *et al.* 2006). Le groupe de Pisha a mis en évidence son activité cytotoxique sélective envers le mélanome humain sans affecter les cellules saines de plusieurs lignées cellulaires (Pisha *et al.* 1995). Cependant, cette sélectivité sera remise en cause deux ans plus tard par les travaux de l'équipe de Fulda mettant en évidence l'activité antiproliférative de l'acide bétulinique contre les tumeurs d'origine neuroectodermique (Fulda *et al.* 1997). Les recherches prennent de l'ampleur et l'activité antiproliférative de l'acide bétulinique s'étend aux tumeurs épithéliales (Zuco *et al.* 2002) et contre divers cancers (cancer de la prostate, des cervicales, du sein, des poumons et colorectal) (Kessler *et al.* 2007; Kommera *et al.* 2010). Donc, l'acide bétulinique possède une activité cytotoxique pour un large éventail de tumeurs.

Dans cette quête de molécules naturelles possédant des propriétés biologiques intéressantes, il a été démontré que les bléomycines (BLM), issues de la bactérie *Streptomyces verticillus*, possédaient des propriétés anticancéreuses (Yu *et al.* 2013). En effet, elles sont utilisées cliniquement comme antitumoraux pour le traitement des carcinomes à cellules squameuses, c'est-à-dire les cellules présentes dans la couche externe de l'épiderme, et des lymphomes malins (Yu *et al.* 2013). La bléomycine induit un arrêt de la division cellulaire en inhibant la transcription et la réplication de l'ADN

(Carol 2017). Dans les premiers travaux de recherche de l'équipe de Hecht, sur cette famille d'antitumoraux, le degré de sélectivité a été attribué au disaccharide de carbamoylmannose comme montré à la figure 3 (Yu *et al.* 2013). Or, un an plus tard, les travaux de Hecht démontrent que c'était en réalité le fragment monosaccharidique avec l'unité carbamoylmannose qui était l'objet de cette sélectivité (Bhattacharya *et al.* 2014). Ce fragment est sélectif envers les lignées cellulaires cancéreuses du poumon, du rein et du pancréas sans affecter les cellules issus des tissus normaux correspondant (Bhattacharya *et al.* 2014).

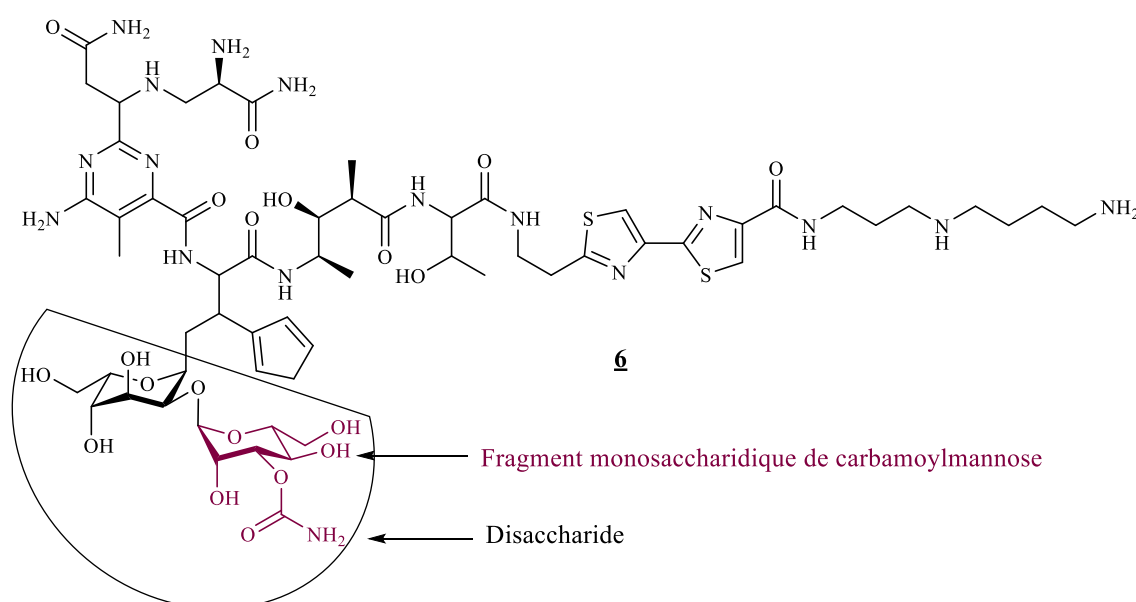


Figure 3 : Structure de la bléomycine A₅ contenant la section disaccharidique d'un fragment carbamoylmannose.

Tenant compte des propriétés intéressantes de l'acide bétulinique et des bléomycines, ce projet de recherche vise à préparer les premiers conjugués hybrides combinant la sélectivité du fragment monosaccharidique de carbamoylmannose des bléomycines et les propriétés cytotoxiques du triterpène **4**. Afin d'être en mesure de préparer ces composés, le premier objectif de ce projet était d'effectuer la synthèse des donneurs de glycosides de mannose et de carbamoylmannose. Le deuxième objectif de ce projet était de greffer l'acide bétulinique sur les donneurs de glycosides par la glycosylation. Conçus de cette manière, les conjugués devraient reconnaître les

récepteurs, encore inconnus, à la surface des cellules cancéreuses pour ensuite être internalisés dans la membrane des cellules cancéreuses. Ils pourraient ainsi libérer, de manière sélective, leur portion cytotoxique au sein des cellules touchées par le cancer sans affecter les cellules saines.

Ce mémoire de maîtrise est subdivisé en trois chapitres. D'une part, le chapitre I rapporte la revue de littérature scientifique sur le cancer et la chimiothérapie, les divers composés naturels bioactifs et le fragment carbamoylmannose. D'autre part, il présente les différents objectifs de cette maîtrise. Le chapitre II présente les résultats de ce projet et discute de leur signification sur le plan de la chimie. Le chapitre III englobe toutes les procédures expérimentales utilisées ainsi que la caractérisation des composés synthétisés. Finalement, ce mémoire se termine par une brève conclusion et propose plusieurs perspectives pour ce projet.

Chapitre 1 : ÉTAT DES CONNAISSANCES ET OBJECTIFS

1.1. Revue de littérature

1.1.1. Cancer et limites de la chimiothérapie

Le cancer est la première cause de mortalité au Canada devant les maladies respiratoires et cardiovasculaires (Comité consultatif des statistiques canadiennes sur le décès 2018). Lors de l'année 2019, au Canada, le cancer a un taux d'incidence de 113 000 cas chez l'homme et de 107 400 cas chez la femme (Comité consultatif des statistiques canadiennes sur le cancer 2019). D'après le tableau 1, illustrant les statistiques du nombre de cas et de décès selon le sexe et les types de cancer, les plus fréquents sont celui de la prostate, du côlon-rectum et du poumon chez l'homme (Comité consultatif des statistiques canadiennes sur le cancer 2019). Chez la femme, les types de cancer les plus répandus sont ceux du sein, du poumon et du côlon-rectum. Les estimations faites montrent qu'en 2030, cette pathologie pourrait atteindre 300 000 nouveaux cas et 100 000 décès par année. Donc, le cancer est devenu un véritable problème de santé publique (Comité consultatif des statistiques canadiennes sur le cancer 2019).

Tableau 1 : Statistiques du nombre de cas et de décès selon le sexe en 2019

	Nombre de cas		Décès	
	Femme	Homme	Femme	Homme
Tous les cancers	113 000	107 400	38 700	43 300
Poumon	14 500	14 900	10 100	10 900
Colorectal	11 700	14 600	4 400	5 200
Sein	27 200	-	5 000	-
Prostate	-	22 900	-	4 100
Ovaire	3 000	-	1 900	-
Pancréas	2 800	3 000	2 500	2 700

La probabilité de développer un cancer augmente avec l'âge, principal facteur à risque. En effet, 70 % des nouveaux cas touchent les personnes de 60 ans et plus (Comité consultatif des statistiques canadiennes sur le cancer 2019). Il a été estimé que plus de 40 % des cancers étaient liés aux conditions de vie et à l'environnement tel que le montre le tableau 2 (Micallef *et al.* 2018). Les proportions de cancers les plus élevés sont liées aux facteurs de risques suivants (Micallef *et al.* 2018; DeVita *et al.* 2019) : le tabagisme et l'alcool, un indice élevé de masse corporelle, une mauvaise alimentation et le manque d'exercice physique. Il est donc recommandé d'adopter de bonnes habitudes de vie afin de limiter ces facteurs de risques.

Tableau 2 : Proportions des cancers liés aux facteurs de risques

Facteurs	Proportions de cancers (%)
Tabac	19,8
Alcool	8
Alimentation déséquilibrée	5,4
Surpoids	5,4
Infections	4
Expositions professionnelles	3,6
Rayons UV	3
Radiations ionisantes	1,8
Manque d'activité physique	0,9
Traitements hormonaux	0,6
Particules fines	0,4

© Laura Viala

Pour mieux comprendre comment se manifeste le cancer à travers un dysfonctionnement des cellules, il est important de connaître le fonctionnement normal d'une cellule. Le groupe d'Alberts décrit le cycle cellulaire d'une cellule normale à travers quatre phases G1, S, G2 et M tel que montré à la figure 4 (Alberts *et al.* 2002). Les cellules non-prolifératives sont dans un état quiescent appelé G0. Les cellules vont alors recevoir un signal, les faisant entrer en G1, la première phase du cycle cellulaire. À cette étape du cycle, les cellules grossissent et synthétisent des protéines nécessaires à la réplication de l'ADN. C'est ensuite qu'à lieu la seconde étape du cycle cellulaire appelée phase S où l'ADN de la cellule se réplique. Puis, intervient la phase G2 du cycle cellulaire.

Lors de cette troisième étape, plusieurs enzymes spécialisées s'assurent que l'ADN n'est pas endommagé. La cellule se prépare aussi à entrer en mitose avec la duplication des centrioles qui permettront la migration des chromosomes. Finalement, la mitose ou phase M est la dernière étape du cycle cellulaire qui donnera naissance à deux nouvelles cellules.

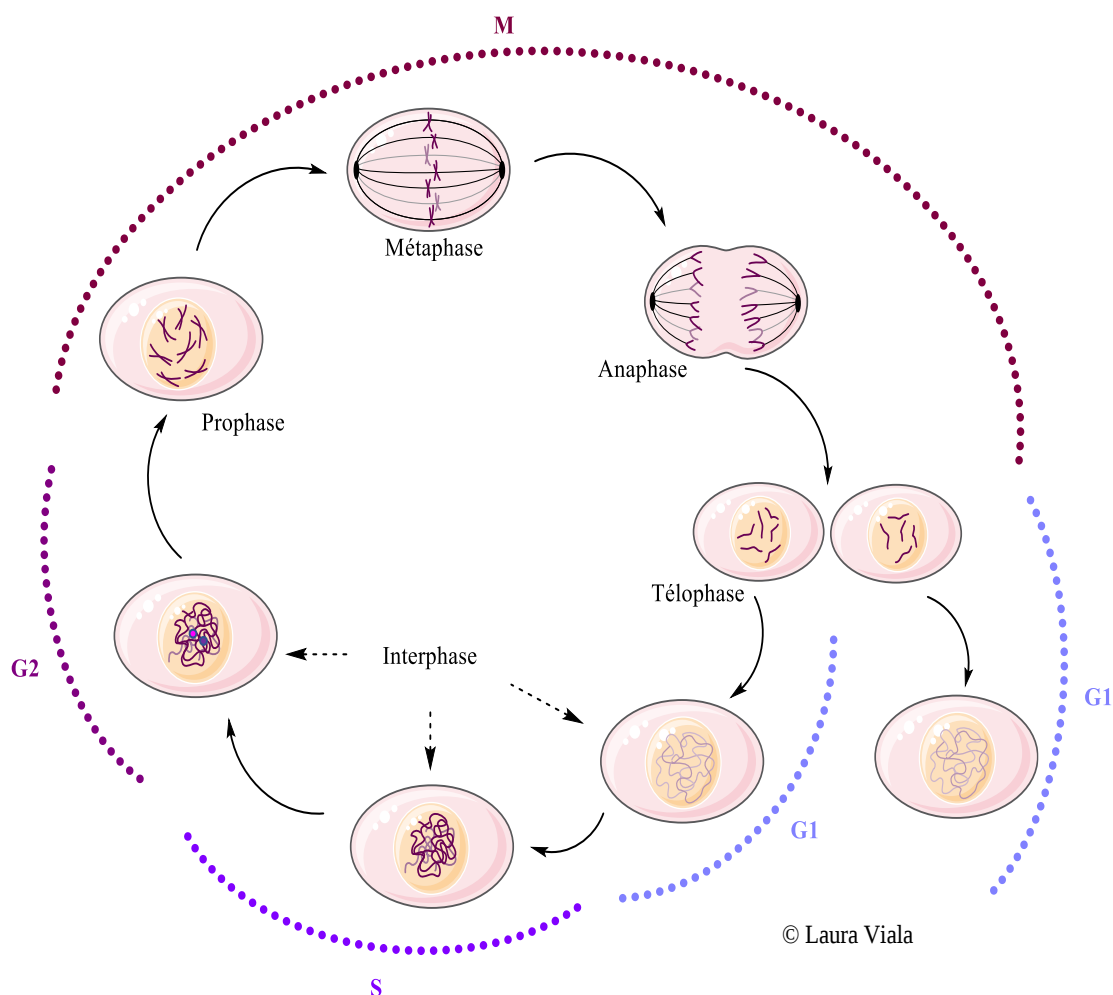


Figure 4 : Schéma du cycle cellulaire d'une cellule normale.

Ainsi, le cancer est issu d'une cellule normale qui a subi plusieurs altérations lors de la synthèse (S) ou de la division cellulaire provoquant des mutations dans des gènes critiques (proto-oncogène et/ou suppresseur de tumeur) qui mèneront au cancer (Patterson *et al.* 2018). Par conséquent, ces mutations se traduisent par une augmentation de l'expression d'un oncogène et/ou par la diminution de l'expression d'un suppresseur de tumeur. Ensuite, des facteurs endogènes/exogènes vont modifier les voies cellulaires principales qui régulent la prolifération, l'apoptose, la différenciation,

l'angiogenèse ainsi que la migration/invasion (Patterson *et al.* 2018). Au cours du temps, ces modifications vont transformer ces cellules en cellules malignes, jusqu'à devenir des cellules cancéreuses.

Selon le type de cancer, de son stade, de l'état général de santé du patient, et de son âge, la chimiothérapie pourra être préconisée comme traitement (Polovich *et al.* 2014). Il va permettre de combattre le cancer en tuant les cellules cancéreuses. Il existe différents types de chimiothérapie (figure 5) en fonction de leurs modes d'actions (Polovich *et al.* 2014; Carol 2017; Bianchi et El Abassi 2018; DeVita *et al.* 2019) :

- Les **alkylants** ont une action directe sur l'ADN grâce à l'ajout d'un groupement alkyle sur les bases puriques et pyrimidiques de l'ADN provoquant ainsi la mort cellulaire (Carol 2017; Bianchi et El Abassi 2018; DeVita *et al.* 2019).
- Les agents **scindants** sont d'origine naturelle et agissent par double action. En effet, ils vont entraîner une coupure simple de l'ADN, mais également produire des radicaux libres. La bléomycine est un agent scindant, qui lorsque qu'elle provoque les coupures d'ADN va causer l'inhibition de la synthèse et de la transcription de l'ADN (Carol 2017; Bianchi et El Abassi 2018; DeVita *et al.* 2019).
- Il existe deux types d'**inhibiteurs de topoisomérases**. Les inhibiteurs de l'ADN topoisomérases I induisent une coupure transitoire d'un brin de l'ADN provoquant la mort cellulaire. Les inhibiteurs de l'ADN topoisomérases II s'insèrent dans la double hélice de l'ADN, ce qui va entraîner une coupure du double brin. L'étoposide et le topotécan font partie des agents chimiothérapeutiques mis sur le marché (Carol 2017; Bianchi et El Abassi 2018; DeVita *et al.* 2019).
- Les **poisons du fuseau** sont divisés en deux catégories : les dérivés de la pervenche (les vinca-alcaloïdes) et les taxanes. Les vinca-alcaloïdes sont des

inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline provoquant un arrêt de la division cellulaire en métaphase. C'est dans cette catégorie que se retrouvent la vinblastine, la vincristine et la vinorelbine, de puissants agents anticancéreux. Les taxanes, ont le mécanisme inverse des dérivés de la pervenche avec l'inhibition de la dépolymérisation de la tubuline. Dans cette catégorie, le paclitaxel et le docétaxel sont reconnus pour leur efficacité (Carol 2017; Bianchi et El Abassi 2018; DeVita *et al.* 2019).

- Les **antimétabolites** inhibent la synthèse de l'ADN. Ils s'incorporent dans l'ADN et se substituent aux bases puriques et pyrimidiques ou participent à l'inhibition de ces bases indispensables à la synthèse d'ADN (Carol 2017; Bianchi et El Abassi 2018; DeVita *et al.* 2019).

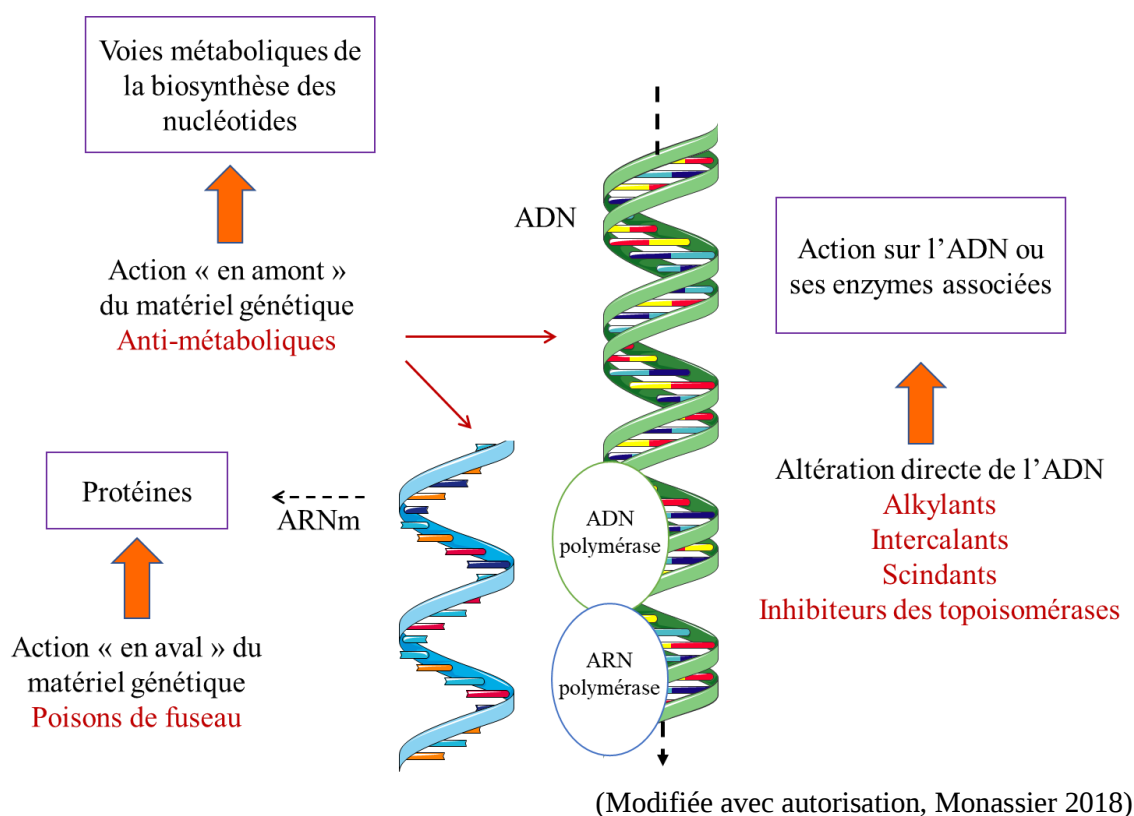


Figure 5 : Mécanismes d'action de différents types d'agents anticancéreux utilisés en chimiothérapie.

1.1.2. Les triterpènes

Les triterpènes sont des terpènes à trente carbones constitués d'un enchaînement d'unités isoprènes. Cette très grande famille de molécules regroupe principalement deux types de triterpènes, les pentacycliques (lupanes) et les tétracycliques. Ils sont connus pour être issus majoritairement de la cyclisation de l'époxyde de squalène 7. C'est en raison de l'ouverture de cette fonction que la plupart de ces molécules sont porteuses d'une fonction hydroxyle en position 3, rendant possible un lien glycosidique avec d'autres molécules. Quelques composés triterpéniques ainsi que les grandes lignes de leur biosynthèse sont présentés à la figure 6 (Phillips *et al.* 2006). La biosynthèse de ces derniers est le résultat de réactions enzymatiques telles que les méthylations, les oléfinitions et les hydroxylations (Bruneton 1999).

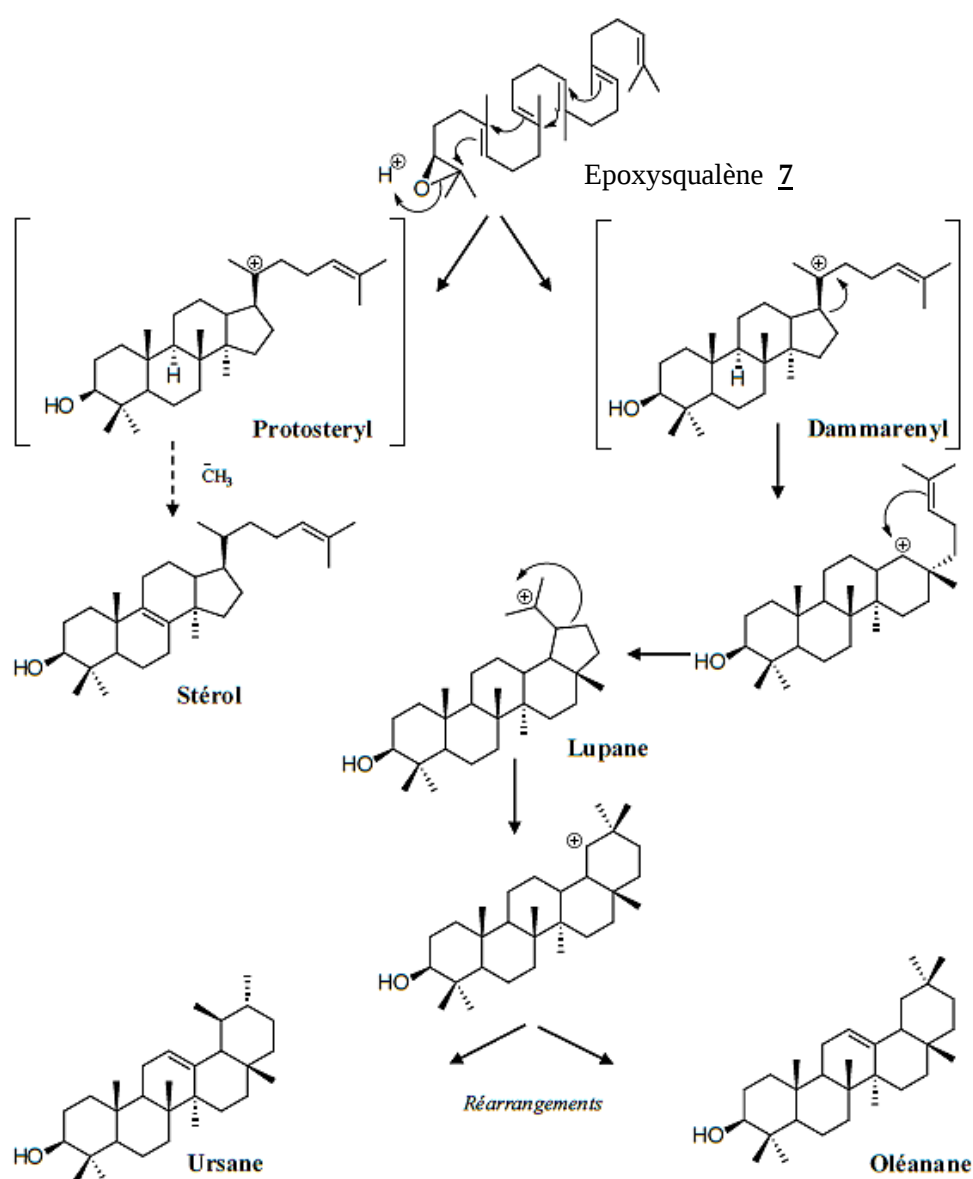
Les triterpènes possèdent des activités biologiques diversifiées telles qu'antivirale (Francis *et al.* 2002; Sparg *et al.* 2004), antimicrobienne (Sparg *et al.* 2004) et antitumorale (Rao et Gurfinkel 2000; Baglin *et al.* 2003b; Sparg *et al.* 2004; Mukherjee *et al.* 2006; Tolstikova *et al.* 2006; Bachran *et al.* 2008; Cmoch *et al.* 2008), ce qui explique le grand intérêt de la communauté scientifique. C'est sous la forme de saponines triterpéniques qu'ils sont le plus souvent retrouvés dans la nature, c'est-à-dire que le triterpène est assemblé à une ou plusieurs sections de sucres.

1.1.2.1. Triterpènes de type lupane

Tout au long de ce projet de maîtrise, ce sont les composés triterpéniques de type lupane qui vont particulièrement susciter notre attention. Parmi ces derniers, les plus étudiés sont le lupéol, l'acide bétulinique et le bétulinol (Gauthier *et al.* 2009).

Le lupéol est le triterpène de type lupane qui, est retrouvé notamment dans les écorces du bouleau jaune avec une teneur variant entre 29 % et 49 % (Habiyaemye *et al.* 2002). L'étude du groupe Fernandez, a mis en évidence l'activité anti-inflammatoire du

lupéol, exercée sur des modèles d'inflammation de murins (Fernández *et al.* 2001). De plus, dans une étude (You *et al.* 2003) visant à montrer une activité anti-angiogénique du lupéol sur la formation de tubes de cellules endothéliales veineuses ombilicales humaines (HUVEC), il a été utilisé comme principe actif. Effectivement, à hauteur de 50 et 30 $\mu\text{g/mL}$, il a démontré une activité inhibitrice sur la formation des tubes HUVEC. Donc, le lupéol est reconnu pour ses propriétés anti-inflammatoires (Fernández *et al.* 2001) et anti-angiogéniques (You *et al.* 2003).



© Laura Viala

Figure 6 : Voie biosynthétique d'une sélection de triterpènes.

De plus, des travaux de recherche ont mis en évidence les propriétés cytotoxiques du lupéol (Chaturvedi *et al.* 2008; Saleem 2009). En effet, il permettrait de réduire la formation de tumeurs en provoquant la mort cellulaire des cellules cancéreuses de la prostate, de la peau, du sein et du pancréas (Chaturvedi *et al.* 2008; Saleem 2009). L'équipe de Cmoch *et al.* (2008) a rapporté plusieurs activités cytotoxiques attribuées à des dérivés du lupéol pour différentes lignées cellulaires cancéreuses incluant les cellules cancéreuses du sein, MCF-7 ($IC_{50} = 50 \mu m$), du poumon, A549 ($IC_{50} = 50 \mu m$) ainsi que les cellules cancéreuses HeLa ($IC_{50} = 37 \mu m$).

Le bétulinol fait partie des premiers produits isolés à partir des végétaux. Il a été extrait de l'écorce externe du bouleau blanc *Betula papyrifera* en 1788 par un dénommé Lowitz (Hayek *et al.* 1989). L'écorce externe du bouleau blanc contient 20 à 30 % de bétulinol (Kolomitsyn *et al.* 2007). Il est reconnu pour ses propriétés cytotoxiques (Alakurtti *et al.* 2006; Gauthier 2006), déclenchant ainsi l'apoptose des cellules cancéreuses (Pyo *et al.* 2009). L'étude de Mullauer et son équipe a également montré le potentiel cytotoxique *in vitro* du bétulinol sur des lignées cancéreuses pulmonaires humaines A549 et cervicale HeLa qui avaient tendance à augmenter en présence du cholestérol (Mullauer *et al.* 2009). Le bétulinol est un précurseur intéressant pour la synthèse de l'acide bétulinique (Kim *et al.* 1997).

L'acide bétulinique **4**, est un triterpène pentacyclique de type lupane isolé initialement des feuilles de *Syzigium claviflorum* (Fujioka *et al.* 1994). L'acide bétulinique est le principe actif de plus de 2 500 espèces végétales (Baglin *et al.* 2003a). Or, l'un des problèmes majeurs qui subsistent est la faible hydrosolubilité de l'acide bétulinique **4** dans l'eau (0,02 $\mu g/mL$) (Jäger *et al.* 2007). Cette particularité complique son mode d'administration, son absorption et sa biodisponibilité dans l'organisme du patient (Udeani *et al.* 1999). La synthèse de dérivés d'acide bétulinique **4** davantage hydrosoluble pourrait permettrait de régler ce problème.

1.1.2.2. Activités biologiques de l'acide bétulinique

Les travaux effectués jusqu'à ce jour sur l'acide bétulinique, ont mis en lumière diverses activités biologiques incluant une activité antitumorale (Pisha *et al.* 1995), antivirale (Fujioka *et al.* 1994), antibactérienne (Chandramu *et al.* 2003), anti-inflammatoire (Kutkowska 2018), antipaludique (Steele *et al.* 1999) et anti-diabétique (Ding *et al.* 2018).

Pisha et son équipe ont réalisé des tests *in vitro* et *in vivo* sur des souris porteuses de tumeurs (Pisha *et al.* 1995). L'activité cytotoxique de l'acide bétulinique a été comparée à celle d'agents anticancéreux reconnus (taxol, vinblastine, etc). Les résultats de cette étude ont démontré le pouvoir inhibiteur sélectif de l'acide bétulinique pour les mélanomes (Pisha *et al.* 1995). Dans cette étude, l'acide bétulinique n'a montré aucune forme de cytotoxicité sur les cellules saines murines contrairement aux agents anticancéreux mis sur le marché (Pisha *et al.* 1995). Ainsi, ces travaux ont mis en évidence le potentiel de l'acide bétulinique comme agent antitumoral spécifique au mélanome humain dans des cultures cellulaires et sur des modèles d'animaux porteurs de tumeurs (Pisha *et al.* 1995). Cependant, aucune explication n'a été rapportée concernant cette spécificité vis-à-vis des mélanomes.

Par la suite, d'autres études ont démontré que, l'activité de l'acide bétulinique n'était pas uniquement attribuée au mélanome. Effectivement, l'acide bétulinique possède également une activité antiproliférative contre les tumeurs d'origine neuroectodermique (Fulda *et al.* 1997), les tumeurs épithéliales (Zuco *et al.* 2002) mais aussi contre divers cancers (Kessler *et al.* 2007). Une évaluation de l'efficacité de l'acide bétulinique a été effectuée sur les lignées cellulaires des cancers les plus mortels chez l'homme et la femme. La sensibilité des lignées cellulaires du cancer du poumon, du sein, colorectal, de la prostate et du col de l'utérus (Kessler *et al.* 2007) ont été testées *in vitro*.

Les travaux menés par Kessler et ses collaborateurs ont révélé que, la formation de colonies de chacune de ses lignées cellulaires cancéreuses a été arrêtée par des concentrations d'acide bétulinique de l'ordre de 7,5 à 10 µg/mL (Kessler *et al.* 2007).

Quelques années plus tard, de nouveaux travaux font état de l'activité antiproliférative de l'acide bétulinique pour de nouvelles lignées cellulaires cancéreuses (tableau 3). L'acide bétulinique **4** confirme ainsi son profil d'agent chimiothérapeutique avec des valeurs d'IC₅₀ comprises entre 6,48 et 12,6 µM (Kommera *et al.* 2010). De plus, l'acide bétulinique montre sur ces mêmes lignées cellulaires un indice de sélectivité variant entre 1,65 et 3,21 tel que présenté dans le tableau 3 (Kommera *et al.* 2010).

Tableau 3 : Activité cytotoxique et indice de sélectivité de l'acide bétulinique sur différentes lignées cellulaires cancéreuses

Lignées cellulaires cancéreuses		IC ₅₀ (µM)*	Indice de sélectivité**
Poumon	A549	11,10	1,87
Colorectal	DLD-1	11,87	1,75
Côlon	SW480	6,48	3,21
Sein	MCF-7	12,27	1,70
Ovaires	A2780	11,07	1,88
Tête	A253	9,18	2,27
Cou	FaDu	10,19	2,04
Cervicales	A431	12,60	1,65

*les valeurs d'écart type sont inférieures à 10% dans tous les cas

**IC₅₀ sur les fibroblastes humains / IC₅₀ sur la lignée cellulaire tumorale correspondante

En plus de son activité anticancéreuse, l'acide bétulinique montre également une activité antimalariale *in vitro* contre des souches de *Plasmodium falciparum* (K1, IC₅₀ = 19,6 µg/mL et T9-96, IC₅₀ = 25,9 µg/mL)(Steele *et al.* 1999). L'équipe de Fujioka a démontré *in vitro* que, l'acide bétulinique inhibe la réplication du VIH de type I avec une ED₅₀ de 1,4 µM (Fujioka *et al.* 1994).

Tenant compte des résultats prometteurs *in vitro* et *in vivo* de l'acide bétulinique ainsi que de sa faible hydrosolubilité, plusieurs dérivés ont été préparés par différents groupes (Jeong *et al.* 1999; Kvasnica *et al.* 2005; Gauthier *et al.* 2011) afin de bonifier

ses propriétés anticancéreuses. Dans notre cas, nous avons choisi d'accroître cette solubilité par l'ajout d'une section sucre en formant des glycosides triterpénoïdes, solubles dans l'eau (Gauthier *et al.* 2011).

1.1.3. Saponines triterpéniques

Les saponines sont des molécules présentes dans les plantes et dans quelques organismes marins (Manase 2013). L'étymologie du nom saponine est dérivée du nom latin « sapo » qui signifie savon. Ces produits naturels ont la propriété de former des solutions moussantes dans l'eau. Les saponines semblent être biosynthétisées par les plantes pour leur rôle de défense (Osbourn 1996). Elles sont connues pour induire la lyse cellulaire (Berlowska *et al.* 2015) et donc elles peuvent entraîner la diminution de la perméabilité de la membrane cellulaire. Ceci pourrait donc les qualifier de toxiques lorsqu'elles sont injectées dans le sang, dû à leurs propriétés hémolytiques (Mshvildadze 2016a). Les saponines sont dérivées de génines à noyau lipophile (sapogénine et aglycone) et de chaînes de sucres hydrophiles (glycone).

Il existe deux types de saponines : triterpéniques et stéroïdiques. Ces deux familles de saponines se différencient par leur classification : les saponines triterpéniques (Yang *et al.* 2014) se classifient en général par leur chaîne carbohydrate, pouvant être composée de plusieurs unités osidiques, connectée souvent en position C-3 (OH) et en position C-28 (COOH) de la génine (Mshvildadze 2016a). Les saponines stéroïdiques sont divisées en deux catégories : les saponines de type spirostane **8** et de type furostane **9** telles que montrées à la figure 7. L'aglycone est soit du type spirostanol ou du type furostanol. Les saponines spirostanes sont des monodesmosides avec une chaîne de sucres en position C-3 alors que les saponines furostanes sont des bidesmosides avec un glucose en position C-26 et une chaîne de carbohydrate en position C-3 (Mshvildadze 2016b).

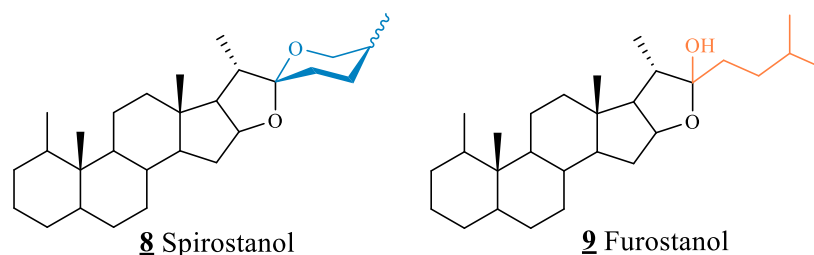


Figure 7 : Structure de saponines à spirostanol **8** et à furostanol **9**.

Les saponines triterpéniques à génine de type lupane sont beaucoup moins dominantes chez les végétaux, que d'autres génines triterpéniques (Krasutsky 2006). En revanche, l'acide bétulinique fait partie des aglycones couramment rapportés dans la littérature scientifique avec au moins treize recensements auprès du règne végétal tel que le montre le tableau 4 (Gauthier 2008). Quant à leur activité biologique, seulement quelques-unes ont une activité cytotoxique élevée. Il s'agit des saponines triterpéniques d'acide bétulinique isolées de la plante *Schefflera rotundifolia*, qui ont présenté une cytotoxicité envers plusieurs lignées cellulaires cancéreuses (Gauthier 2008).

Tableau 4 : Saponines triterpéniques d'acide bétulinique d'origine naturelle

Espece vegetale	Section sucre	
	C-3	C-28
<i>Acacia leucophloea</i>	Mal	-
<i>Bersama engleriana</i>	Glc(1-2)GlcA	Glc
<i>Cussonia racemosa</i>	Glc(1-2)GlcA	Ara(1-2)Glc
	Gal(1-2)Ara	Rha(1-4)Glc(1-6)Glc
	Rha(1-2)Ara	Rha(1-4)Glc(1-6)Glc
<i>Dillenia pentagyna</i>	Rha(1-2)Ara	-
<i>Oplopanax elatus</i>	Glc	Rha(1-4)Glc(1-6)Glc
<i>Oreopanax guatemalensis</i>	Glc	Glc(1-6)Glc
	Glc	Rha(1-4)Glc(1-6)Glc
<i>Pavonia zeylanica</i>	Araf(1-2)Rha(1-4)Glc	-
<i>Pulsatilla chinensis</i>	Rha(1-2)Ara	Rha(1-4)Glc(1-6)Glc
<i>Pulsatilla koreana</i>	Glc(1-4)Ara	-
	Glc(1-3)Rha(1-2)Ara	-
<i>Schefflera divaricata</i>	Xyl(1-2)GlcA	-
<i>Schefflera lucantha</i>	Rha(1-2)Glc(1-2)GlcA	-
	Rha(1-2)Xyl(1-2)GlcA	-
<i>Schefflera rotundifolia</i>	Rha(1-2)Ara	Glc
	Ara	Glc
<i>Schefflera venulosa</i>	Glc(1-2)Glc	-

Des travaux antérieurs (Gauthier *et al.* 2009) ont été réalisés au sein du laboratoire LASEVE, faisant intervenir différents glycosides d'acide bétulinique, certains déjà connus des revues scientifiques et d'autres encore inconnus à ce jour. Les travaux de Gauthier et ses partenaires, ont contribué à l'étude de saponines triterpéniques naturelles d'acide bétulinique avec une section sucre α -L-rhamnopyranosyl-(1-2)- α -L-arabinopyranoside en position 3 (figure 8) (Gauthier *et al.* 2009). La première saponine **10** a été isolée des feuilles de *Schefflera rotundifolia* et la deuxième saponine **11** a été extraite des racines de *Pulsatilla koreana*. L'activité cytotoxique de la saponine **10** a été établie à l'aide de tests *in vitro* sur des lignées cellulaires cancéreuses A549, SK-OV-3, SK-MEL-2 et HCT15 et ils ont révélé une cytotoxicité moyenne à l'égard de ces cellules (Park *et al.* 2001; Bang *et al.* 2005). De plus, d'autres tests ont été effectués *in vivo* sur des souris porteuses d'un carcinome du poumon qui ont montré une activité antitumorale significative. La saponine **10**, présente une activité antiproliférative contre les lignées cellulaires J774.A1, WEHI-164 et HEK-293F avec des valeurs de l'IC₅₀ comprises entre 0,32 et 0,79 μ M (Braca *et al.* 2004). Concernant la saponine **11**, elle a démontré une cytotoxicité *in vitro* modérée envers les lignées cellulaires cancéreuses A549, SK-OV-3, SK-MEL-2 et HCT15 (Bang *et al.* 2005). Elle a également montré une activité antitumorale *in vivo* significative contre les souris BDF1 portant le carcinome pulmonaire de Lewis (Bang *et al.* 2005). La chaîne trisaccharidique n'est toxique en position C-3, cependant elle améliorerait la solubilité dans l'eau et amplifierait l'activité (Gauthier *et al.* 2009).

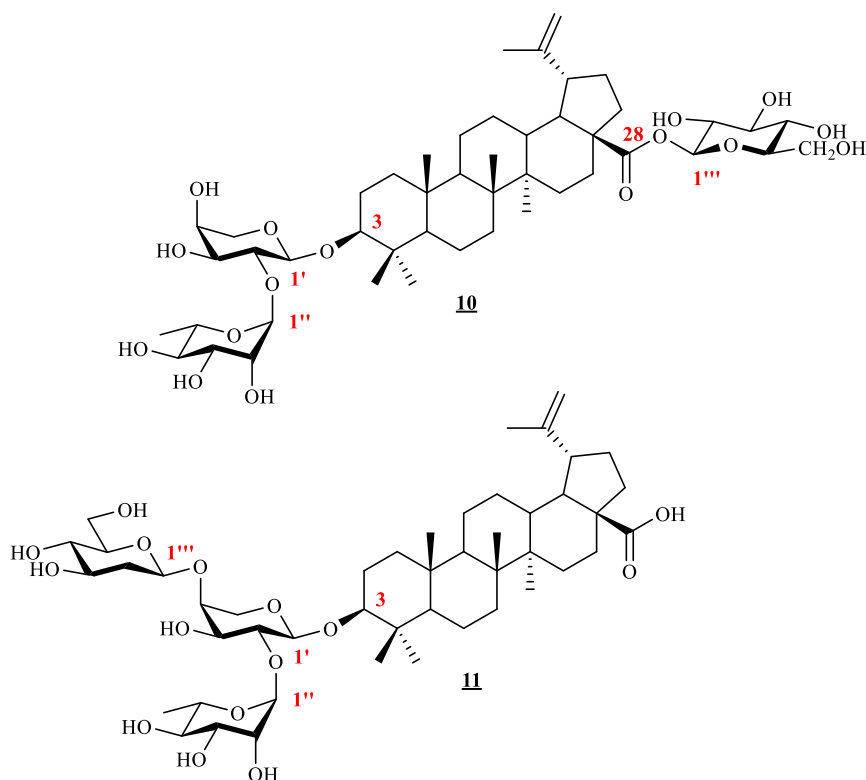


Figure 8 : Saponines triterpéniques d'origine naturelle d'acide bétulinique **10** et **11**.

1.1.4. Intérêt de préparer des glycosides triterpéniques

L'introduction d'une section *L*-rhamnose en position 3 de l'acide bétulinique (figure 9) permet d'augmenter la cytotoxicité envers les lignées cellulaires humaines du carcinome du côlon (DLD-1) avec une IC_{50} de 3,9 μ M et du mélanome de souris (B16-F1) avec une IC_{50} de 3,9 μ M (Gauthier 2006). Elle augmente également la cytotoxicité contre la lignée cellulaire du carcinome du poumon humain (A549) avec une IC_{50} de 2,6 μ M et une sélectivité douze fois plus importante comparativement aux fibroblastes de peau saine humaine, WS1, avec une IC_{50} de 31 μ M tel que le montre le tableau 5 (Gauthier 2006). Ces études se sont révélées prometteuses puisqu'elles ont abouti à la bonification de l'hydrosolubilité, de l'activité et de la sélectivité de l'acide bétulinique par le biais de glycosides greffés en position C-3 de l'acide bétulinique (Gauthier 2006). À l'issu de ces résultats, une demande de brevet (Pichette *et al.* 2012) a été soumise mettant en évidence

l'importance significative des glycosides tritérpéniques comme étant des agents anticancéreux prometteurs d'origine naturelle.

Tableau 5 : Résultats des tests de cytotoxicité sur différentes lignées cellulaires du rhamnose d'acide bétulinique par rapport à l'acide bétulinique

		Lignées cellulaires IC ₅₀ (μM ± SD)			
		A549	DLD-1	B16-F1	WS1
12	3-O-Rhamnose d'AcBet	2,6 ± 0,6	3,9 ± 0,4	3,9 ± 0,4	31 ± 3
4	Acide bétulinique	10,3 ± 0,4	15,0 ± 0,3	16,1 ± 0,5	12 ± 1

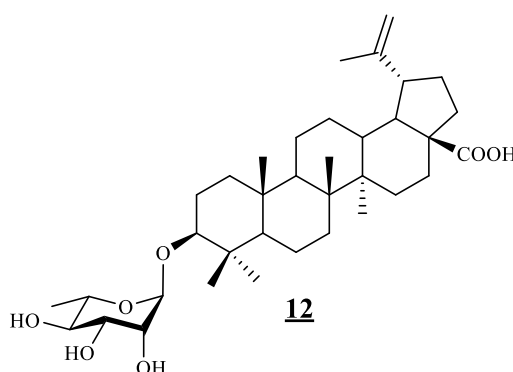
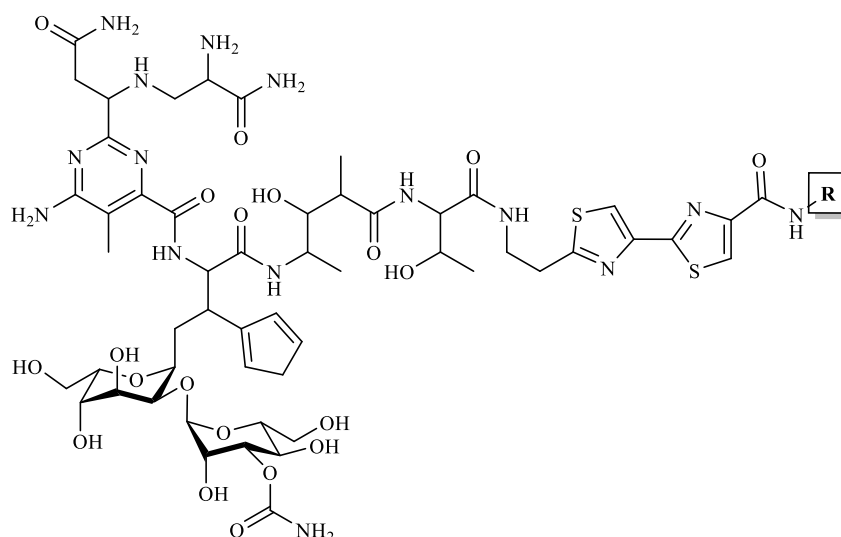


Figure 9 : Structure du rhamnoside d'acide bétulinique **12**.

1.1.5. Les bléomycines

Les bléomycines font partie d'une famille d'antibiotique regroupant plusieurs glycopeptides (El Nemr 2005). La bléomycine A₅ (**6**) telle que représentée à la figure 3, est issue de la fermentation de la souche mycélienne *Streptomyces verticillus* (Umezawa 1966) tout comme les bléomycines A₂ (**13**) et B₂ (**14**) (Horbach *et al.* 2016).



6 Bléomycine A₅, R = (CH₂)₃-NH-(CH₂)₄-NH₂

13 Bléomycine A₂, R = (CH₂)₃S⁺(CH₃)₂X⁻

14 Bléomycine B₂, R = (CH₂)₄-C(=NH)NH₂

Figure 10 : Structure des bléomycines A₅ **6**, A₂ **13** et B₂ **14**.

1.1.5.1. Activités des bléomycines

Les bléomycines sont exploitées pour leurs propriétés antibactérienne et antivirale pour des traitements de cicatrisation ainsi que pour leur activité antitumorale (Farrar 2011). Cette cytotoxicité est due aux dommages oxydatifs causés à l'ADN. En effet, l'association de ce glycopeptide aux ions de métaux de transition forme des complexes avec le dioxygène et oxyde l'ADN (Pitié *et al.* 2006). Autrement dit, elles vont provoquer une cassure simple ou double brin au sein de l'ADN par une attaque directe de l'ADN (Knottenbelt *et al.* 2015). La cytotoxicité des bléomycines permet de traiter les carcinomes épidermoïdes des poumons, du sein, de la prostate ainsi que les carcinomes testiculaires, mais également les lymphomes hodgkiniens et non hodgkiniens (Sankaranarayanan *et al.* 2014; Avendano et Menendez 2015). La bléomycine A₅ a été commercialisée sous le nom de pingyangmycine, son appellation fait référence au comté de Pingyang en Chine, où elle a été découverte (Horbach *et al.* 2016). Le blénoxane, plus

reconnu, est aussi un médicament anticancéreux contenant la bléomycine A₂ à hauteur de 60 % et la bléomycine B₂ à hauteur de 30 % (Avendaño et Menéndez 2008).

1.1.5.2. Toxicité des bléomycines

La différence de ce médicament avec d'autres agents anticancéreux comme le paclitaxel ou le docétaxel, est qu'il n'engendre presque aucun dommage à la moelle épinière (Kwok *et al.* 2017) et au système cardiovasculaire (Castel *et al.* 2013). Le docétaxel et le paclitaxel sont couramment utilisés en chimiothérapie, mais possèdent une forte activité myélosuppressive, pouvant entraîner la mort (Ida *et al.* 2017; Kwok *et al.* 2017; DeVita *et al.* 2019). La myélosuppression est définie comme étant une aplasie médullaire, autrement dit, elle va diminuer les cellules productrices (globule rouge, plaquettes, etc.) de la moelle osseuse (DeVita *et al.* 2019). D'après le registre de l'Institut national du cancer, l'incidence de la toxicité cardiaque du paclitaxel est de 14 % selon une étude menée sur 1000 sujets (Trimble *et al.* 1993). Les agents de chimiothérapie issus de la bléomycine sont souvent utilisés en complément avec d'autres agents thérapeutiques ou combinés à la radiothérapie (Avendano et Menendez 2015; Horbach *et al.* 2016). En présence d'un réducteur, ils agissent en tant que chélateur, se traduisant par une altération de l'ADN à cause de la formation de radicaux libres (Dolan *et al.* 2017). Ils peuvent provoquer une pneumopathie interstitielle pouvant amener, à forte dose, à des conséquences irréversibles telle qu'une fibrose pulmonaire ou bien une insuffisance pulmonaire fatale (Aronson 2016; DeVita *et al.* 2019). Ces conséquences irrémédiables sont dues à l'accumulation de doses successives pouvant rendre le médicament toxique pour l'organisme (Aronson 2016). Parmi les patients traités par ce médicament, 20 % ont déclaré être atteint d'une maladie pulmonaire et 3 % sont décédés de leurs conséquences pulmonaires (Dulohery *et al.* 2016). Il ne faut pas oublier que ce type de médicament est à large spectre (Kong *et al.* 2018), nocif pour l'organisme sur le long terme. En raison de tous ces effets secondaires, l'utilisation des bléomycines est davantage limitée. Il serait

donc judicieux de trouver une alternative afin de minimiser au maximum les effets secondaires des bléomycines. Plusieurs articles scientifiques (Chen *et al.* 2008; Huang *et al.* 2012; Wang *et al.* 2013; Chen *et al.* 2017; Zhu *et al.* 2018) ont fait état de nouvelles stratégies de synthèses afin d'obtenir des analogues originaux de bléomycines, améliorant l'efficacité clinique et réduisant la toxicité qui lui est associée.

1.1.5.3. Fragment carbamoylmannose

Le disaccharide des bléomycines comportant le fragment carbamoylmannose est important pour cette sélectivité. D'après ce qui a été démontré jusqu'à maintenant, ce serait le carbamoylmannose qui confère cette sélectivité (Bhattacharya *et al.* 2014) à la bleomycine à l'égard des cellules cancéreuses.

Une sonde fluorescente (en rose) a été greffée sur une bléomycine, correspondant au conjugué BLM-Cy5 (**15**) tel que le montre la figure 11 (Yu *et al.* 2013). Par la suite, une seconde sonde fluorescente portant uniquement le disaccharide a été préparée, le BLM-disaccharide-Cy5 (figure 12)(Yu *et al.* 2013). Puis, une troisième sonde fluorescente dénué de la section disaccharidique a été préparée, le déglyco BLM-Cy5 (**16**). Les conjugués BLM-Cy5 (**15**) et BLM-disaccharide-Cy5 (**17**) permettent d'étudier la fluorescence dans les cellules saines (Pz-HPV-7) et cancéreuses (DU-145) de la prostate. Ces dernières possèdent à la surface des récepteurs, encore inconnu pour le moment, qui vont pouvoir internaliser les conjugués. Ces études de photométries ont montré la présence de fluorescence dans les cellules cancéreuses de la prostate pour les deux conjugués (tableau 6). Donc, ce résultat suggère que les deux composés sont internalisés sélectivement dans les cellules cancéreuses de la prostate (DU-145), comparativement aux cellules saines correspondantes (Pz-HPV-7). Par conséquent, ces travaux de fluorescence ont démontré que la section disaccharidique des bléomycines est internalisée sélectivement dans les cellules cancéreuses. De plus, ce résultat est à nouveau confirmé par les données de photométrie du composé (**16**) dénué du fragment

disaccharidique qui ne présente aucun indice de fluorescence pour les cellules cancéreuses de la prostate (DU-145). En effet, ce dernier possède un indice de fluorescence analogue à celui du conjugué initial, le BLM-Cy5 (**15**) (Yu *et al.* 2013). La même sélectivité a été observée pour le cancer du sein et du pancréas comparativement aux lignées cellulaires normales apparentées (Yu *et al.* 2013).

Tableau 6 : Quantification de la liaison/absorption de Cy5, BLM-Cy5 **15**, déglyco BLM-Cy5 **16** et BLM-disaccharide-Cy5 **17** dans les cellules saines Pz-HPV-7 et cellules cancéreuses DU-145 de la prostate

	PZ-HPV-7	DU-145
Cy5	0	5
15 BLM-Cy5	0	75
16 deglycoBLM-Cy5	0	5
17 BLM-disaccharide-Cy5	0	60

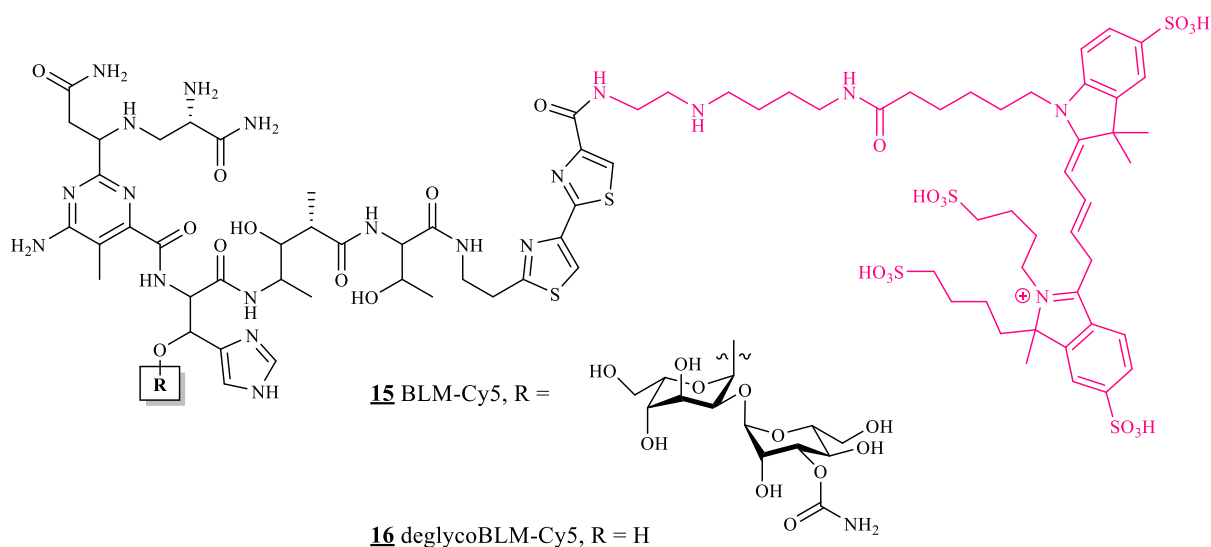


Figure 11 : Structure des conjugués BLM-Cy5 **15** et déglycoBLM-Cy5 **16**.

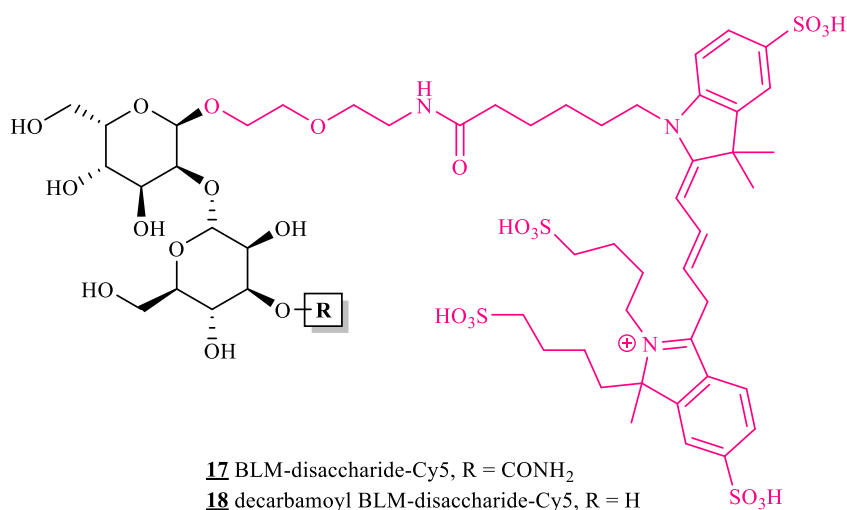


Figure 12 : Structure des conjugués BLM-disaccharide-Cy5 **17** et décarbamoyl BLM-disaccharide-Cy5 **18**.

C'est un an plus tard, en 2014, que cette même équipe (Bhattacharya *et al.* 2014) a montré, de manière plus précise, que le fragment carbamoylmannose était reconnu par les cellules cancéreuses. Pour cela, ils ont greffé ce fragment sur une sonde fluorescente et ont observé le comportement du BLM-monosaccharide-Cy5 (**19**) (figure 13). Tout d'abord, ils ont comparé le monosaccharide au disaccharide porteur de la sonde, sur différentes lignées cellulaires malignes du poumon (A549), du rein (A498) et du pancréas (BxPC-3). Ceci a révélé une fluorescence nettement supérieure pour le monosaccharide avec une intensité trois fois plus forte pour la lignée cellulaire A549, deux fois plus intense pour la lignée cellulaire A498 et légèrement plus intense pour la lignée cellulaire BxPC-3 (tableau 7). Puis, l'internalisation du conjugué BLM-monosaccharide-Cy5 (**19**) a été comparée dans les lignées cellulaires normales appariées ne révélant aucun indice de fluorescence. Donc, le conjugué BLM-monosaccharide-Cy5 (**19**) serait internalisé sélectivement dans les cellules cancéreuses sans affecter les cellules saines (Bhattacharya *et al.* 2014).

Tableau 7 : Quantification liaison/absorption de BLM-disaccharide-Cy5 **17** et de BLM-monosaccharide-Cy5 **19** sur les lignées cellulaires cancéreuses du poumon, rein et pancréas

Lignées cellulaires cancéreuses		BLM disaccharide-Cy5 17	BLM monosaccharide-Cy5 19
Poumon	A549	60	162
Rein	A498	80	155
Pancréas	BxPC-3	120	130

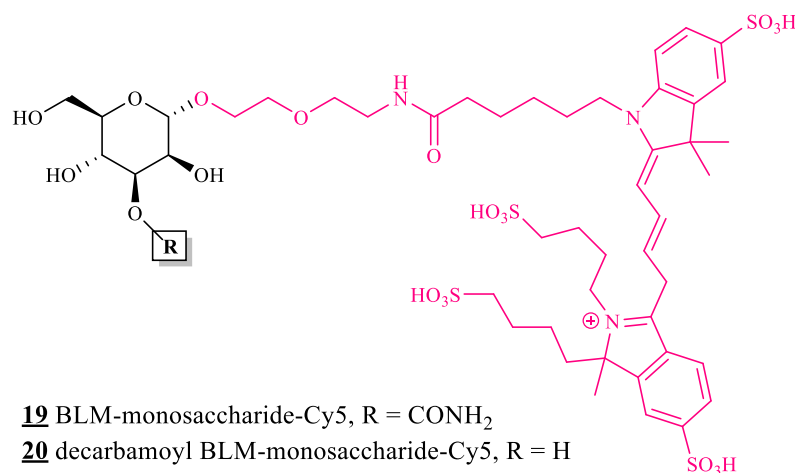


Figure 13 : Structure des conjugués BLM-monosaccharide-Cy5 **19** et decarbamoyl BLM-monosaccharide-Cy5 **20**.

L'influence de la fonction carbamate en position 3 du sucre a également été mise en évidence (Bhattacharya *et al.* 2014). Pour se faire, un mannoside fluorescent dénué de cette fonction a été préparé, le decarbamoylBLM-monosaccharide-Cy5 (**20**) pour observer son importance vis-à-vis des cellules cancéreuses. Une expérience a été réalisée impliquant quatre lignées cellulaires cancéreuses (A549, BxPC-3, DU-145 et MCF-7) qui ont été traitées avec le conjugué BLM-monosaccharide-Cy5 (**19**) et avec le conjugué decarbamoylBLMmonosaccharide-Cy5 (**20**) (Bhattacharya *et al.* 2014). Cette expérience a ainsi permis, de mettre en évidence qu'aucune des quatre lignées cellulaires n'a pu lier, de façon déterminante, le monosaccharide dénué de la fonction carbamate ce qui indique que le fragment carbamoylmannose est primordial pour la reconnaissance des cellules tumorales.

1.2. Objectifs

L'idée globale de ce projet est de combiner les propriétés de ciblage du fragment carbamoylmannose pour les cellules cancéreuses à l'activité cytotoxique de l'acide bétulinique afin d'en bonifier le potentiel biologique. Il pourrait être judicieux de tester et de comparer le potentiel biologique envers les lignées cellulaires cancéreuses du poumon, du rein et du pancréas, déjà rapportées dans les travaux de Hecht et son équipe (Yu *et al.* 2013; Bhattacharya *et al.* 2014).

Dans ce contexte, le premier objectif de cette maîtrise est de synthétiser les donneurs de glycosides du fragment carbamoylmannose **21** et **22** ainsi que celui sans carbamate **23** (figure 14). La préparation des donneurs de glycosides a été faite selon deux voies de synthèses différentes. La première est une voie dite « classique » se basant sur des réactions empiriques de glycochimie et permettant d'obtenir le fragment carbamoylmannose en neuf étapes. La seconde voie de synthèse pour l'obtention de ce fragment a été mise au point selon une nouvelle stratégie de synthèse optimisée par le laboratoire.

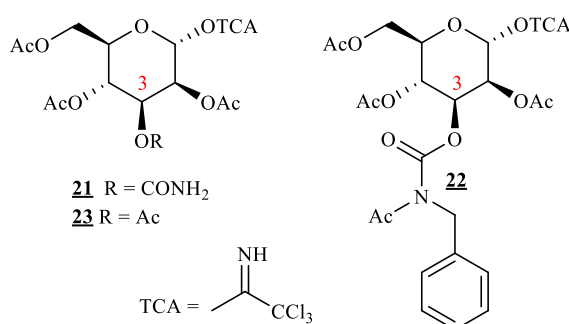


Figure 14 : Donneurs de glycosides avec carbamate **21**, **22** et sans carbamate **23**.

Le deuxième objectif de ce projet de maîtrise vise à greffer l'acide bétulinique **4** aux fragments carbamoylmannoses **21** et **22** et au mannose **23** (non porteur de la fonction carbamate). Pour finir, une séquence de déprotection des groupements protecteurs devra être réalisée pour former les produits ciblés **24** et **25**, représentés à la figure 15.

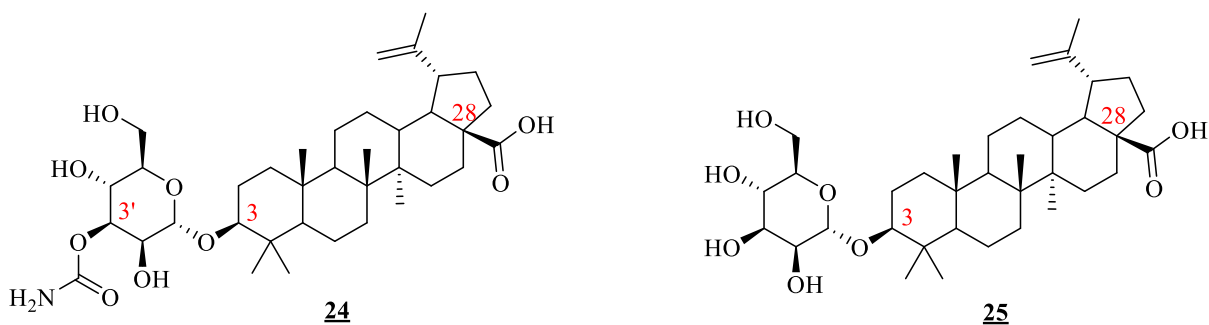


Figure 15 : Structure des conjugués carbamoylé 24 et dénué de carbamate 25.

1.3. Approche de synthèse de saponines triterpéniques

Depuis maintenant quelques années, diverses approches de synthèse de glycosides triterpéniques ont été recensées dans la littérature scientifique (Boger et Honda 1994; Gauthier *et al.* 2009; Yang *et al.* 2014). C'est en Californie, lors de l'année 1994, que l'une des premières synthèses totales des bléomycines a été réalisée. L'équipe de Boger et Honda a effectué la préparation de l'unité disaccharidique : 2-O-(3-O-carbamoyl- α -D-mannopyranosyl)-L-gulopyranose dans leur synthèse totale des bléomycines (Boger et Honda 1994). C'est d'ailleurs, la méthodologie de synthèse de la sous-unité du D-mannose carbamoylé qui sera, en partie, employée durant ce projet de recherche (Boger et Honda 1994). Effectivement, les travaux de synthèse du groupe de Boger et Honda ont mis de l'avant la procédure de formation d'acétals, l'étape régiosélective du carbamate en position 3 du D-mannose ainsi que l'utilisation de groupements protecteurs perbenzoylés et péracétylés (Boger et Honda 1994).

Plusieurs fonctions telles que les bromures, les thioglycosides et les imidates permettent d'activer le carbone anomérique d'un donneur de glycosyle (Jarowicki et Kocienski 2000). Une autre stratégie d'activation des sucres en position anomérique a été mise au point à partir des imidates (Schmidt et Michel 1980). Cette approche expose une forme d'activation de sucre plus réactive que celle activée par le brome en position anomérique. Elle est devenue l'une des méthodes les plus utilisées à ce jour pour la

synthèse de glycosides tels que les saponines synthétiques (Deng *et al.* 1999). La popularité de la glycosylation de Schmidt dans les transformations glycosidiques est attribuée aux conditions acides douces ainsi qu'aux opportunités à modifier la sélectivité α/β par l'intermédiaire de différents donneurs de trichloroacétimides de glycosyles et/ou par les réactifs de couplages (Wang 2010). Les trichloroacétimides (TCA) sont synthétisés par la réaction du trichloroacétonitrile sur la fonction hydroxyle du carbone anomérique d'un sucre protégé en présence d'une base (Cs_2CO_3). Le temps d'activation de la position anomérique va se faire en 4 heures (Larson et Heathcock 1997) en formant le trichloroacétimide α -glycosyle (Wang 2010), configuration qui sera validée par RMN. L'utilisation la plus courante des TCA est la réaction avec une fonction alcool (position C-3 de l'aglycone) en présence d'un catalyseur, un acide de Lewis ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, TMSOTf). Durant cette réaction, l'utilisation des groupements protecteurs participants (acétates, benzoyles) favorise la formation de liens 1,2-*trans*-glycosidiques (Schmidt 1986).

La réaction de glycosylation permet d'établir un lien glycosidique entre deux sections moléculaires. Elle fait intervenir un donneur de glycoside, soit le sucre portant un substituant nucléofuge (X) en position anomérique et un accepteur de glycoside, soit l'alcool qui reçoit ce substituant, comme le montre la figure 16. Le donneur porte un substituant électronégatif qui est transformé en groupement partant sous l'action d'un promoteur (TMSOTf, $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$). Ce dernier est souvent utilisé en quantité catalytique en présence de tamis moléculaires afin de rendre le milieu extrêmement anhydre. La présence d'humidité (eau) peut conduire à l'hydrolyse du sucre activé.

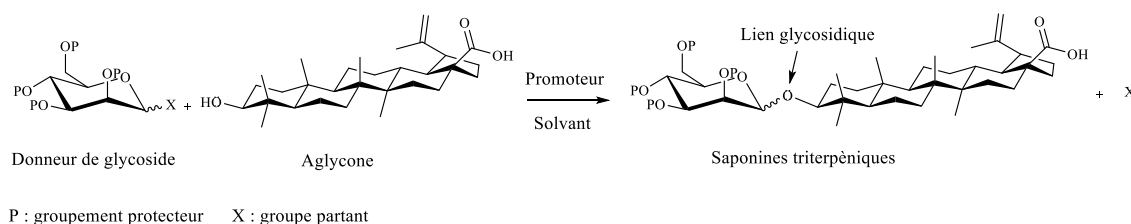


Figure 16 : Schématisation de la réaction de glycosylation.

Chapitre 2 : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

2.1. Synthèse des donneurs de glycosides

2.1.1. Synthèse du donneur 3-carbamoylmannoside selon la voie classique

Le donneur de glycoside **21** portant le carbamate en position C-3 a été synthétisé selon le schéma rétrosynthétique illustré à la figure 17 (Boger et Honda 1994). Le donneur de glycoside **21** a été préparé en neuf étapes. La fonction trichloroacétimide a été installée sur le composé **33** après une étape de déprotection de l'acétate anomérique. Le carbamate en position 3 a été obtenu à partir de l'alcool **31** par une séquence d'activation et de carbamoylation. Le composé **31** provient de **28** après une déprotection du benzyle et une péracétylation. La différenciation de la position 3 et de la position 2 a été réalisée sur les acétals **26** et **27** qui sont obtenus du 1-méthyl- α -D-mannopyranose commercial.

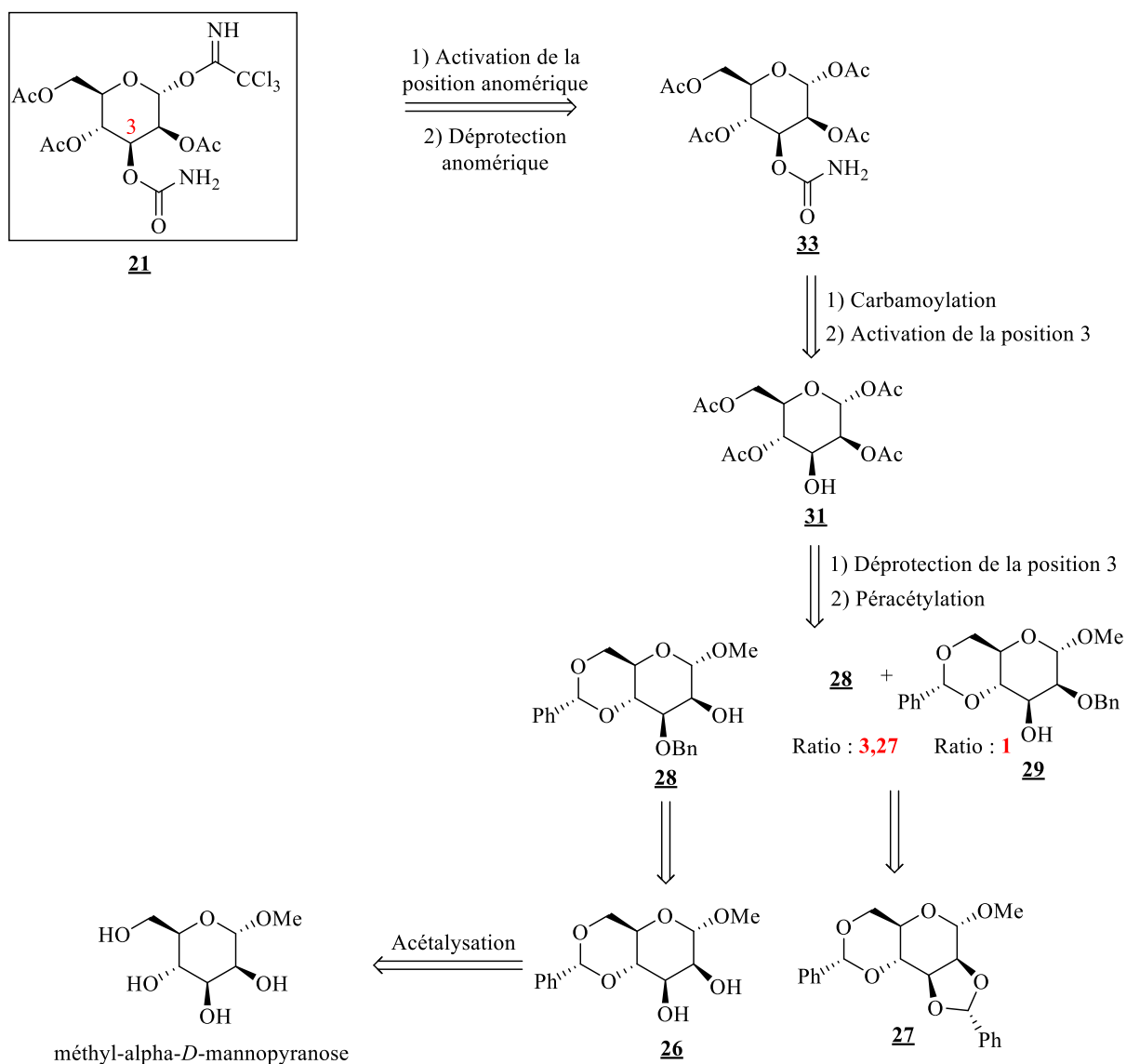


Figure 17 : Rétrosynthèse du donneur de glycoside **21** par la voie de synthèse initiale.

2.1.1.1. Protection des hydroxyles en positions 4 et 6 et en positions 2 et 3

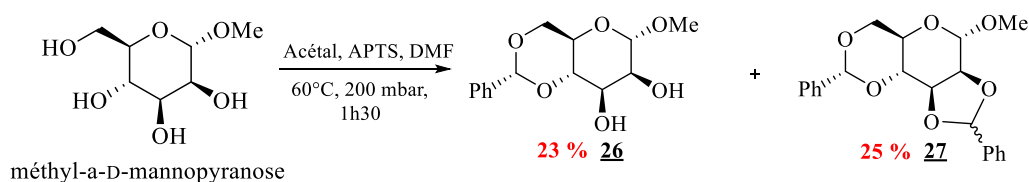


Figure 18 : Synthèse de l'acétal **26** et du diacétal **27**.

Les composés **26** et **27** ont été obtenus à partir du 1-méthyl- α -D-mannopyranose commercial par réaction d'acétalisation en présence du diméthylacétal de benzaldéhyde et d'acide para-toluène sulfonique (APTS) dans le diméthylformamide (DMF) à 60°C et

sous-pression réduite (Poláková *et al.* 2009). Les produits sont ainsi préparés avec un faible rendement de 23 % et 25 % qui s'expliquent par la formation d'un produit secondaire qui est celui du diacétal **27-*exo*** (figure 18).

L'acétal est activé en milieu acide, conduisant à la libération d'une molécule de méthanol et à la formation d'un ion oxonium qui est attaqué par une fonction alcool du sucre. Après l'élimination d'une seconde molécule de méthanol, un nouvel ion oxonium est formé et piégé par l'alcool adjacent du sucre pour former le produit attendu. La réaction est équilibrée et la pression réduite sert à évaporer le méthanol formé pour déplacer l'équilibre vers le produit attendu (figure 19).

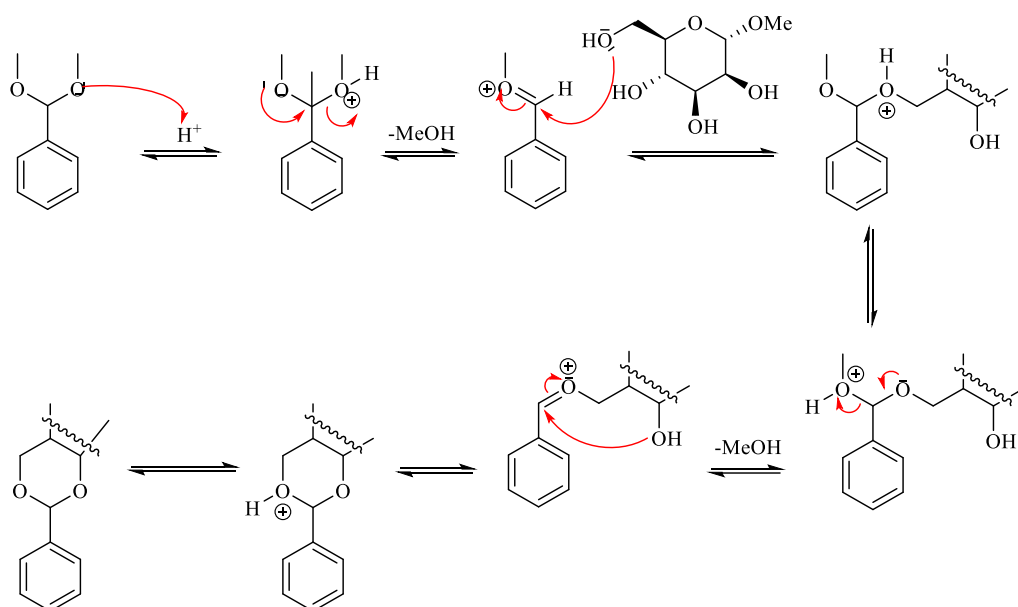


Figure 19 : Mécanisme d'acétalisation.

2.1.1.2. Différenciation des positions 2 et 3 du sucre

1^{ère} stratégie :

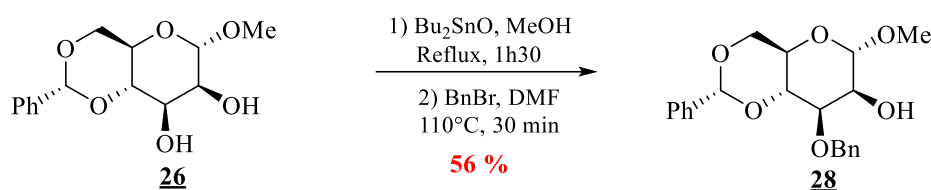


Figure 20 : Synthèse du composé **28**, protégé régiosélectivement en position 3.

La première stratégie mise en œuvre pour différencier la position 3 du sucre passe par la formation d'un intermédiaire acétal stannylène. Le méthyl-4,6-*O*-benzylidène-3-*O*-benzyl- α -D-mannopyranoside **26** réagit avec de l'oxyde de dibutyl étain pour former un intermédiaire qui est connu pour s'ouvrir régiosélectivement (Boger et Honda 1994) en présence de bromure de benzyle pour donner le produit benzylé en position 3 **28** attendu avec un rendement global de 56 % sur 2 étapes. Le rendement n'étant pas optimal, une deuxième stratégie a été envisagée.

2^{ème} stratégie :

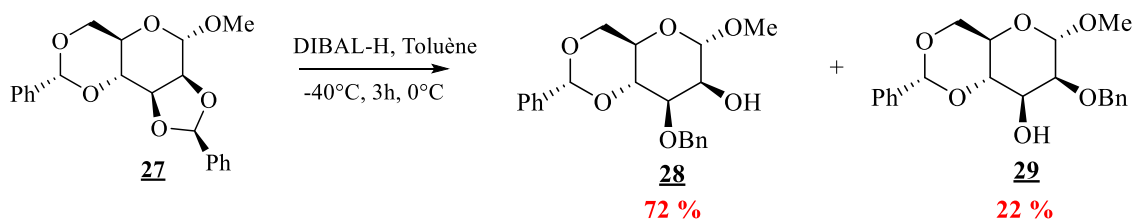


Figure 21 : Synthèse des composés **28** et **29**, différenciés par leur groupement protecteur en position 3 ou en position 2.

Le diacétal **27-exo** peut être réduit régiosélectivement en présence de DIBAL-H dans le toluène à basse température (Tanaka *et al.* 2008). Le produit attendu **28** a été obtenu régiosélectivement avec un rendement de 72 %. Il y a tout de même la formation du produit secondaire **29** à hauteur de 22 %. La combinaison du produit benzylé **28** (en position 3) obtenu selon les deux approches de synthèse a permis de disposer d'une quantité suffisante pour poursuivre la synthèse.

2.1.1.3. Péracétylation

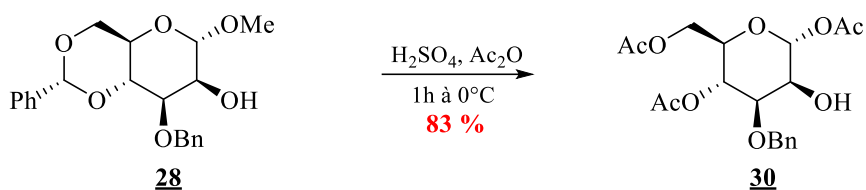


Figure 22 : Synthèse du composé péracétylé **30**.

Le composé **28** réagit avec de l'anhydride acétique en présence d'une quantité catalytique d'acide sulfurique (Boger et Honda 1994). Cette étape s'effectue avec de bons rendements. L'anhydride acétique est activé par la présence d'acide, ce qui augmente le caractère électrophile et permet à une fonction hydroxyle du sucre d'attaquer le dit carbone. Après le transfert d'un proton sur l'intermédiaire tétraédrique, le produit attendu **30** a été formé en éliminant une molécule d'acide acétique. La présence des quatre signaux caractéristiques des acétates est confirmée par l'apparition de quatre singulets, chacun intégrant pour trois protons vers 2 ppm.

2.1.1.4. Hydrogénation catalytique

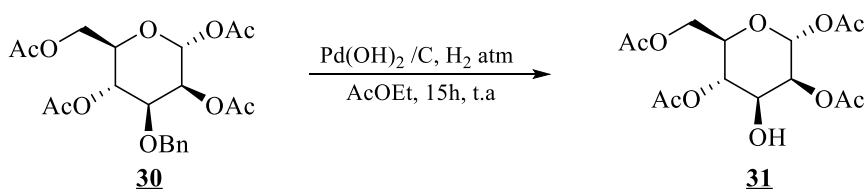


Figure 23 : Synthèse du composé **31**, hydrogéné en position 3.

La position 3 a ensuite été déprotégée pour former l'intermédiaire **31**. Il s'agit de la réduction du benzyle. Afin d'éviter le transfert d'acétate, l'utilisation d'hydroxyde de palladium comme catalyseur pendant l'hydrogénation a été privilégiée. Le produit obtenu a été engagé dans l'étape suivante sans purification (Millar *et al.* 1986). La position de la fonction hydroxyle a été confirmée par RMN. En effet, le spectre COSY du composé déprotégé en position 3 montre que le proton anomérique, à 6,12 ppm, corrèle avec le proton en position 2 à 5,14 ppm qui corrèle lui-même avec le proton en position 3 à 4,10 ppm, qui corrèle ensuite avec le proton en position 4 à 5,14 ppm. Le fait que le signal du

proton en position 3 soit nettement moins déblindé que les signaux des protons en position 2 et 4 indiquent l'absence du groupement acétate électroattracteur à cette position.

2.1.1.5. Activation du site réactionnel

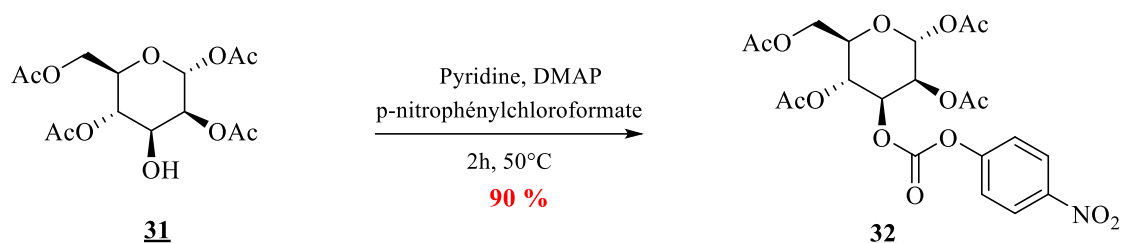


Figure 24 : Synthèse du carbonate activé **32**.

L'alcool **31** obtenu réagit avec du chloroformate de para-nitrophényle en présence de DMAP et de pyridine pour donner l'intermédiaire de carbonate activé **32** avec un excellent rendement de 90 %. La DMAP attaque le chloroformate pour former un acyle pyridinium activé *via* un intermédiaire tétraédrique. Il est à son tour attaqué par l'hydroxyle du sucre pour régénérer la DMAP et conduire au carbonate.

2.1.1.6. Condensation de l'ammoniac

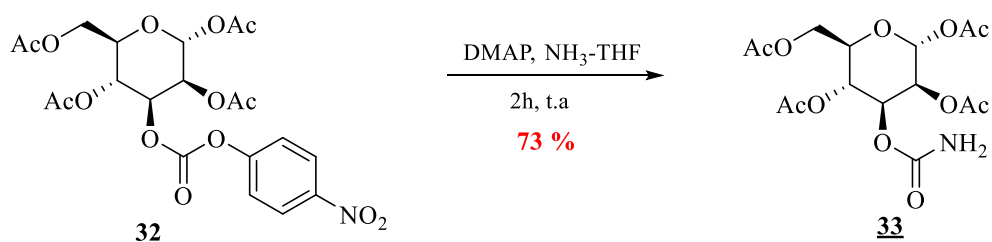


Figure 25 : Synthèse du composé **33** comportant le motif carbamate en position 3 du sucre.

La fonction carbonate permet d'introduire une molécule d'ammoniac et ainsi d'incorporer le motif carbamate. Un essai préliminaire a été réalisé en présence de 5 équivalents d'ammoniac (Boger et Honda 1994) et 1,2 équivalent de DMAP afin de synthétiser les produits souhaités. Il a conduit à rendement moyen de 43 %. Dans ce contexte, quelques essais d'optimisation de conditions opératoires ont été effectués.

Comme le montre le tableau 8, le rendement a considérablement été amélioré en abaissant la quantité d'ammoniac, en réduisant la quantité de DMAP et en diminuant le temps de la réaction. Ainsi, le composé **33** avec un carbamate en position 3 a été obtenu avec un rendement de 73 %.

Tableau 8 : Optimisation des conditions de réaction de la condensation de l'ammoniac.

Essais	NH ₃ (0,4 M)	DMAP	durée	rendement
1	5 équiv.	1,2 équiv.	4h	43%
2	8 équiv.	0,2 équiv.	2h	60%
3	2 équiv.	0,2 équiv.	2h	73%

Le spectre RMN du proton a confirmé l'élimination du carbonate activé par l'absence des signaux caractéristiques des protons aromatiques entre 8,6-7 ppm pour laisser place au motif carbamate. Un singulet intégrant pour deux protons apparaît à 4,71 ppm, caractéristique des protons NH₂ du carbamate en position 3.

2.1.1.7. Déprotection anomérique

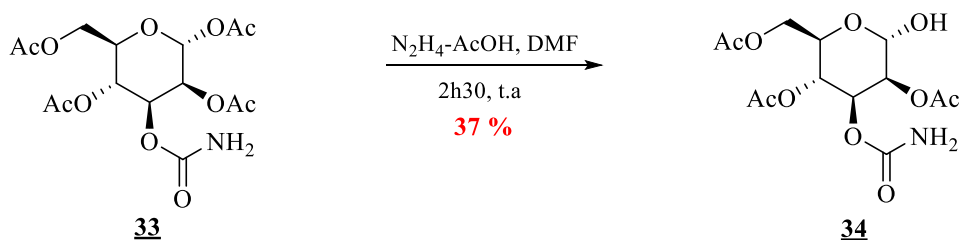


Figure 26 : Synthèse du composé **34**, déprotégé en position anomérique.

Cette étape consiste à déprotéger la position anomérique (Excoffier *et al.* 1975). Elle a été réalisée en présence d'acétate d'hydrazine dans le DMF. Le composé **34** a été obtenu avec un faible rendement de 37 %. Ce faible rendement s'explique par un éventuel manque de réactivité de la part de l'acétate d'hydrazine. Donc il semblerait que le manque de réactivité de l'acétate d'hydrazine envers le composé carbamoylé serait dû à la présence du carbamate. L'absence du signal de l'acétate anomérique a été confirmée par RMN. Effectivement, il y a disparition d'un signal caractéristique du proton de l'acétate

pour laisser apparaître un nouveau signal caractéristique du proton anomérique aux alentours de 5 ppm.

Auparavant, une première méthode de déprotection avait été réalisée en présence de benzylamine dans le THF (Boger et Honda 1994). Un rendement de 48 % avait été obtenu, mais le produit était difficile à séparer de l'acétate de benzylamine, résultat du transfert de l'acétate. Les rapports frontaux étaient très proches. En effet, 0,25 pour le composé **34** et 0,30 pour l'acétate de benzylamine. Deux purifications sur colonne de silice ont été nécessaires pour les séparer.

En revanche, une autre méthode de déprotection des acétates aurait pu être utilisée pour améliorer le rendement à hauteur de 85 % (Che *et al.* 2017). Le composé **33** aurait été dissous dans le THF et mis en présence d'une solution de 4 mol/L de $\text{NH}_3\text{-CH}_3\text{OH}$. Le mélange réactionnel aurait été agité à température ambiante pendant 4 h et condensé sous pression réduite. Puis, le résidu aurait été purifié par chromatographie sur colonne (SiO_2 , éther de pétrole : EtOAc $\frac{1}{4}$, 1:2) pour obtenir le composé **34** (Che *et al.* 2017).

2.1.1.8. Activation du sucre

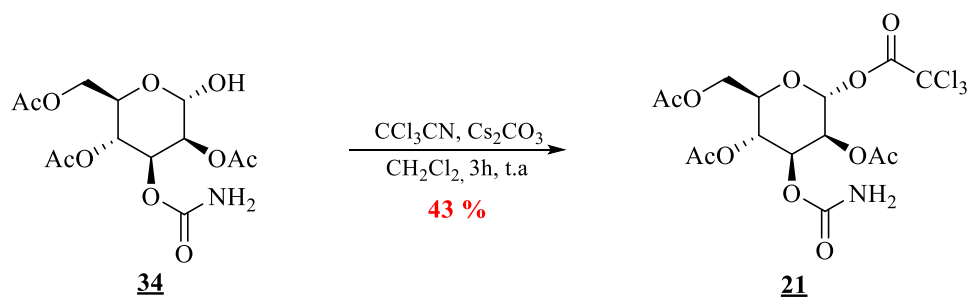


Figure 27 : Synthèse du donneur de glycoside **21**.

L'étape finale de la synthèse du donneur de glycoside est l'activation de la position anomérique sous forme de trichloroacétimidate (Schmidt 1986). Le composé carbamoylé **34** réagit avec le trichloroacétonitrile en présence d'une quantité catalytique de carbonate de césium comme illustré à la figure 28. Le carbonate déprotone le proton de l'hémiacétal, l'anion ainsi formé attaque le trichloroacétonitrile. L'imidure ainsi obtenu déprotone à son

tour un hémiacétal pour conduire au trichloroacétimide attendu ainsi qu'à un nouvel anion prêt à réagir à son tour. Donc, le composé **21** carbamoylé en position 3 a été obtenu avec un rendement de 43 % sans optimisation. Ce rendement moyen peut s'expliquer par la formation d'un produit secondaire moins polaire avec un rapport frontal de 0,83 contre un rapport frontal de 0,57 pour le composé **21**. La présence du groupement trichloroacétimide a été confirmée par l'apparition d'un proton caractéristique porté par la fonction NH aux alentours de 8 ppm. De plus, l'installation du groupement TCA a bien été confirmée par la disparition du proton anomérique à 4,64 ppm.

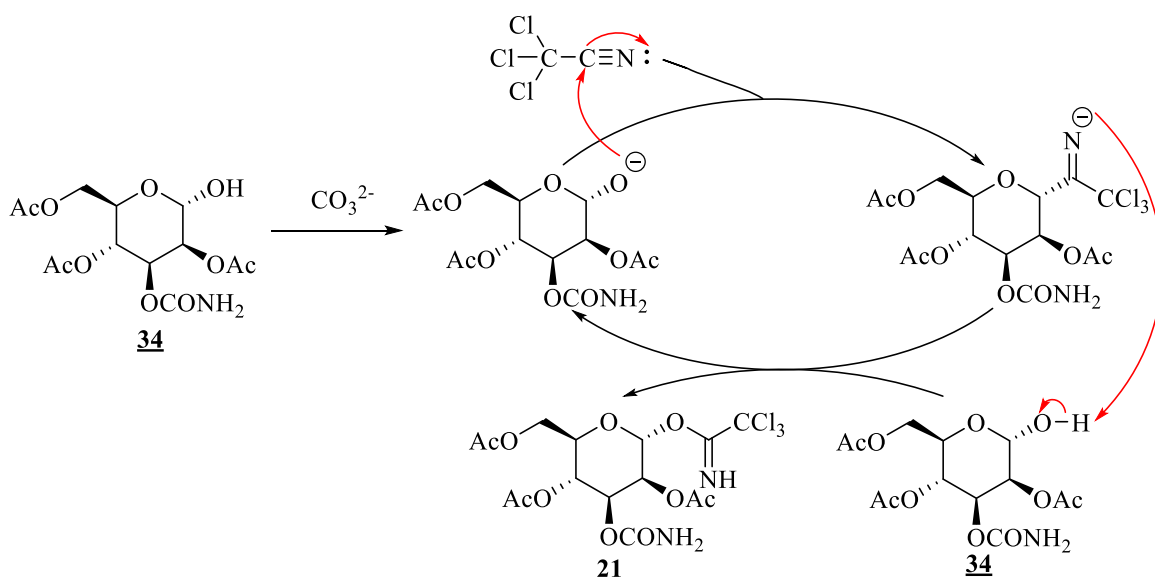


Figure 28 : Mécanisme réactionnel illustrant l'activation du sucre grâce au TCA.

2.1.2. Synthèse du donneur 3-carbamoylmannoside selon la nouvelle stratégie de synthèse mise au point au sein du laboratoire

Une nouvelle stratégie de synthèse est indispensable dans le but de synthétiser le donneur de glycoside carbamoylé en position 3 afin de réduire le nombre d'étapes de synthèses et d'optimiser les rendements.

Le donneur de glycoside **22** portant le carbamate en position C-3 a été synthétisé selon le schéma rétrosynthétique illustré à la figure 29. Le donneur de glycoside **22** a été préparé en cinq étapes. La fonction trichloroacétimide a été installée sur le composé **40**

après une étape de déprotection de l'acétate anomérique. Le composé **39** provient de **38** après une étape de péracétylation. Le carbamate en position 3 a été directement incorporé à partir de l'alcool **35** par une séquence de carbamoylation. Le composé **35** est obtenu à partir du 1-méthyl- α -D-mannopyranose commercial après une étape de protection en position 6 du mannoside.

Cette séquence multi-étapes a été réalisée sept fois afin de parvenir au donneur de glycoside **10**. Chaque rendement évoqué est la moyenne de tous les essais effectués.

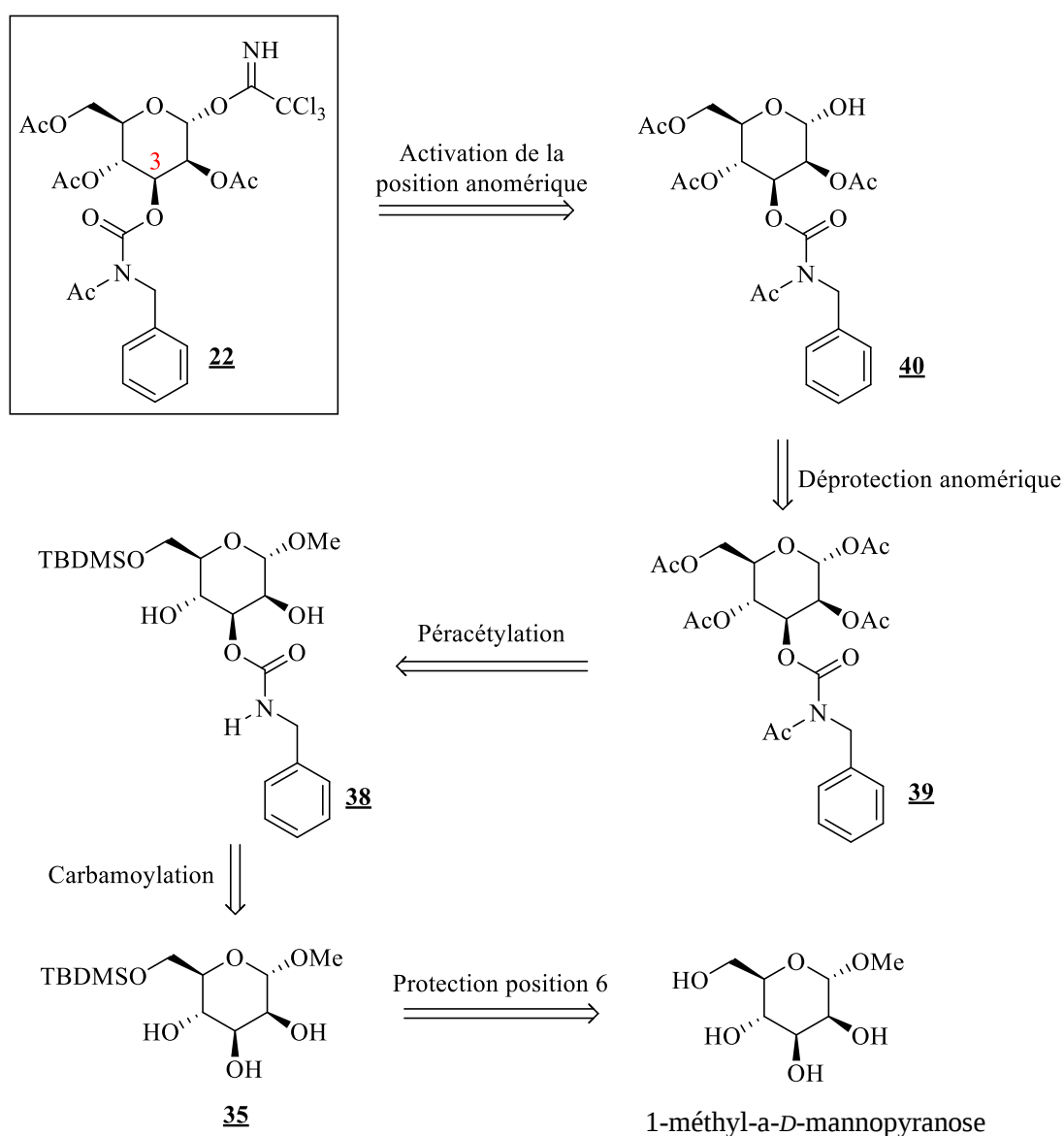


Figure 29 : Rétrosynthèse du donneur de glycoside **22**.

2.1.2.1. Préparation du produit de départ

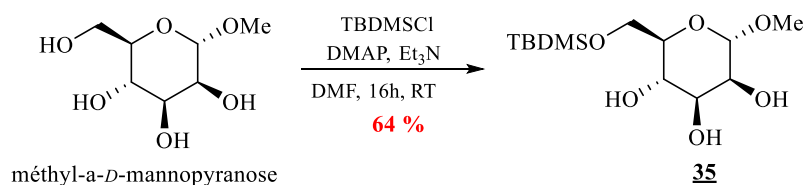


Figure 30 : Synthèse du réactif **35** pour la préparation du donneur de glycoside **22**.

Le 1-méthyl- α -D-mannopyranose commercial réagit avec du *tert*-butylchlorodimethylsilane en présence de DMAP et de triéthylamine dans le DMF (Chan et Taylor 2011) pour former le réactif **35** avec un rendement de 64 %.

2.1.2.2. Préparation du catalyseur

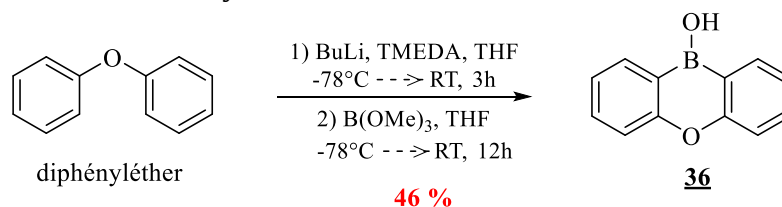


Figure 31 : Synthèse du catalyseur **36** intervenant dans la synthèse du donneur de glycoside **21**.

Les catalyseurs de types borinates sont utilisés pour l'activation régiosélective des groupements hydroxyles pour les motifs 1,2- et 1,3-diol. Cette sélectivité est très élevée pour les groupements hydroxyles équatoriaux de substrats pyranosides (Dimitrijevi et Taylor 2013). Dans notre cas, l'activation régiosélective qui nous intéresse est en position 1,3-diol pour ensuite recevoir le motif carbamate par carbamoylation. L'utilisation de catalyseurs boriniques tel que le composé **36** fournit un accès direct au dérivé borinate tétracoordonné, permettant de servir de nucléophiles activés. Donc, c'est un catalyseur efficace pour des réactions d'acylation, d'alkylation, de sulfonylation et de glycosylation sur des dérivés glucidiques (Dimitrijevi et Taylor 2013). Ce mode de catalyse exploite les interactions covalentes fortes, sélectives et réversibles entre les composés organoborés et les diols. De plus, ce type de catalyseur serait stable et résistant à l'oxydation et donc

éviterait l'utilisation d'un pré-catalyseur dérivé d'un amino-alcool ainsi que la génération de sous-produits dérivés d'un ligand (Dimitrijevi et Taylor 2013).

Cette réaction est très délicate, car elle fait intervenir un réactif, le butyllithium (BuLi) qui est reconnu pour être inflammable et très réactif au contact avec l'air. Cette réaction est réalisée en deux étapes distinctes. Le produit de départ et le diphenyléther vont réagir avec le *N,N,N',N'*-tétraméthyléthylènediamine (TMEDA) en présence de BuLi dans le THF à température ambiante. Le triméthylborate (B(OMe)₃) a été ajouté et le milieu réactionnel (Dimitrijevi et Taylor 2013) a été agité à température ambiante toute une nuit pour former le catalyseur **36** avec un rendement de 46 %. Ce rendement moyen peut s'expliquer en raison d'un problème lors de la recristallisation. Plusieurs tentatives de recristallisation ont été nécessaires pour obtenir le produit avec une bonne pureté.

2.1.2.3. Préparation du réactif de carbamoylation

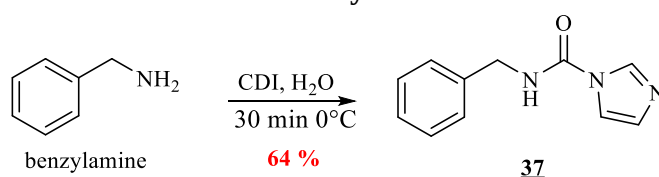


Figure 32 : Synthèse du réactif de carbamoylation **37** intervenant dans la synthèse du donneur de glycoside **22**.

La benzylamine réagit avec du carbonylimidazole en présence d'eau à basse température (Padiya *et al.* 2012) pour obtenir le réactif de carbamoylation **37** avec un rendement satisfaisant de 64 %.

2.1.2.4. Carbamoylation sélective du dérivé de mannose partiellement protégé

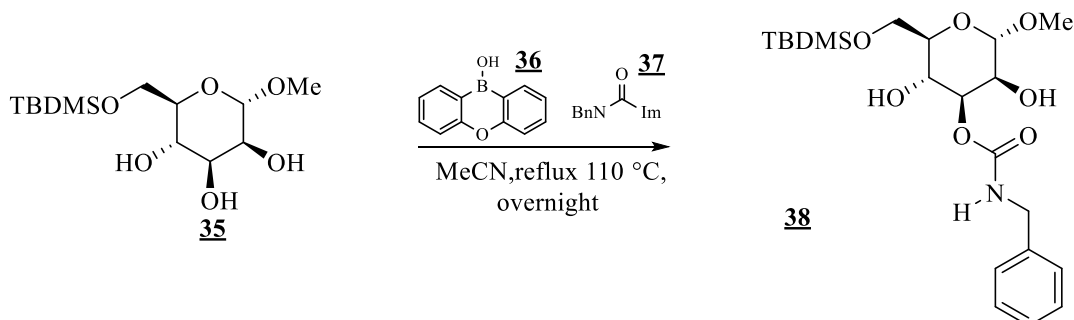


Figure 33 : synthèse du composé **38** carbamoylé en position 3.

Cette étape permet d'installer directement le composé carbamate protégé par un benzyle, ce qui représente un gain de temps important, comparativement à la voie de synthèse initiale, qui nécessite quatre étapes pour obtenir le motif carbamate. Le composé **35** réagit avec le catalyseur **36** en présence du réactif de carbamoylation **37** dans l'acétonitrile à haute température toute une nuit pour former l'intermédiaire **38** avec un excellent rendement de 83 % (figure 34). Les spectres RMN ont confirmé l'ajout du motif carbamate en position 3 grâce à l'apparition des signaux aromatiques caractéristiques du benzyle vers 7 ppm intégrant pour cinq protons, mais également le signal du proton de la fonction NH vers 5 ppm.

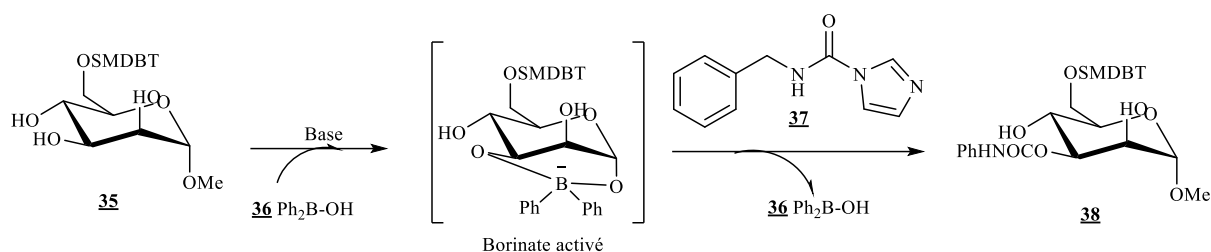


Figure 34 : Visualisation de la réaction de carbamoylation.

2.1.2.5. Péracétylation

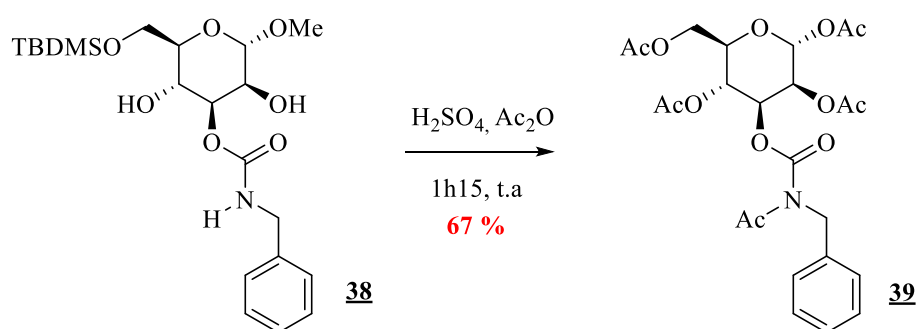


Figure 35 : Synthèse du composé péracétylé **39**.

L'intermédiaire **38** réagit avec de l'anhydride acétique en présence d'une quantité catalytique d'acide sulfurique. Cette étape a été effectuée avec un rendement convenable

de 67 %. Les spectres RMN ont confirmé la présence des cinq groupements acétates entre 2,5 ppm (groupe acétate sur l'azote du carbamate) et 1,8 ppm.

2.1.2.6. Déprotection anomérique

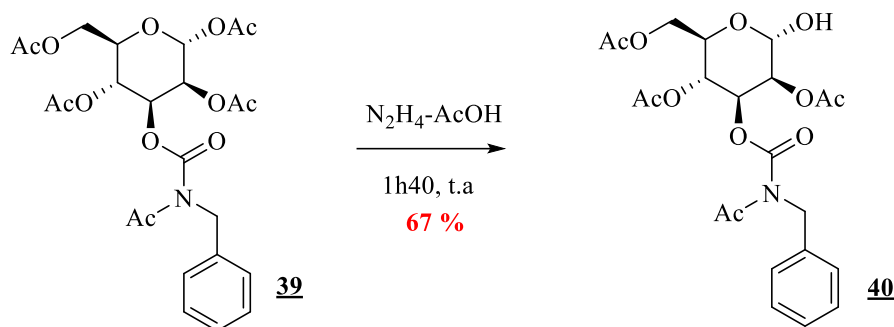


Figure 36 : Synthèse du composé **40** déprotégé en position anomérique.

Cette étape consiste à déprotéger la position anomérique en faisant intervenir le composé **39** en présence d'acétate d'hydrazine (Excoffier *et al.* 1975) dans le DMF afin d'obtenir le composé péracétylé **40** avec un rendement moyen de 67 %. Le spectre RMN du proton a confirmé la déprotection anomérique par l'absence d'un groupement acétate aux alentours de 2 ppm et l'apparition d'un proton anomérique à 5,39 ppm.

2.1.2.7. Donneur de glycoside

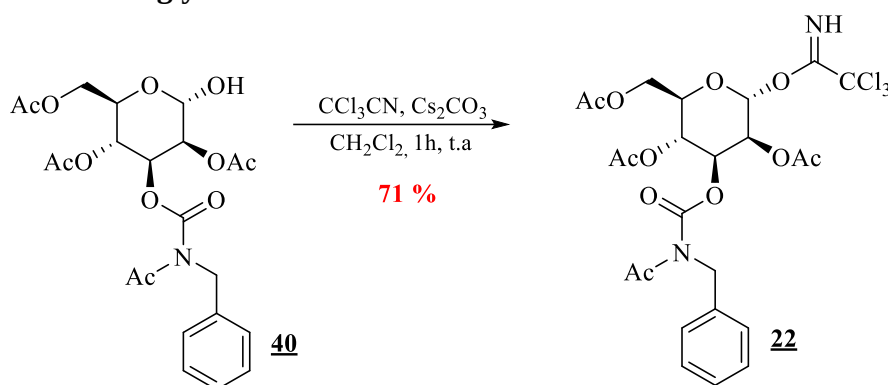


Figure 37 : Synthèse du donneur de glycoside **22**.

L'étape finale de la synthèse du donneur de glycoside est l'activation de la position anomérique sous forme de trichloroacétimide. L'hémiacétal **40** réagit avec le trichloroacétonitrile en présence d'une quantité catalytique de carbonate de césium pour former le composé **22** avec un bon rendement de 71 %.

Ainsi, la nouvelle stratégie de synthèse mise au point au sein du laboratoire se fait relativement bien en trois étapes avec de très bons rendements, contrairement à la voie initiale qui nécessite cinq étapes supplémentaires pour parvenir au donneur de glycoside. Cette nouvelle stratégie de synthèse, encore non décrite, est réellement plus rapide.

2.1.3. Synthèse du donneur de *D*-mannose

Le donneur de glycoside **23** dénué du carbamate en position C-3 a été synthétisé selon le schéma rétrosynthétique illustré à la figure 38. Le donneur de glycoside **23** a été préparé en trois étapes avec un rendement global de 75 %. La fonction trichloroacétimidate a été installée sur le composé **42** après une étape de déprotection de l'acétate anomérique. Le composé **42** provient du composé **41** après une étape de déprotection de l'acétate anomérique et une péracétylation à partir du *D*-mannose commercial. Les données spectrales ^1H et ^{13}C des composés sont conformes à la littérature (Kalograiaki *et al.* 2018).

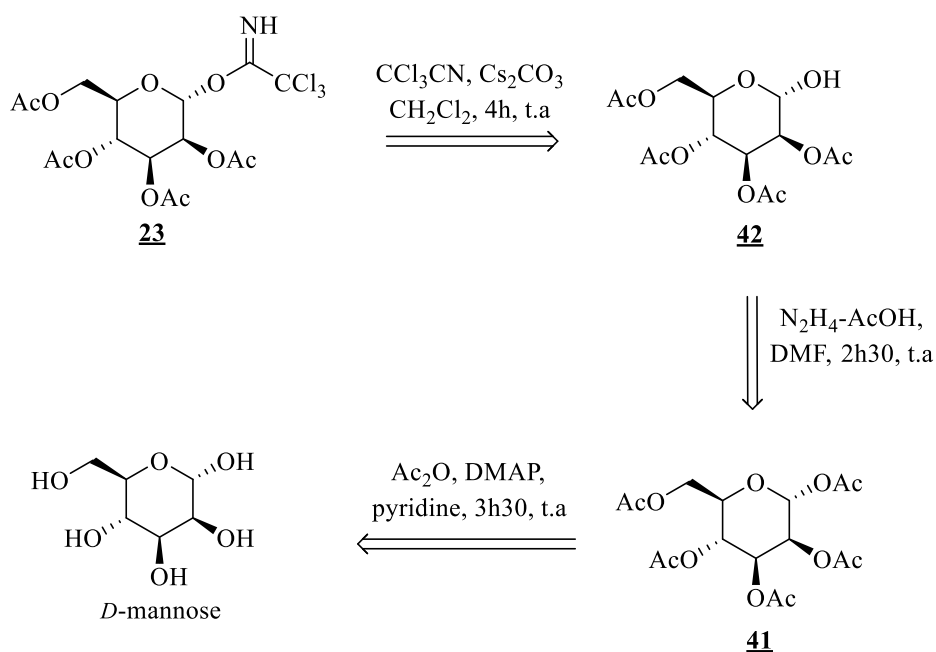


Figure 38 : Rétrosynthèse du donneur de glycoside **23** dépourvu du carbamate.

2.2. Synthèse des glycosides d'acide bétulinique

2.2.1. Préparation du composé carbamoylé en position 3 selon la voie de synthèse classique

L'approche de synthèse du composé d'intérêt de la séquence carbamoylée en position 3 est détaillée dans le schéma rétrosynthétique à la figure 39. Le composé **24** avec le carbamate en position 3 a été obtenu après une déprotection du benzyle du benzylbetulinate. L'intermédiaire protégé en position C-28 du composé **45** a été formé après une déprotection des acétates de la section sucre. Le composé **44** est issu d'une glycosylation entre le donneur de glycoside **21** et le composé **43** c'est-à-dire le benzylbétulinate, préalablement préparé à partir de l'acide bétulinique commercial **4**.

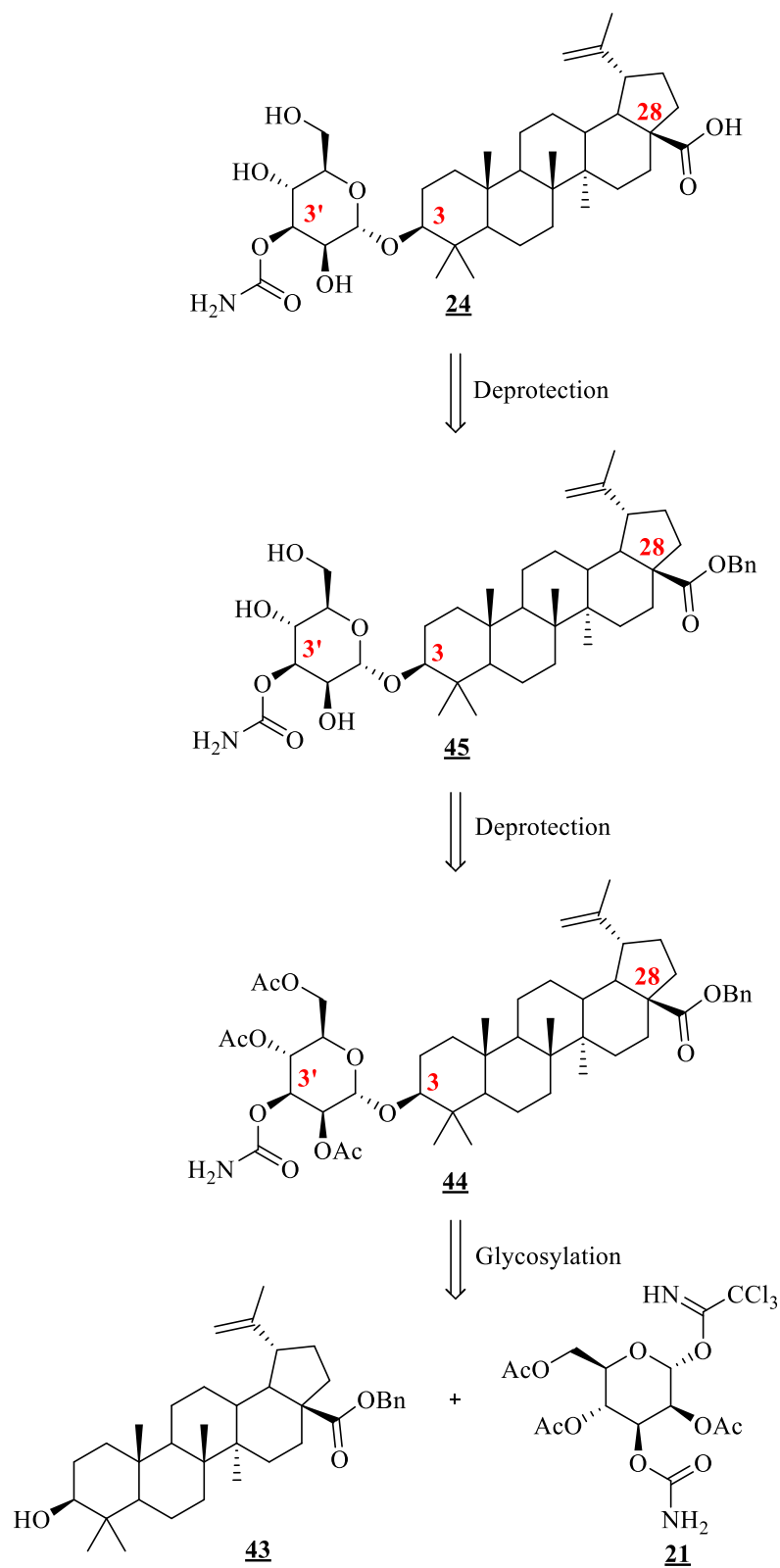


Figure 39 : Rétrosynthèse du composé **24**.

2.2.1.1. Glycosylation

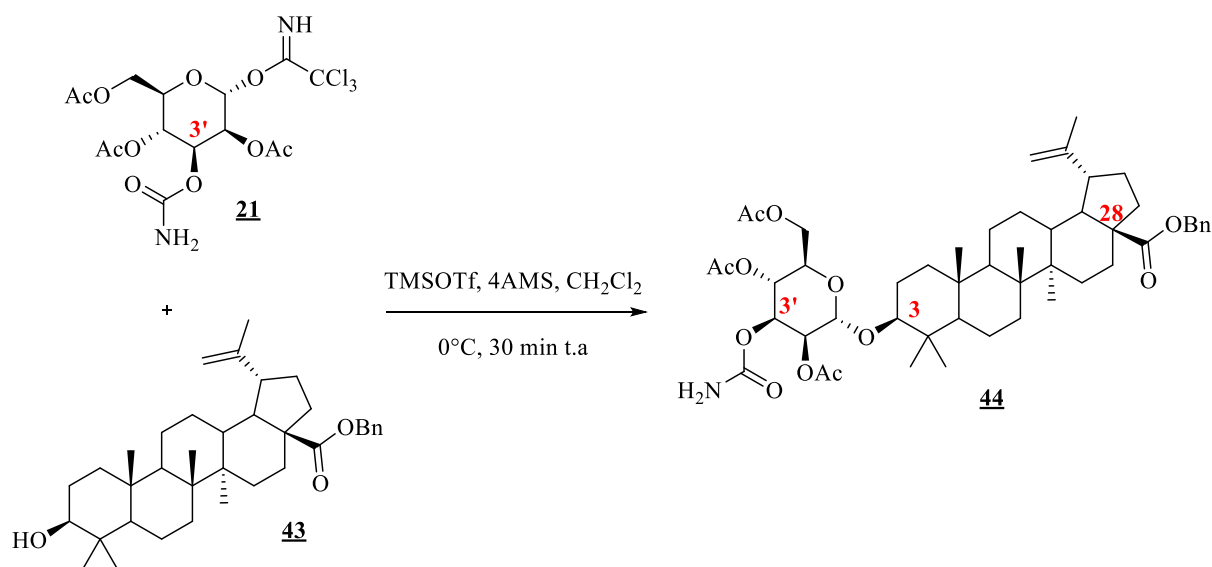


Figure 40 : Glycosylation du composé **44** carbamoylé en position 3.

Le composé **44** a été obtenu suite au couplage du donneur **21** et de l'accepteur **43** en présence du promoteur, le TMSOTf à 0°C pendant trente minutes.

Le TMSOTf a été utilisé, en quantité catalytique, en présence de tamis moléculaires non activés pour ainsi former le produit souhaité **44** avec un rendement de 38 %. Ce faible rendement peut s'expliquer en partie par une mauvaise activation du tamis moléculaire. De plus, à la suite de la réaction de glycosylation, une neutralisation avec une solution de NaHCO₃ saturée est effectuée comme mentionné dans la procédure D de la partie expérimentale. Cette méthode de neutralisation pourrait expliquer le faible rendement de glycosylation obtenu, l'utilisation de triéthylamine pour neutraliser l'excès d'acide aurait pu être privilégié.

Au niveau mécanistique (figure 41), le trichloroacétimide est activé par le trifluorométhane sulfonate de triméthylsilyle, ce qui conduit à la formation d'un ion oxonium. Le produit est ensuite stabilisé par l'acétate en position 2 du sucre (effet anchimérique), ce qui force l'attaque de l'aglycone du côté opposé pour former l' α -glycoside **44**. Ceci peut être validé par la RMN du produit. Le spectre HMBC présente

notamment une corrélation entre le proton en position 3 de l'acide bétulinique et le carbone anomérique et entre le proton anomérique et le carbone en position 3 de l'acide bétulinique, ce qui garantit que la réaction de glycosylation s'est produite. La stéréochimie de la position anomérique est confirmée par une expérience de ^{13}C couplée qui indique une constante de couplage de $^1J_{\text{C1-H1}} = 168,9 \text{ Hz}$ entre le proton et le carbone anomérique caractéristique d'un α -mannoside (Tvaroska et Gajdos 1995; Bubb 2003).

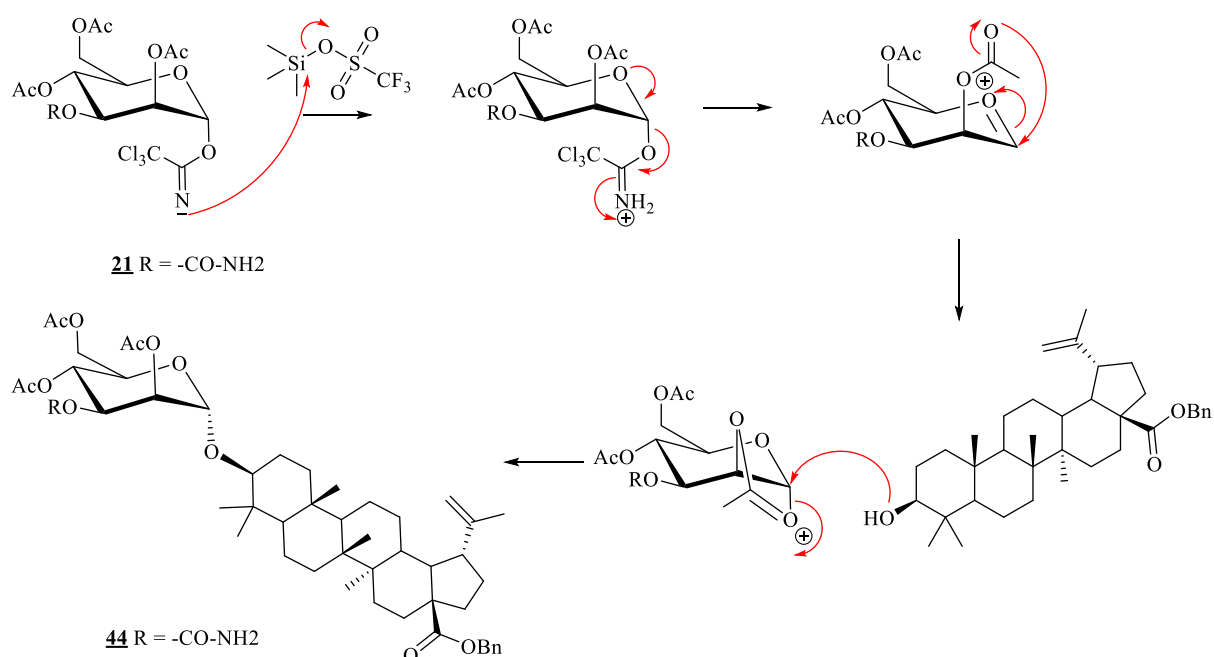


Figure 41 : Mécanisme de la glycosylation de Schmidt.

2.2.1.2. Déprotection des acétates du sucre du composé **44**

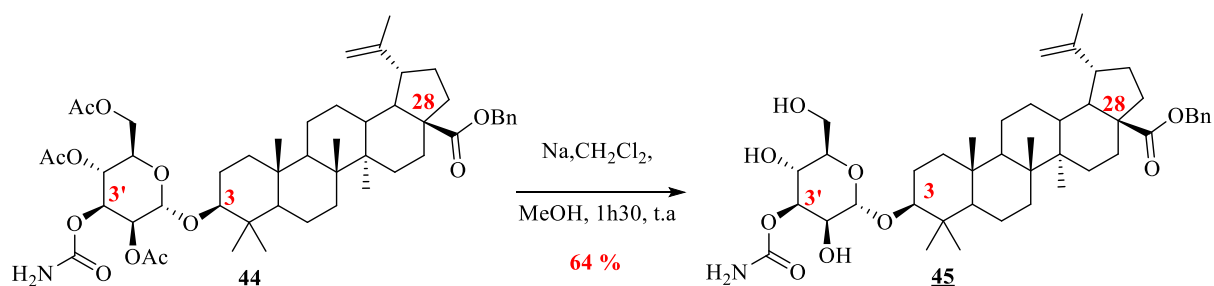


Figure 42 : Synthèse du composé **45** après déprotection des acétates.

Le composé **45** a été obtenu après une déprotection des acétates du sucre grâce au sodium métallique directement incorporé dans le milieu réactionnel. Cette approche a été

concluante, le produit a été obtenu avec un rendement de 64 %. Il aurait été probablement possible d'améliorer le rendement de cette réaction en prolongeant le temps de la réaction. Il faut savoir qu'avant de mettre de l'avant ces conditions de réaction, de multiples essais ont été réalisés avec une solution de méthanolate de sodium dans le méthanol. Pour des raisons de solubilisation du produit final obtenu, le milieu réactionnel employé est un mélange de dichlorométhane-méthanol dans des proportions 1 pour 2 en (v : v). L'obtention du produit **45** a été confirmée par RMN. En effet, il y a la disparition des pics caractéristiques des acétates à 2 ppm, ce qui démontre que les acétates du sucre ne sont plus présents sur le produit formé.

2.2.1.3. Déprotection du benzyle du composé **24**

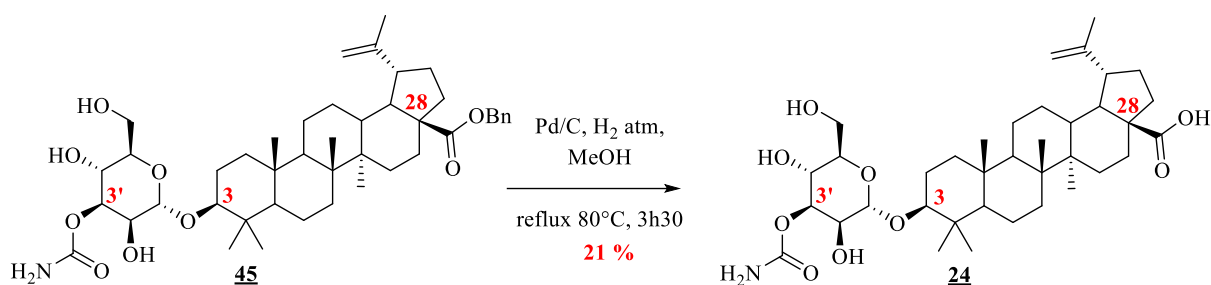


Figure 43 : Synthèse du composé final **24**.

L'étape finale de la synthèse qui permet de clôturer le deuxième objectif de ce projet est la déprotection du benzyle du benzylobétulinate. Le composé **45** a réagi avec du palladium sur charbon sous atmosphère d'hydrogène pendant 3 h 30 à reflux pour former le composé **24** et il a été obtenu avec un rendement de 21 %. Cependant, le composé a été purifié à deux reprises, lors de la première purification, le produit souhaité a co-élué avec le produit de départ encore présent dans le milieu réactionnel. Une deuxième purification a été nécessaire et elle a donc permis d'obtenir le composé **24** en faible quantité (7 mg). Le produit final a d'abord été analysé par RMN du proton afin de déterminer si les pics aromatiques caractéristiques du benzyle avaient disparu. Ces données spectrales ont indiqué qu'il n'y avait plus la présence des signaux aromatiques. Des analyses

complémentaires ont été effectuées afin de gagner de la certitude au niveau de l'identification. Malheureusement, il n'a pas été possible d'enregistrer d'autres spectres RMN (^{13}C , etc) en raison de la faible quantité de produits disponibles. Le produit a tout de même été analysé par HPLC-MS pour déterminer la pureté du produit, mais également sa masse moléculaire exacte. Les résultats présentés à la figure 44 montrent que le produit n'était pas entièrement pur. En effet, le profil HPLC montre également la présence d'autres pics. Les données HPLC-MS dévoilent le rapport m/z de chacun des composés tels que présenté au tableau 9.

Tableau 9 : Listes des signaux m/z du profil HPLC du composé **24**

Profil HPLC (m/z)*	617,3	660,4	661,4	662,4
Attribution**	[M.M(24) - 44,12]	M.M (composé 24)	[M.M(24) +H]	[M.M(24)+2H]
Correspondance	?	$\text{C}_{37}\text{H}_{59}\text{NO}_9$	$\text{C}_{37}\text{H}_{60}\text{NO}_9$	$\text{C}_{37}\text{H}_{61}\text{NO}_9$

* HPLC en mode négatif

** Les signaux m/z ont été attribuées en fonction de la masse moléculaire (M.M) du produit final (24) = 661,42 g.mol⁻¹

Le spectre montre un pic intense à 660,4 m/z, or la masse moléculaire du produit final **24** est de 661,42 g/mol ce qui semble correspondre au produit attendu. Cependant, le spectre montre également la présence d'un pic à 617,3 m/z qui pourrait être le produit sans la fonction carbamate (-59 m/z) en présence d'eau (+18 m/z). Il y a également d'autres signaux à 661,4 m/z et 662,4 m/z qui seraient l'ajout de 1 à 2 protons.

Ainsi, le premier conjugué hybride **24** combinant les propriétés cytotoxiques de l'acide bétulinique et les propriétés de sélectivités du fragment carbamoylmannose n'a malheureusement pas pu être obtenu. La faible quantité et la présence d'impuretés n'ont pas permis de réaliser de tests biologiques.

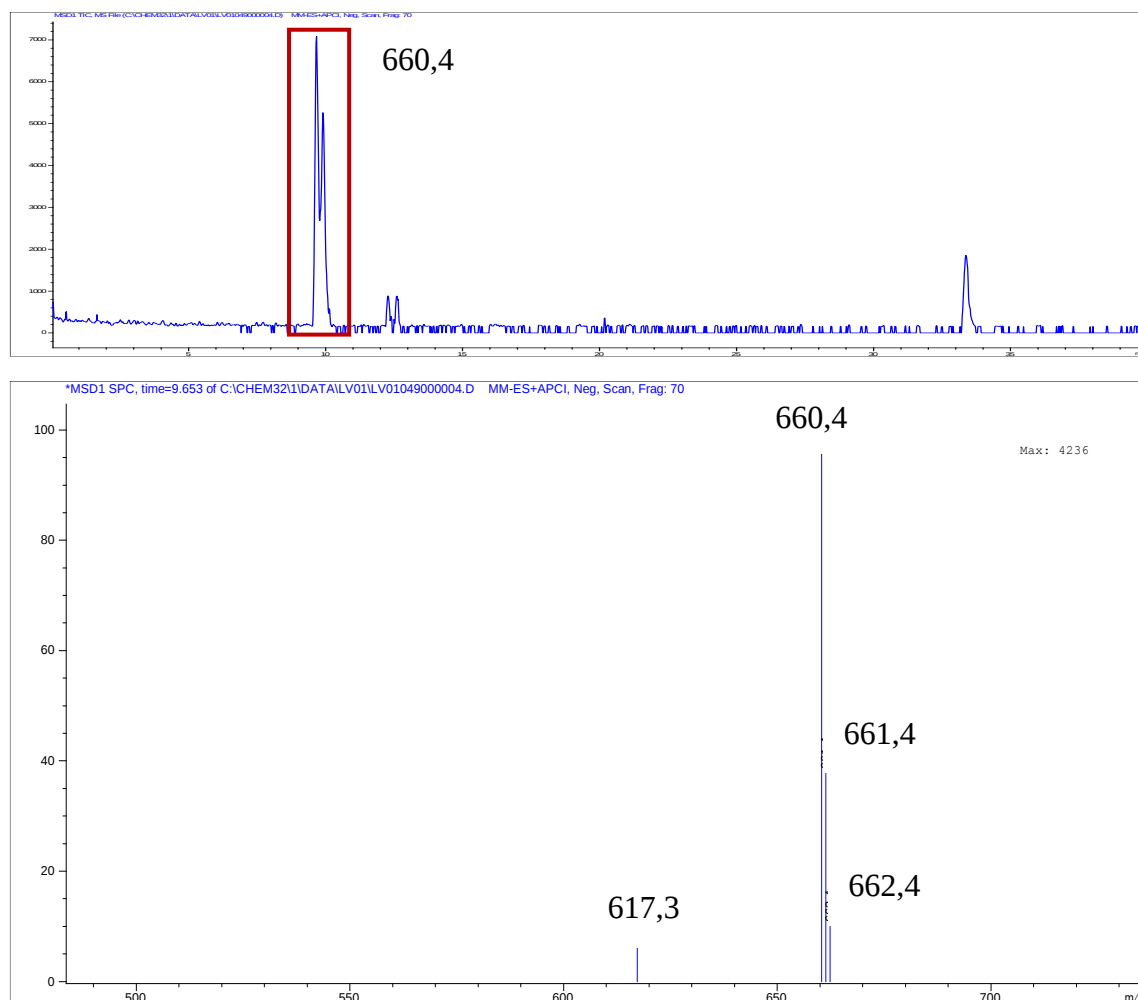


Figure 44 : Profil HPLC-MS du composé final **24** carbamoylé en position 3.

Cependant, la déprotection du benzyle aurait pu être effectuée avant celle des acétates. En effet, lors de cette étape, la solubilisation dans le méthanol n'est pas optimale pour ces types de composés, qui à cette étape ne sont parfaitement solubles que dans des mélanges de solvant polaire (chloroforme-méthanol ou dichlorométhane-méthanol). Une proposition aurait été d'effectuer la déprotection du benzyle en premier dans l'acétate d'éthyle suivi du clivage des acétates par méthanolyse. Le rendement aurait pu être bonifié et il aurait été probablement possible de disposer d'une quantité suffisante pour faire la caractérisation complète de la molécule cible.

2.2.2. Préparation du composé carbamoylé en position 3 selon la nouvelle stratégie de synthèse mise au point au laboratoire

L'approche de synthèse du composé d'intérêt de la séquence carbamoylée en position 3 est exactement la même que celle détaillée à la figure 39. La seule exception est l'ajout d'un groupement benzyle au carbamate en position 3. Cette séquence multi-étapes a été réalisée à cinq reprises.

2.2.2.1. Glycosylation

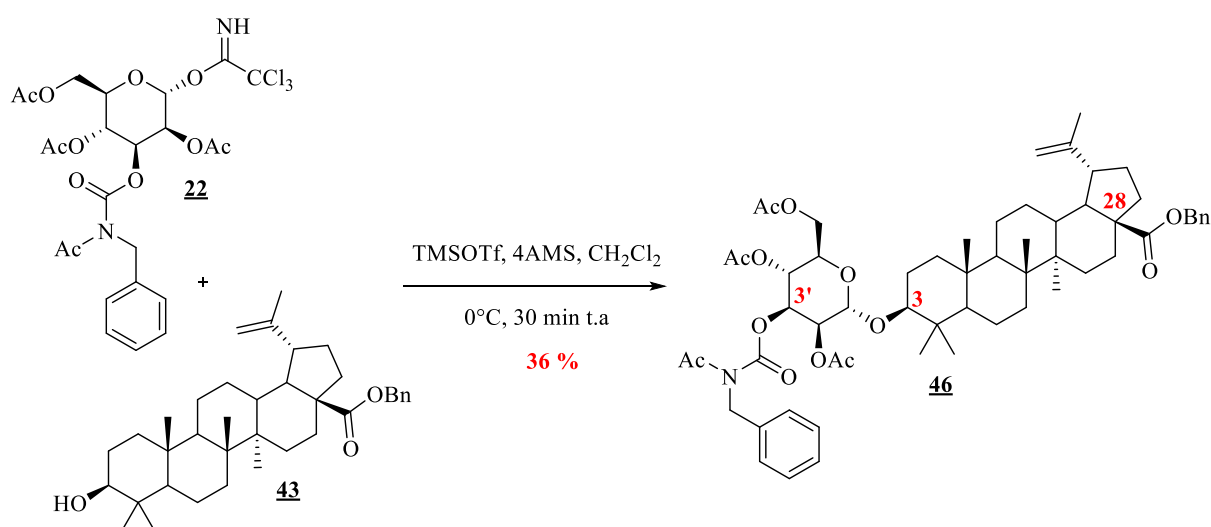


Figure 45 : Synthèse du composé glycosylé **46**.

Le produit glycosylé **46** a été obtenu par glycosylation entre le donneur de glycoside **22** et le benzylbétulinate **43** grâce à l'intervention du TMSOTf en présence de tamis moléculaire pour piéger les traces d'eau. La réaction a été effectuée à 0°C, car les glycosylations restent des réactions très sensibles et délicates. Le composé **46** a été obtenu avec un rendement de 40 %. Ce faible rendement peut s'expliquer par une mauvaise activation du tamis moléculaire et une mauvaise neutralisation de l'excès d'acide avec la solution de NaHCO₃. Des essais d'optimisation ont été effectués, mais sans amélioration.

La RMN du produit **46** a confirmé la formation du lien O-glycosidique entre l'acide bétulinique protégé **43** et le composé **22**. En effet, les données spectrales de

l'analyse HMBC montrent que le carbone en position 3 de la section acide bétulinique corrèle avec celle de la section sucre. De plus, la présence du carbamate a également été confirmée par la présence des protons aromatiques du benzyl carbamate intégrant pour cinq. Le benzyl protégeant la fonction acide carboxylique du triterpène montre également cinq protons aromatiques. Le méthyle de l'acétate du carbamate est plus déblindé que les autres acétates du sucre, car le fait qu'il soit entouré du groupement $-O-C(=O)-N(Ac)-Bn$ provoque un effet de déblindage plus fort. D'ailleurs, sa présence a été confirmée avec le signal à 2,60 ppm.

2.2.2.2. Déprotection des acétates du sucre du composé **46**

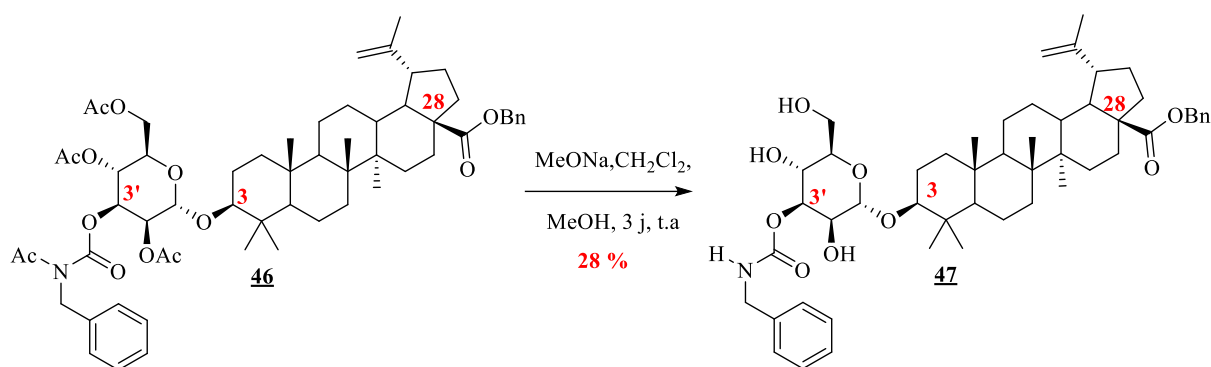


Figure 46 : Synthèse du composé déprotégé **47**.

Le composé **47** a été obtenu après une déprotection des acétates du sucre et de la fonction carbamate grâce à une solution de méthanolate de sodium à 0,5 M dans le méthanol, préalablement préparée et ajoutée au milieu réactionnel. Cette approche de déprotection douce a été privilégiée afin d'éviter l'hydrolyse du carbamate contrairement aux conditions mises en avant dans la première stratégie de synthèse. Un essai à température ambiante a fonctionné, mais a nécessité trois jours d'agitation et l'ajout de quantités supplémentaires de la solution de méthanolate de sodium. La réaction a été suivie méticuleusement à plusieurs reprises et également lors de chaque ajout d'équivalent de la solution de méthanolate de sodium. Cette réaction a été plutôt lente,

mais concluante, car elle a permis d'obtenir progressivement le composé **47** en évitant au maximum la dégradation du carbamate. Néanmoins, le produit a été obtenu avec un faible rendement de 28 %, qui s'explique potentiellement par la formation d'un produit secondaire résultant de la dégradation du carbamate. Le composé souhaité a été obtenu en faible quantité (6,9 mg) et le sous-produit avec une quantité de 2,7 mg. L'obtention du produit **47** a été confirmée par RMN. En effet, il y a la disparition des pics caractéristiques des acétates à 2 ppm, ce qui démontre que les acétates du sucre, y compris celui en position 3 à 2,60 ppm, ne sont plus présents.

2.2.2.3. Déprotection du benzyle de l'agent cytotoxique

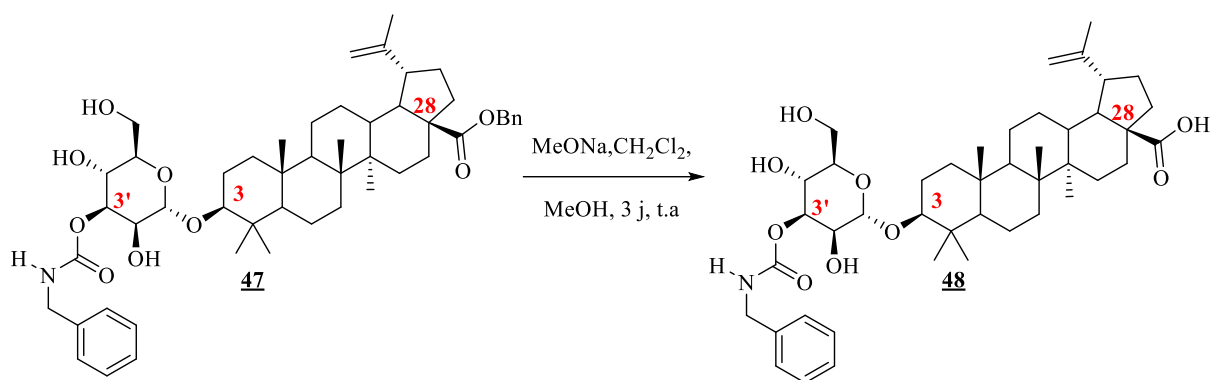


Figure 47 : Synthèse du composé final **48**, attendu, de la nouvelle stratégie synthétique mise au point au laboratoire.

La dernière étape permettant d'obtenir le composé final se fait par hydrogénation avec du palladium sur charbon sous atmosphère d'hydrogène. Malheureusement, après de multiples essais, cette réaction n'a pas été concluante. En effet, ces conditions précises d'hydrogénation catalytique n'ont pas permis d'obtenir le composé cible espéré.

Cependant, la déprotection du benzyle aurait pu être effectuée avant celle des acétates comme mentionnés précédemment. La déprotection du benzyle aurait pu être faite en premier dans l'acétate d'éthyle suivi du clivage des acétates par méthanolyse. La molécule cible aurait alors pu être obtenue afin d'en réaliser la caractérisation totale.

2.2.3. Préparation du mannoside d'acide bétulinique

L'approche de synthèse du composé d'intérêt de la séquence non-carbamoylée en position 3 est exactement la même que celle détaillée à la figure 39. La seule exception est l'absence du groupement carbamate en position 3.

2.2.3.1. Glycosylation

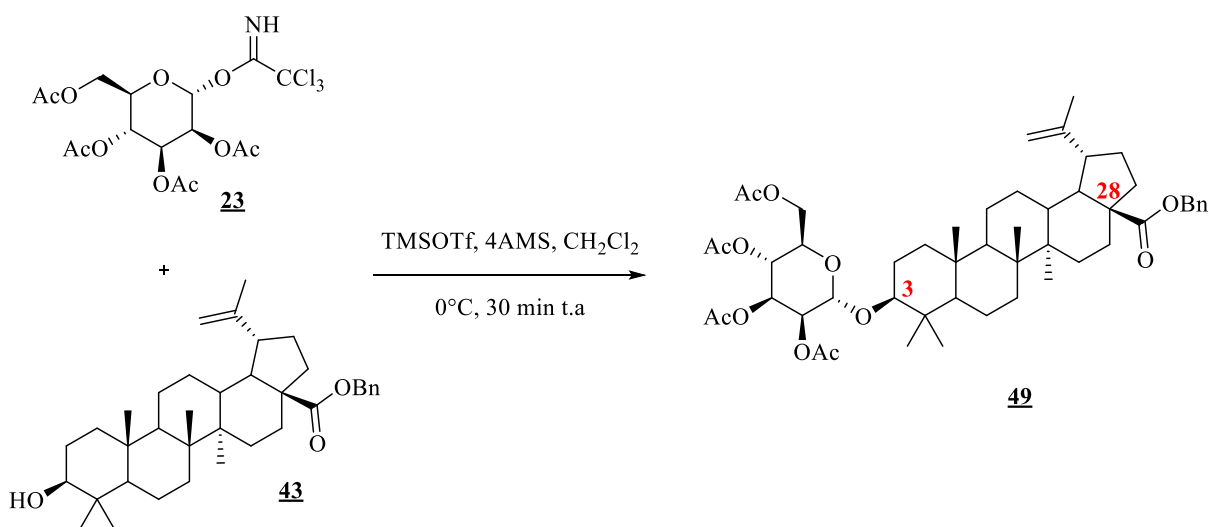
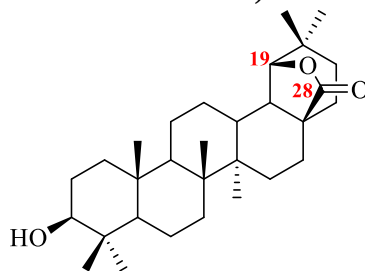


Figure 48 : Synthèse du composé glycosylé **49** dépourvu du carbamate.

Le composé glycosylé **49** a été obtenu par glycosylation entre le donneur de glycoside **23** et l'acide bétulinique protégé **43** grâce au promoteur, le TMSOTf. L'obtention du composé **49** a été validée par les données spectrales RMN du produit. En effet, le spectre HMBC présente notamment une corrélation entre le proton en position 3 de la section acide bétulinique et le carbone anomérique de la section sucre. La corrélation entre le proton anomérique de la section sucre et le carbone en position 3 de la section acide bétulinique est également visible.

Le faible rendement de 28 % peut s'expliquer en premier temps par une mauvaise activation du tamis moléculaire et une mauvaise neutralisation de l'excès d'acide avec la solution de NaHCO_3 . Ce faible rendement pourrait s'expliquer par la possible formation d'un produit secondaire issu du réarrangement de Meerwein-Wagner, bien que ce produit

n'ait pu être isolé, ni identifié. L'oxoallobétulinol **50** peut être formé à partir de l'acide bétulinique en milieu acide (Thibeault *et al.* 2007).



50 28-Oxoallobétulinol

Figure 49 : Représentation de la molécule **50** issue du réarrangement de Meerwein-Wagner.

2.2.3.2. Déprotection des acétates du sucre

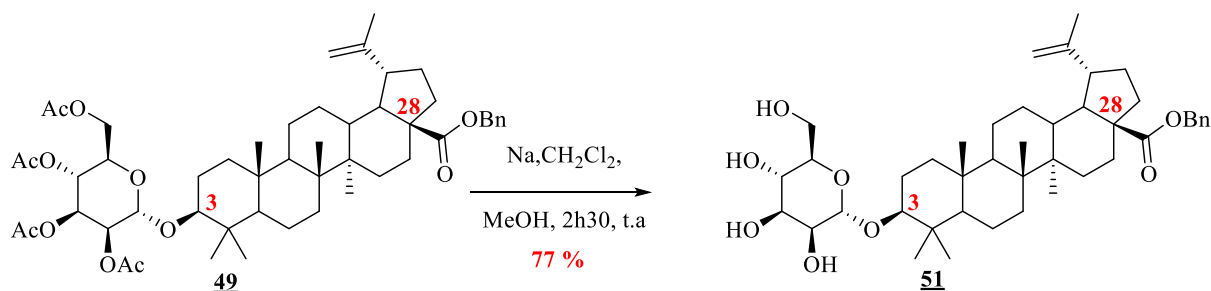


Figure 50 : Synthèse du composé **51**, partiellement déprotégé.

Le composé **51** a été obtenu après une déprotection des acétates du sucre grâce au sodium métallique directement incorporé dans le milieu réactionnel. Cette approche a été concluante puisque le produit a été obtenu avec un bon rendement de 77 %. L'obtention du produit **51** a été confirmée par RMN. En effet, il y a la disparition des pics caractéristiques des acétates à 2 ppm, ce qui démontre que les acétates du sucre ne sont plus présents donc les produits attendus ont bien été formés. Les données spectrales sont conformes à celle de la littérature (Thibeault *et al.* 2007).

2.2.2.3. Déprotection du benzyle du composé 25

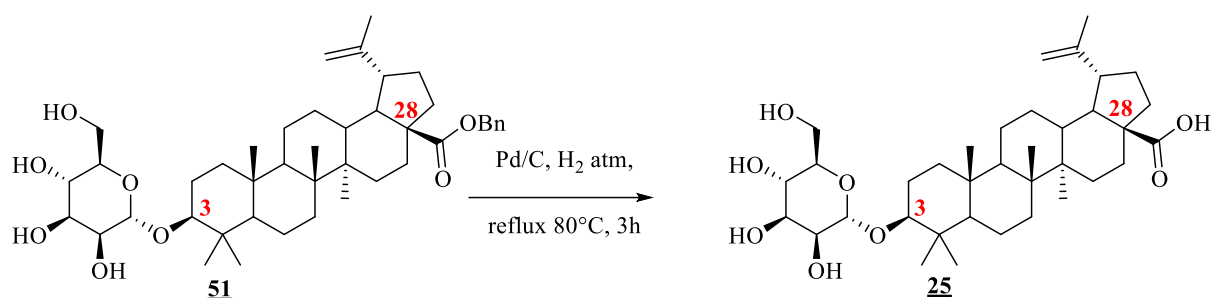


Figure 51 : Synthèse du composé attendu 25.

Le composé 51 a réagi avec du palladium sur charbon sous atmosphère d'hydrogène pendant 3 h à reflux pour former le composé 25. Cependant, le composé a été purifié à deux reprises, lors de la première purification, le produit souhaité a co-élué avec le produit de départ encore présent dans le milieu réactionnel. Malgré plusieurs tentatives de purification, le produit attendu 25 n'a pas pu être caractérisé.

En résumé, le premier objectif de cette maîtrise qui visait à préparer les donneurs de glycosides 21, 22 et 23 a été atteint. Le deuxième objectif de cette maîtrise était de greffer ces donneurs de glycosides sur l'acide bétulinique protégé. Cette deuxième partie du projet n'a pas entièrement été atteinte. Elle a suscité beaucoup d'échecs à cause de déprotections partielles ou infructueuses. En effet, le produit final 25 de la séquence dépourvue du carbamate n'a pas été obtenu après huit tentatives. Cependant, le composé final 24 avec le carbamate en position 3 a été obtenu, en petite quantité.

Chapitre 3 : PARTIE EXPÉRIMENTALE

Ce chapitre III présente les modes opératoires utilisés pour les différentes étapes de synthèses. Les données techniques des différentes étapes de synthèse et la caractérisation structurale des produits obtenus sont également présentées.

3.1. Méthode générale

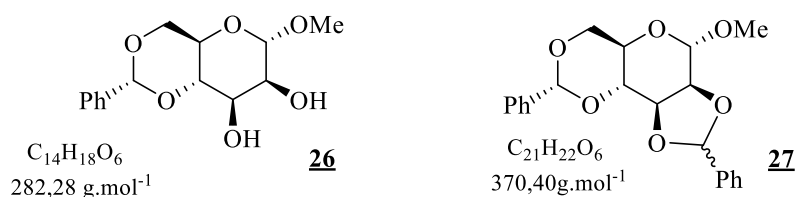
Les pouvoirs rotatoires ont été obtenus grâce au polarimètre numérique AUTOPOL IV de Rudolph Research Analytical. Les spectres RMN 1D et 2D (^1H - ^1H COSY, ^{13}C , $^{135}\text{DEPT}$, HSQC et HMBC) ont été effectués à l'aide d'un spectromètre Avance 400 Bruker (400,13 MHz pour ^1H , 100,61 MHz pour les spectres ^{13}C) doté d'une sonde QNP de 5 mm. Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en partie par millions (ppm) et les couplages (J) en Hz. Les déplacements chimiques sont calibrés sur le signal résiduel du solvant deutéré. Les abréviations utilisées pour l'interprétation des spectres sont s pour singulet, sl pour singulet élargi, d pour doublet, dd pour doublet de doublet, ddd pour doublet de doublet de doublet, t pour triplet, td pour triplet de doublet, q pour quadruplet et m pour multiplet. Les mesures de masse précises (HRESIMS) ont été obtenues sur un instrument TOF-MS 6210 d'Agilent Technologies en mode électrospray positif. La chromatographie sur couche mince analytique a été réalisée avec des plaques de CCM pré-enrobées sur gel de silice 60 F254, 0,2 mm (achetées auprès de Silicycle) et visualisée avec UV254 et révélée avec du molybdate de cérium (CAM) (1 g de $\text{MoO}_4(\text{NH}_4)_2$, 0,05 g de $\text{Ce}(\text{SO}_4)_4 \cdot \text{NH}_4$, 200 ml H_2O , 15 ml H_2SO_4) après chauffage. Les solvants ont été achetés chez Fisher Scientific et tous les autres produits chimiques et matériaux ont été achetés à Sigma-Aldrich.

Chaque réaction de synthèse réalisée va être régie par une procédure générale décrivant son protocole, la réaction menant au produit formé ainsi que ses analyses

spectrales RMN ^1H et ^{13}C , rendement et rapport frontal (*Rf*), mais aussi le pouvoir rotatoire pour les produits finaux. Ces procédures générales regrouperont trois synthèses différentes effectuées tout au long de cette maîtrise.

3.2. Synthèse des composés

Méthyl-4,6-*O*-benzylidène- α -*D*-mannopyranoside **26** et Méthyl-di-2,3-4,6-*O*-benzylidène- α -*D*-mannopyranoside **27**.

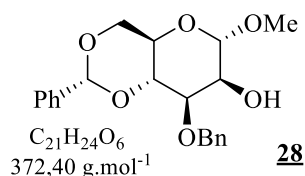


Le méthyl- α -*D*-mannopyranoside commercial (10,00 g ; 51,5 mmol) et l'APTS (970 mg ; 51 mmol) ont été dissous dans le DMF (140 mL) puis le diméthylacétal de benzaldéhyde (7,7 mL ; 51,5 mmol) a été ajouté. Le milieu réactionnel a été chauffé à 60°C sous pression réduite (environ 200 mbar à l'aide d'un évaporateur rotatif) pendant 1 h 30. Le milieu réactionnel a été dilué avec de l'AcOEt (150 mL) et du toluène (50 mL) puis lavé avec une solution aqueuse de NaHCO_3 saturée (3 x 100 mL) puis avec une solution aqueuse de NaCl saturée (100 mL). La phase organique a été séchée avec du sulfate de magnésium anhydre puis concentrée sous pression réduite jusqu'à l'obtention d'un précipité. Le mélange est porté à 0°C, le précipité est filtré sur fritté et lavé à l'éther diéthylique (à 0°C). Le produit cristallisé et le filtrat n'étant pas pur, ils ont été purifiés sur colonne de silice chromatographique (Hexane : AcOEt ; gradient : 100 : 0 $\rightarrow$ 75 : 25). Le produit souhaité, le monoacétal **26** a été obtenu sous forme d'un solide blanc (3,4 g, 23 %) ; *Rf* = 0,8 (Hexane : AcOEt, 2 : 1). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 7,49 - 7,35 (m, 6H, H-aro), 5,57 (s, 1H, CH-*Ph*), 4,77 (s, 1H, H-1), 4,29 (dd, $J = 8,8 \text{ Hz}$, $J = 3,4 \text{ Hz}$, 1H, H-6a), 4,1 - 4,03 (m, 2H, H-3, H-2), 3,96 - 3,77 (m, 4H, H-4, H-5, H-6b, O- CH_3), 1,26 (t, $J = 7,1 \text{ Hz}$, 1H). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3) δ : 137,30 - 126,40 (C-aro), 102,42 (CH-

Ph), 101,36 (C-1), 79,01 (C-4), 70,96 (C-2), 68,96 (C-6), 68,74 (C-3), 63,01 (C-5), 55,00 (O-CH₃). Ce composé est conforme à la littérature (Poláková *et al.* 2009).

Un produit secondaire a été formé lors de la préparation du composé **26**. Il s'agit du diacétal **27-exo** récupéré sous forme d'un solide blanc (4,70 g, 25 %) ; R_f = 0,6 (Hexane : AcOEt, 2 : 1). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ : 7,56 -7,44 (m, 4H, H-aro), 7,41 - 7,33 (m, 6H, H-aro), 6,29 (s, 1H), 5,64 (s, 1H), 5,02 (s, 1H), 4,63 (dd, *J* = 7,8 Hz, *J* = 5,4 Hz, 1H), 4,38 - 4,35 (m, *J* = 5,4 Hz, 1H), 4,14 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H), 3,94 - 3,80 (m, 3H), 3,85 - 3,81 (m, 3H), 1,26 (t, *J* = 7,1 Hz, 1H). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃) δ : 138,72 (C-aro), 137,24 (C-aro), 129,29 (C-aro), 128,54 (C-aro), 128,39 (C-aro), 126,44 (C-aro), 126,19 (C-aro), 103,13 (CH-Ph), 102,18 (CH-Ph), 98,94 (C-1), 75,67 (C-4), 75,43 (C-3), 69,05 (C-5), 60,43 (C-6), 55,36 (O-CH₃). Ce composé est conforme à la littérature (Tanaka *et al.* 2008).

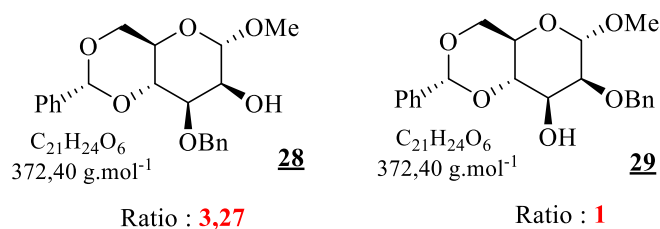
Méthyl-4,6-O-benzylidène-3-O-benzyl- α -D-mannopyranoside **28**.



Le monoacétal **26** (4,84 g ; 17,1 mmol) et l'oxyde de dibutylétain (Bu₂SnO) (4,69 g ; 18,8 mmol) ont été dissous dans du méthanol (145 mL). Le milieu réactionnel a été porté à reflux pendant 1 h 30. Un suivi par CCM a été effectué avec Hexane : AcOEt, 6 : 2. Après retour à température ambiante, le méthanol a été évaporé sous pression réduite puis co-évaporé avec du toluène (50 mL). Le produit brut obtenu a été repris dans le DMF (145 mL), puis du bromure de benzyle (4,05 mL ; 34,2 mmol) a été ajouté. Le milieu réactionnel a été chauffé à 110°C pendant 30 minutes. Un suivi par CCM a été réalisé. La réaction n'étant pas terminée, elle a été laissée sous agitation toute la nuit. Après retour à température ambiante, de l'AcOEt (200 mL) et du toluène (200 mL) ont été ajoutés pour arrêter la réaction. Le milieu réactionnel a été ramené à 0°C puis filtré sur Büchner. Le

filtrat a été récupéré, les phases ont été séparées. La phase organique a été lavée avec une solution de NaHCO_3 saturée (200 mL) et avec une solution de NaCl saturée (200 mL). Les phases organiques ont été séchées avec du sulfate de sodium anhydre puis évaporées sous pression réduite. Le produit brut a été purifié sur colonne de chromatographique (Hexane : AcOEt ; gradient : 100 : 0 $\rightarrow$ 50 : 50) pour obtenir le composé **21** sous forme d'une poudre blanche (3,55 g, 56 %) ; $R_f = 0,47$ (Hexane : AcOEt , 2 : 1). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 7,50 - 7,29 (m, 10H, H-aro), 5,62 (s, 1H, H-1), 4,85 (d, $J = 11,9$ Hz, 1H), 4,77 (d, $J = 1,1$ Hz, 1H), 4,72 (d, $J = 11,9$ Hz, 1H), 4,29 (dd, $J = 9,3$ Hz, $J = 3,9$ Hz, 1H), 4,11 (dd, $J = 9,3$ Hz, 1H), 4,05 (dd, $J = 3,9$, $J = 1,1$ Hz, 1H), 3,95 – 3,77 (m, 2H), 3,38 (s, 3H). Ce composé est conforme à la littérature (Boger et Honda 1994).

Méthyl-4,6-*O*-benzylidène-3-*O*-benzyl- α -D-mannopyranoside **28** et du méthyl-4,6-*O*-benzylidène-2-*O*-benzyl- α -D-mannopyranoside **29**.

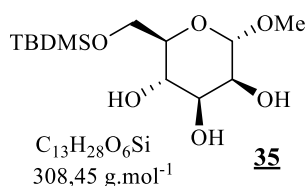


Le DIBAL-H (27,5 mL) a été ajouté goutte à goutte, à -40°C , à une solution toluénique de 1M contenant le composé **27-exo** (4,65 g ; 12,5 mmol). La réaction a été agitée à -40°C pendant 1 heure puis à 0°C pendant 2 h 30. Un suivi par CCM a été réalisé avec Hexane : AcOEt , 2 : 1. La réaction a été stoppée en ajoutant du méthanol (50 mL). Une solution d'hydroxyde de potassium à 5 % (95 mL) a été ajoutée goutte à goutte à 0°C . La phase aqueuse a été extraite avec de l'éther diéthylique (3 x 150 mL). La phase organique a été séchée avec du sulfate de sodium anhydre, filtrée sur coton puis concentrée sous pression réduite. Le produit a ensuite été purifié sur colonne de silice (Hexane : AcOEt ; gradient : 100 : 0 $\rightarrow$ 60 : 40) pour obtenir le composé **28** sous forme d'une poudre blanche (3,34 g, 72 %) ; $R_f = 0,47$ (Hexane : AcOEt , 2 : 1). ^1H RMN (400

MHz, CDCl₃) δ : 7,54 - 7,3 (m, 10H, H-aro), 5,67 (s, 1H, CH-*Ph*), 4,90 (d, J = 11,9 Hz, 1H), 4,92 - 4,80 (m, 2H, CH₂-*Bn*), 4,77 (s, 1H, H-1), 4,33 (dd, J = 9,3 Hz, J = 3,9 Hz, 1H), 4,08 - 4,18 (m, 2H), 3,99 - 3,82 (m, 3H), 1,31 (t, J = 7,1 Hz, 1H). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃) δ : 137,70 (C-aro), 137,34 (C-aro), 129,02 (C-aro), 128,47 (C-aro), 128,18 (C-aro), 127,93 (C-aro), 127,87 (C-aro), 126,29 (C-aro), 101,99 (CH-*Ph*), 99,44 (C-1), 79,33 (C-4), 78,37 (C-3), 73,63 (C-5), 68,67 (C-6), 63,30 (C-2), 54,85 (CH₂-*Bn*). Ce composé est conforme à la littérature (Tanaka *et al.* 2008).

Un deuxième composé a été obtenu, le composé **29** sous forme de poudre blanche (1,01 g, 22 %) ; R_f = 0,7 (Hexane : AcOEt, 2 : 1). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ : 7,56 - 7,43 (m, 10H, H-aro), 5,58 (s, 1H), 4,75 (d, J = 6,7 Hz, 1H), 4,69 (d, J = 11,7 Hz, 1H), 4,26 (dd, J = 9,5, 4,2 Hz, 1H), 4,12 (dd, J = 14,3, J = 7,1 Hz, 1H), 4,08 (s, 1H), 3,90 (dd, J = 19,3, 9,7 Hz, 1H), 3,40 (s, 1H), 2,05 (s, 1H). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃) δ : 137,67 (C-aro), 137,23 (C-aro), 128,77 (C-aro), 128,21 (C-aro), 127,94 (C-aro), 127,64 (C-aro), 126,15 (C-aro), 101,69 (CH-*Ph*), 99,34 (C-1), 79,04 (C-4), 78,19 (C-2), 73,39 (C-3), 68,37 (C-6), 63,18 (C-3), 54,55 (CH₂-*Bn*). Ce composé est conforme à la littérature (Tanaka *et al.* 2008).

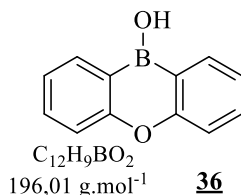
6-*O*-tert-butyldimethylsilyl-méthyl- α -D-mannopyranoside **35**.



Le méthyl- α -D-mannopyranoside (5,0 g ; 25,75 mmol) a été dissous dans le DMF (40 mL). Le Et₃N (12,6 mL ; 90,31 mmol), la DMAP (160,44 mg ; 1,313 mmol) et le TBDMSCl (4,284 g ; 28,43 mmol) ont été ajoutés à 0°C à la solution. Le milieu réactionnel a été agité pendant 18 heures à température ambiante. La réaction a été stoppée avec de l'eau glacée (35 mL). Les phases aqueuses ont été lavées avec de l'AcOEt

(3 x 50 mL). La phase organique a ensuite été lavée avec une solution de chlorure d'ammonium saturée (35 mL), avec de l'eau (35 mL) et avec une solution de NaCl saturée (35 mL). Du toluène (125 mL) a été ajouté afin d'éliminer plus facilement le DMF lors de l'évaporation des phases organiques préalablement séchées sur du sulfate de magnésium. Le produit brut a été purifié sur colonne de silice chromatographique (Hexane : AcOEt ; gradient : 50 : 50 → 20 : 80) afin d'obtenir le produit souhaité soit le composé **35** sous forme d'un solide blanc (5,11 g, 64 %) ; $R_f = 0,3$ (Hexane : AcOEt, 7 : 3). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 4,72 (s, 1H, H-1), 3,92 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H, H-2), 3,87 - 3,75 (m, 3H, H-4, H-6a, H-6b), 3,56-3,62 (m, $J = 6,6$ Hz, 2H, H-3, H-5), 3,30 (s, 3H, O-CH₃), 2,64 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H, C_q-OH), 2,38 (d, $J = 4,3$ Hz, 1H, CH₂-OH), 0,91 (s, 9H, Si(C(CH₃)₃)(CH₃)₂), 0,11 (s, 6H, Si(C(CH₃)₃)(CH₃)₂). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3) δ : 100,72, 78,85, 71,74, 71,38, 70,30, 69,96, 67,50, 65,27, 55,13, 25,99, 18,40, 4,87. Ce composé est conforme à la littérature (Chan et Taylor 2011).

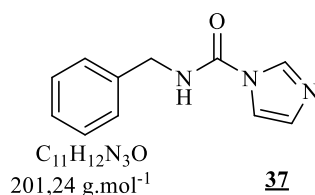
10H-Dibenzo[b,e][1,4]oxaborinin-10-ol **36**.



Le diphényléther (850 mg ; 5 mmol) et le TMEDA (2,25 mL ; 15 mmol) ont été dissous dans le THF (10 mL). Le BuLi (9,4 mL ; 15 mmol) a ensuite été ajouté à très basse température (-78°C). Puis la réaction a été agitée pendant 3 heures, à température ambiante. C'est ensuite qu'a été ajouté le B(OMe)₃ (1,7 mL ; 15 mmol) à -78°C. Le milieu réactionnel a été agité toute une nuit à température ambiante. Ce dernier a été refroidi à 0°C puis, une solution de chlorure d'ammonium saturée (75 mL) a été ajoutée afin de neutraliser la réaction. La phase aqueuse a été extraite avec du CH₂Cl₂ (3 x 25 mL). La phase organique a été séchée sur du sulfate de sodium anhydre puis concentrée sous pression réduite. Le produit brut a été recristallisé à reflux dans le toluène puis le produit

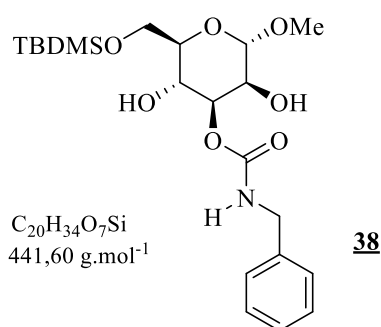
a été filtré sur Büchner pour obtenir le composé **36**. Le filtrat a été évaporé puis le solide recueilli a été purifié sur colonne de silice chromatographique (Hexane : AcOEt ; gradient : 100 : 0 → 15 : 85). Le composé **36** a été obtenu sous forme d'un solide blanc (454 mg, 46 %) ; $R_f = 0,80$ (Hexane : AcOEt, 9 : 1). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 9,85 (s, 1H, B-OH), 8,12 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H), 7,65 (dd, $J = 8,3$ Hz, $J = 7,1$ Hz, 2H), 7,41 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,26 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3) δ : 161,24, 133,44, 130,49, 122,22, 117,75, 45,60. Ce composé est conforme à la littérature (Dimitrijevi et Taylor 2013).

N-benzylimidazolecarboxamide **37**.



La benzylamine (3,5 g ; 32,7 mmol) a été dissoute dans de l'eau (490 mL). Le CDI (6,36 g ; 39,24 mmol) a été ajouté à 0°C. Le milieu réactionnel a été agité pendant 30 minutes à 0°C. La réaction a été filtrée sur fritté puis le produit a été lavé avec de l'eau glacée (3 x 70 mL). Le produit étant impur, il a été repris dans de l'eau glacée (300 mL) puis le milieu a été agité pendant 10 minutes à température ambiante. Le milieu réactionnel a été de nouveau filtré sur fritté puis lavé à l'eau glacée. Le produit pur a été mis à sécher afin d'obtenir le produit souhaité soit le composé **37** sous forme d'un solide blanc (4,216 g, 64 %) ; $R_f = 0,15$ (Hexane : AcOEt, 1 : 1). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 8,07 (s, 1H), 7,40 (s, 2H), 7,39 - 7,26 (m, 5H), 6,91 (s, 1H), 4,56 (d, $J = 5,6$ Hz, 2H). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3) δ : 149,18 (NH-CO-N), 137,27 (C-aro), 135,90 (C-aro), 129,81 (C-aro), 128,97 (C-aro), 128,07 (C-aro), 116,65 (N=C-C=N), 45,01 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$). Ce composé est conforme à la littérature (Padiya *et al.* 2012).

Méthyl-3-*O*-benzylcarbamoyl- α -D-mannopyranoside **38**.



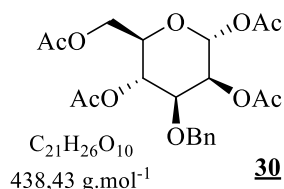
Le mannoside **35** (308,44 mg ; 1 mmol), le catalyseur **36** (29,7 mg ; 0,15 mmol) et le réactif de carbamoylation **37** (282,3 mg ; 1,4 mmol) ont été dissous dans le MeCN (10 mL). Le milieu réactionnel a été porté à reflux à 110°C pendant 20 heures. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel a été évaporé. Le produit brut a ensuite été purifié sur colonne de silice (Hexane : AcOEt ; gradient : 100 : 0 → 50 : 50) pour obtenir le composé intermédiaire **38** sous forme d'une poudre blanche (361,8 mg, 82 %) ; $R_f = 0,44$ (Hexane : AcOEt, 1 : 1) ; $[\alpha]^{21,4}_D +41,86$ (c 0,35, AcOEt). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 7,33 - 7,22 (m, 5H, H-aro), 5,80 (t, $J = 5,8$ Hz, 1H, NH), 4,94 (dd, $J = 9,7$ Hz, $J = 3,1$ Hz, 1H, H-3), 4,65 (s, 1H, H-1), 4,31 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H, *Bn*-CH₂), 3,99 (s, 1H, H-2), 3,92 - 3,80 (m, 3H, H-4, H-6a, H-6b), 3,61 (dt, $J = 9,5$ Hz, $J = 4,7$ Hz, 1H, H-5), 0,89 (s, 9H), 0,08 (s, 6H). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3) δ : 157,14 (O-C=O), 138,25 (C-aro), 128,55 (C-aro), 127,54 (C-aro), 127,36 (C-aro), 100,62 (C-3), 75,30 (C-1), 72,47 (C-5), 69,31 (C-2), 67,30 (C-4), 63,82 (C-6), 54,67, 44,99 (*Bn*-CH₂), 25,87 (C-TBDMS), 18,27 (C-TBDMS). Ce composé n'est pas caractérisé dans la littérature.

Procédure générale (A) de péracétylation

Une solution de 2 % d' H_2SO_4 - Ac_2O a été préparée à 0°C. La solution a été agitée puis elle a été ajoutée au composé de départ, protégé en position 3 (1 éq.). Le milieu réactionnel a été agité pendant 1 heure. La réaction a été diluée avec de l'AcOEt et neutralisée avec une solution de NaHCO_3 saturée à 0°C puis elle a été agitée pendant 1 heure à 0°C. La phase organique a été lavée avec une solution de NaCl saturée puis elle

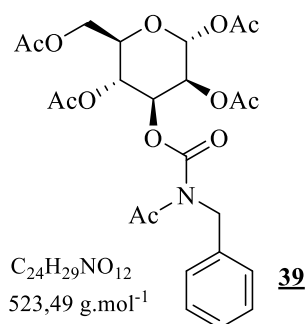
a été séchée avec du sulfate de sodium anhydre et concentrée sous pression réduite. Le produit brut a été purifié sur colonne de silice (Hexane : AcOEt ; gradient : 100 : 0 → 60 : 40)(Boger et Honda 1994).

➤ 1,2,4,6-tetra-*O*-acetyl-3-*O*-benzyl- α -*D*-mannopyranoside **30**.



Selon la procédure générale de péracétylation A, le composé **30** a été obtenu sous forme d'une poudre blanche (6,95 g, 83 %) ; R_f = 0,5 (Hexane : AcOEt, 1 : 1). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ : 7,38 - 7,26 (m, 5H, H-aro), 6,10 (d, J = 1,8 Hz, 1H, H-1), 5,35 (dd, J = 3,2 Hz, J = 2,2 Hz, 1H, H-4), 5,29 (dd, J = 12,9 Hz, J = 7,1 Hz, 1H, H-2), 4,67 (d, J = 12,1 Hz, 1H, H-6a), 4,44 (d, J = 12,1 Hz, 1H, H-3), 4,23 (dd, J = 12,4 Hz, J = 5,1 Hz, 1H, H-6b), 4,08 (dd, J = 12,3 Hz, J = 2,4 Hz, 1H, CH-*Bn*), 3,95 (dd, J = 5,2 Hz, J = 2,4 Hz, 1H, CH-*Bn*), 3,86 (dd, J = 9,7 Hz, J = 3,4 Hz, 1H, H-5), 2,17 (s, 3H, CH₃-Ac), 2,12 (s, J = 4,5 Hz, 3H, CH₃-Ac), 2,08 (s, 3H, CH₃-Ac), 2,03 (s, 3H, CH₃-Ac). Ce composé est conforme à la littérature (Boger et Honda 1994).

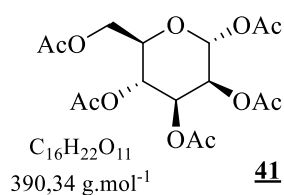
➤ 2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-acetylbenzylcarbamoyl- α -*D*-mannopyranoside **39**.



Selon la procédure de péracétylation A, la solution du composé **39** a permis d'obtenir le composé **32** sous forme d'une poudre blanche (220,3 mg, 93 %) ; R_f = 0,59 (Hexane : AcOEt, 1 : 1) ; $[\alpha]^{20,6}_D +0,766$ (c 1,07, AcOEt). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ : 7,31 - 7,07 (m, 5H, H-aro), 6,04 (d, J = 1,6 Hz, 1H, H-3), 5,30 (dd, 2H, H-1, H-2),

4,80 (dd, 1H, 2H, *Bn*-CH₂), 4,22 (dd, $J = 12,2$ Hz, $J = 4,7$ Hz, 2H, H-6a, H-4), 4,12 - 3,96 (m, 2H, H-6b, H-5), 2,52 (d, $J = 12,6$ Hz, 3H, N-Ac-CH₃), 2,13 (s, 3H, CH₃-Ac), 2,05 (s, $J = 5,1$ Hz, 3H, CH₃-Ac), 1,86 (s, 3H, CH₃-Ac), 1,84 (s, $J = 4,9$ Hz, 3H, CH₃-Ac). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃) δ : 172,63 (C=O-Ac), 171,07 (C=O-Ac), 169,59 (C=O-Ac), 169,43 (C=O-Ac), 167,91 (C=O-Ac), 153,57 (O-C=O), 137,06 (C-aro), 128,50 (C-aro), 127,23 (C-aro), 126,95 (C-aro), 90,33 (C-3), 71,78 (C-1), 70,51 (C-5), 68,00 (C-2), 65,01 (C-4), 61,95 (C-6), 60,32, 46,86 (*Bn*-CH₂), 20,99 (N-CH₃-Ac), 20,78 (CH₃-Ac), 20,66 (CH₃-Ac), 20,44 (CH₃-Ac), 20,38 (CH₃-Ac). Ce composé n'est pas caractérisé dans la littérature.

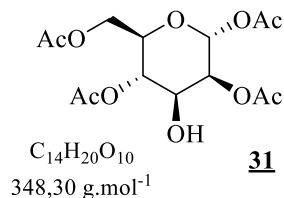
1,2,3,4,6-*O*-acetyl- α -D-mannopyranoside **41**.



Le *D*-mannose commercial (1,00 g ; 5,55 mmol) a été solubilisé dans la pyridine (6 mL) et le DMAP (74,5 mg ; 0,609 mmol) a été ajouté à la solution. L'anhydride acétique (3,1 mL) a été ajouté goutte à goutte à la solution. Après 3h30 d'agitation, le milieu réactionnel a été dilué avec du dichlorométhane (20 mL). La phase organique a été lavée avec une solution d'acide chlorhydrique 10 % (3 x 10 mL) puis avec une solution d'hydrogénocarbonate de sodium saturée (3 x 10 mL). La phase organique a été séchée sur du sulfate de sodium anhydre, filtrée sur coton et évaporée sous pression réduite. Le composé **41** a été obtenu sous la forme d'une poudre blanche (2,0154 g, 93 %) ; R_f = 0,50 (Hexane : AcOEt, 1 : 1). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ : 6,08 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H, H-1), 5,36 - 5,33 (m, 2H, H-4), 5,26 (t, $J = 2,1$ Hz, 1H, H-2), 4,29 (ddd, $J = 12,4$, $J = 9,8$, $J = 5,1$ Hz, 1H, H-6b), 4,16 - 4,02 (m, 3H, H-6a, H-5, H-3), 2,18 (s, 3H, CH₃-Ac), 2,17 (s,

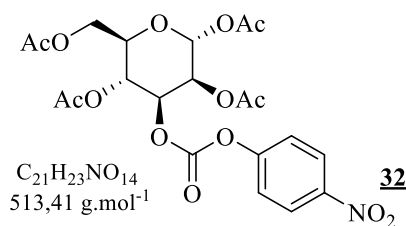
3H, CH₃-Ac), 2,09 (s, 3H, CH₃-Ac), 2,05 (s, 3H, CH₃-Ac), 2,01 (s, 3H, CH₃-Ac). Ce composé est conforme à la littérature (Kalograiaki *et al.* 2018).

1,2,4,6-tetra-*O*-acétyl-3-hydroxyl- α -D-mannopyranose **31**.



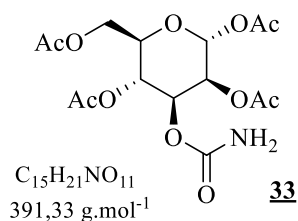
Le composé **30** (5,26 g ; 12 mmol) a été dissous dans l'acétate d'éthyle (157 mL) sous atmosphère d'hydrogène. Le mélange a été mis à buller sous agitation pendant 30 minutes. Le catalyseur de Pearlman (Pd(OH₂)/C) (0,994 g) a été ajouté à 0°C. Le milieu réactionnel a été purgé avec l'H₂ présent dans le milieu pendant 1 heure sous agitation à 0°C. La réaction a été arrêtée de buller puis elle a été laissée sous agitation toute la nuit sous atmosphère d'hydrogène à température ambiante. Le milieu réactionnel a été filtré sur 2-3 cm de célite puis concentré sous pression réduite. Le composé **31** a été obtenu sous la forme d'une poudre blanche (5,26 g, 100 %) ; R_f = 0,10 (Hexane : AcOEt, 1 : 1). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ : 6,12 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H, H-1), 5,14 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H, H-4), 5,09 (dd, *J* = 22,0 Hz, *J* = 10,1 Hz, 1H, H-2), 4,31 (dd, *J* = 12,4, *J* = 4,9 Hz, 1H, H-6a), 4,10 (m, 2H, H-3, H-6b), 3,98 (ddd, *J* = 10,1, *J* = 4,8, 2,1 Hz, 1H, H-5), 2,19 (s, 3H, CH₃-Ac), 2,14 (d, *J* = 1,9 Hz, 6H, CH₃-Ac x 2), 2,09 (s, 3H, CH₃-Ac). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃) δ : 171,27 (C=O-Ac), 170,85 (C=O-Ac), 170,33 (C=O-Ac), 168,16 (C=O-Ac), 90,55 (C-1), 71,22 (C-2), 70,37 (C-5), 68,91 (C-3), 68,63 (C-4), 62,30 (C-6), 60,54 (C-6), 21,18 (CH₃-Ac), 21,00 (CH₃-Ac), 20,95 (CH₃-Ac), 20,85 (CH₃-Ac). Ce composé est conforme à la littérature (Boger et Honda 1994).

1,2,4,6-tetra-*O*-acetyl-3-*O*-((*p*-nitrophenyloxy)carbamoyl)- α -*D*-mannopyranoside **32**.



Le chloroformiate de *p*-nitrophényle (9,67 g ; 48 mmol) et la DMAP (5,86 g ; 48 mmol) ont été ajoutés à une solution contenant le composé **31** (5,26 g ; 12 mmol) obtenu précédemment dans la pyridine (42 mL). Le milieu réactionnel a été agité à 50°C toute une nuit. Le mélange a ensuite été refroidi à température ambiante. La réaction a été arrêtée par l'ajout d'AcOEt (120 mL) et d'eau (60 mL). La phase organique a été lavée avec une solution d'acide chlorhydrique à 10 % (3 x 60 mL), une solution de NaHCO₃ saturée (2 x 60 mL) puis avec une solution de NaCl saturée (60 mL). La phase organique a été séchée sur du sulfate de sodium anhydre et concentrée sous pression réduite. Le produit brut a été purifié sur colonne de silice (Hexane : AcOEt ; gradient : 100 : 0 → 50 : 50) pour obtenir le composé intermédiaire **32** sous forme d'une poudre blanche (5,6 g, 90 %, 2 étapes) ; R_f = 0,58 (Hexane : AcOEt, 7 : 3). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ : 8,23 (d, *J* = 9,1 Hz, 2H, H-aro), 7,35 (d, *J* = 9,2 Hz, 2H, H-aro), 6,11 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H, H-1), 5,47 - 5,36 (m, 2H, H-4, H-2), 5,18 (dd, *J* = 10,1 Hz, *J* = 3,4 Hz, 1H, H-5), 4,27 (dd, *J* = 12,5 Hz, *J* = 4,7 Hz, 1H, H-3), 4,11 - 4,02 (m, 2H, H-6), 2,16 (s, 3H, CH₃-Ac), 2,13 (s, 1H, CH₃-Ac), 2,07 (d, 3H, CH₃-Ac), 1,98 (s, 3H, CH₃-Ac). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃) δ : 170,95 (C=O-Ac), 170,45 (C=O-Ac), 169,89 (C=O-Ac), 169,35 (C=O-Ac), 167,84 (O-C=O), 155,12, 151,57, 145,54, 125,23 (C-aro), 121,85 (C-aro), 90,51 (C-1), 74,15 (C-2), 70,48 (C-5), 67,45 (C-3), 64,88 (C-4), 61,78 (C-6), 60,22 (C-6), 20,86 (CH₃-Ac), 20,63 (CH₃-Ac), 20,60 (CH₃-Ac), 20,58 (CH₃-Ac), 20,54 (CH₃-Ac). Ce composé est conforme à la littérature (Boger et Honda 1994).

1,2,4,6-tetra-*O*-acetyl-3-*O*-carbamoyl- α -*D*-mannopyranoside **33**.



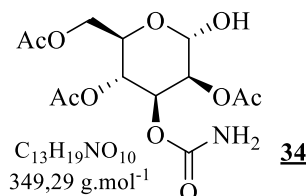
Le composé **32** (1,09 g ; 2,1 mmol) a été dissous dans du dichlorométhane (20 mL). Une solution de NH_3 -THF à 0,4M (9,7 mL ; 3,89 mmol) et de DMAP (47,4 mg ; 0,39 mmol) a été ajoutée à 0°C au milieu réactionnel. La réaction a été agitée à 0°C pendant 2 heures. Le milieu réactionnel a été dilué avec du dichlorométhane (20 mL) puis la réaction a été arrêtée avec l'ajout d'une solution de chlorure d'ammonium saturée (40 mL). La phase organique a été lavée avec de l'eau (2 x 40 mL) et une solution de NaCl saturée (40 mL). La phase organique a été séchée sur du sulfate de sodium anhydre et évaporée sous pression réduite. Le produit brut a été purifié sur colonne de silice (Hexane : AcOEt ; gradient : 100 : 0 $\rightarrow$ 70 : 30) afin d'obtenir le composé **33** sous forme d'une poudre blanche (564 mg, 73 %) ; $R_f = 0,25$ (Hexane : AcOEt, 1 : 1). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 6,06 (s, 1H, H-1), 5,35 - 5,18 (m, 2H, H-4, H-2), 5,16 - 5,06 (m, 1H, H-5), 4,71 (s, 2H, NH_2), 4,26 (dd, $J = 12,3 \text{ Hz}$, $J = 4,5 \text{ Hz}$, 1H, H-3), 4,13 - 3,98 (m, 2H, H-6a, H-6b), 2,13 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 2,11 (d, $J = 2,7 \text{ Hz}$, 6H, 2x $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 2,07 (d, $J = 3,2 \text{ Hz}$, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$). Ce composé est conforme à la littérature (Boger et Honda 1994).

Procédure générale (B) de la déprotection de l'acétyle en position anomérique

Le composé péracétylé (1 éq.) a été dissous dans un minimum de DMF puis le $\text{N}_2\text{H}_4\text{-AcOH}$ (1,2 éq.) a été ajouté au mélange. Le milieu réactionnel a été agité pendant 2 h 30 à température ambiante. La réaction a été arrêtée par l'ajout d'AcOEt et de toluène. La phase organique a été lavée deux fois avec une solution de NaCl saturée, deux fois avec une solution de chlorure d'ammonium saturée et à nouveau avec une solution de NaCl saturée. La phase organique a été séchée avec du sulfate de sodium anhydre et

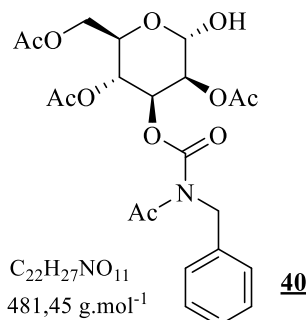
éaporée sous pression réduite. Le produit obtenu a été purifié sur colonne de silice (Hexane : AcOEt ; gradient : 100 : 0 → 70 : 30)(Excoffier *et al.* 1975).

➤ 2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-carbamoyl- α -*D*-mannopyranoside **34**.



Selon la procédure générale **B** de déprotection de l'acétyle anomérique, le composé intermédiaire **34** a été obtenu sous forme d'une poudre blanche (170 mg, 34 %) ; Rf = 0,32 (Hexane : AcOEt, 75 : 25). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ : 5,23 (dd, *J* = 12,0 Hz, *J* = 5,6 Hz, 4H, H-1, H-4, H-2, H-5), 5,09 (br s, 2H, NH₂), 4,69 (d, *J* = 4,2 Hz, 1H, OH), 4,22 (q, *J* = 4,4 Hz, 1H, H-3), 4,10 (dt, *J* = 14,3 Hz, *J* = 5,7 Hz, 2H, H-6a, H-6b), 2,13 (s, 3H, CH₃-Ac), 2,07 (s, 3H, CH₃-Ac), 2,04 (s, 3H, CH₃-Ac). Ce composé est conforme à la littérature (Boger et Honda 1994).

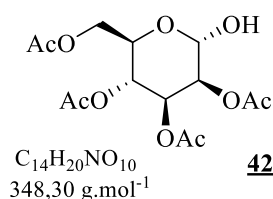
➤ 3,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-benzylcarbamoyl- α -*D*-mannopyranoside **40**.



Selon la procédure générale **B** de déprotection de l'acétyle anomérique, le composé intermédiaire **40** a été obtenu sous forme d'une poudre blanche (157,2 mg, 56 %) ; Rf = 0,37 (Hexane : AcOEt, 1 : 1) ; [α]_D^{20,3} +23,056 (c 0,72, AcOEt). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ : 7,29 - 7,10 (m, 5H), 5,39 - 5,26 (m, 3H, H-1, H-2, H-5), 5,17 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H, H-3), 4,80 (dd, 2H, CH₂-Bn), 4,61 (d, *J* = 4,3 Hz, 1H), 4,19 (d, *J* = 9,4 Hz, 2H, H-6a, H-4), 4,13 - 4,04 (m, 1H, H-6b), 2,54 (s, 3H, CH₃-Ac), 2,04 (s, 3H, CH₃-Ac), 1,86 (s, 3H, CH₃-Ac), 1,84 (s, 3H, CH₃-Ac). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃) δ : 173,14 (C=O-

Ac), 170,97 (C=O-Ac), 170,19 (C=O-Ac), 169,85 (C=O-Ac), 153,57 (O-C=O), 137,15 (C-aro), 128,53 (C-aro), 127,26 (C-aro), 127,05 (C-aro), 91,92 (C-3), 71,99 (C-1), 69,97 (C-5), 68,31 (C-2), 65,84 (C-4), 62,55 (C-6), 60,59, 46,97 (CH₂-Bn), 26,69 (N-CH₃-Ac), 21,07 (CH₃-Ac), 20,77 (CH₃-Ac), 20,58 (CH₃-Ac). Ce composé n'est pas caractérisé dans la littérature.

➤ 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-mannopyranoside **42**.

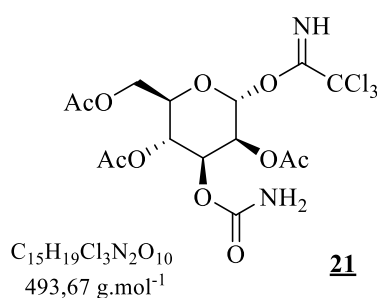


Selon la procédure générale **B** de déprotection de l'acétyle anomérique, le composé intermédiaire **42** a été obtenu sous forme d'une poudre blanche (1,41 g, 78 %) ; R_f = 0,37 (Hexane : AcOEt, 1 : 1). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ : 5,29 (dd, *J* = 10,1 Hz, *J* = 3,1 Hz, 1H, H-1), 5,21 - 5,08 (m, 2H, H-4, H-2), 4,85 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H, H-6b), 4,19 - 4,08 (m, 2H, H-6a, H-3), 4,04 - 3,96 (m, 1H, H-5), 2,05 (s, 3H, CH₃-Ac), 1,99 (s, 3H, CH₃-Ac), 1,94 (s, 3H, CH₃-Ac), 1,88 (s, 3H, CH₃-Ac). Ce composé est conforme à la littérature (Kalograiaki *et al.* 2018)

Procédure générale (C) pour la préparation des donneurs de glycosides

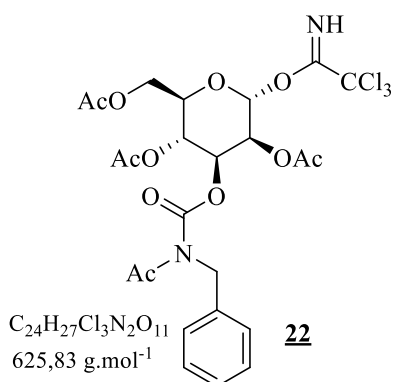
Le sucre totalement déprotégé à l'exception de l'hydroxyle en position anomérique (1 éq.) a été dissous dans du CH₂Cl₂, puis le trichloroacétonitrile (CCl₃CN) (2 éq.) et le carbonate de césium (Cs₂CO₃) (0,2 éq.) ont été ajoutés. Le milieu réactionnel a été agité pendant 4 heures à température ambiante. Le milieu réactionnel a été filtré sur fritté et lavé avec du CH₂Cl₂. Le filtrat a été lavé avec une solution de NaHCO₃ saturée (20 mL) puis avec une solution de NaCl saturée (20 mL). La phase organique a été séchée sur du sulfate de sodium anhydre et concentrée sous pression réduite. Le produit a été purifié sur colonne de silice (Hexane : AcOEt ; gradient : 75 : 25 → 60 : 40).

- 2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-carbamoyl- α -*D*-mannopyranosyltrichloroacetimidate **21**.



Selon la procédure générale **C** pour la préparation des donneurs de glycosides, la solution contenant le composé **14** a été obtenu sous forme de poudre blanche (105,4 mg, 43 %) ; $R_f = 0,57$ (Hexane : AcOEt, 25 : 75). 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8,79 (s, 1H, NH), 6,27 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H, H-1), 5,47 (dd, $J = 3,2$ Hz, $J = 2,0$ Hz, 1H, H-4), 5,39 - 5,27 (m, 2H, H-2, H-3), 4,85 (s, 2H, NH_2), 4,26 (dd, $J = 12,0$ Hz, $J = 4,7$ Hz, 1H, H-6a), 4,21 - 4,06 (m, 2H, H-6b, H-5), 2,18 (s, 3H CH_3 -Ac), 2,07 (d, 6H, 2 x CH_3 -Ac). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$) δ : 170,61 (C=NH), 169,85 (C=O-Ac), 169,72 (C=O-Ac), 159,70 (C=O-Ac), 155,30 (O-C=O), 110,00, 94,39 (C-1), 90,48 (C-2), 71,1 (C-3), 69,60 (C-5), 68,32 (C-4), 65,49 (C-6), 62,03 (C-6), 20,81 (CH_3 -Ac), 20,74 (CH_3 -Ac), 20,69 (CH_3 -Ac). Ce composé n'est pas caractérisé dans la littérature.

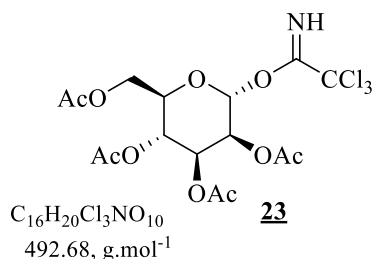
- 2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-acetylbenzylcarbamoyl- α -*D*-mannopyranosyltrichloroacetimidate **22**.



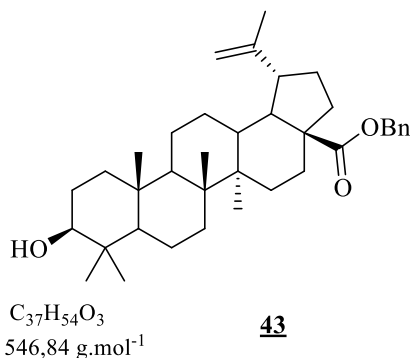
Selon la procédure générale **C** pour la préparation des donneurs de glycosides, la solution contenant le composé **33** (157,2 mg ; 0,327 mmol) a permis d'obtenir le composé **22** sous forme de poudre blanche (154,2 mg, 75 %) ; $R_f = 0,66$ (Hexane : AcOEt, 1 : 1) ;

$[\alpha]^{19,5}_D +3,63$ (c 0,858, AcOEt). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 8,82 (s, 1H, NH), 7,34 - 7,11 (m, 5H, H-aro), 6,27 (s, 1H, H-3), 5,54 (dd, $J = 3,1$ Hz, $J = 2,0$ Hz, 1H, H-2), 5,45 - 5,30 (m, 2H, H-1, H-5), 4,81 (dd, $J = 74,2$ Hz, $J = 15,4$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4,28 - 4,05 (m, 3H, H-6a, H-6b, H-4), 2,55 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 2,05 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 1,90 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 1,86 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3) δ : 172,83 (C=O-Ac-N), 170,58 (C=O-Ac), 169,69 (C=O-Ac), 169,61 (C=O-Ac), 159,65 (O-C=N), 153,48 (O-C=O), 137,17 (C-aro), 128,62 (C-aro), 127,32 (C-aro), 126,98 (C-aro), 94,24 (C-3), 71,79 (C-1), 71,16 (C-5), 67,68 (C-2), 65,03 (C-6), 62,01, 46,97 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 26,74 (N- $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 20,76 ($\text{CH}_3\text{-Ac}$), 20,57 ($\text{CH}_3\text{-Ac}$), 20,52 ($\text{CH}_3\text{-Ac}$). Ce composé n'est pas caractérisé dans la littérature.

➤ 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyltrichloroacetimidate **23**.



Selon la procédure générale **C** pour la préparation des donneurs de glycosides, la solution contenant le composé **42** (1,41 g ; 4,05 mmol) a permis d'obtenir le composé **23** sous forme de poudre blanche (1,05 g, 53 %) ; $R_f = 0,58$ (Hexane : AcOEt, 1 : 1). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 8,78 (s, 1H, NH), 6,12 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H, H-1), 5,46 (s, 1H, H-2), 5,39 (m, 2H, H-3, H-4), 4,27 (dd, $J = 12,0$, $J = 4,7$ Hz, 1H, H-6), 4,19 (m, 2H, H-6, H-5), 2,19 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 2,08 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 2,06 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 2,01 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3) δ : 170,65 (C=NH), 169,89 (C=O-Ac), 169,81 (C=O-Ac), 169,70 (C=O-Ac), 159,82 (C=O-Ac), 94,60 (C-1), 90,59, 71,29 (C-5), 68,89 (C-3), 67,94 (C-2), 65,46 (C-4), 62,13 (C-6), 50,85 ($\text{CH}_3\text{-Ac}$), 21,11 ($\text{CH}_3\text{-Ac}$), 20,85 ($\text{CH}_3\text{-Ac}$), 20,76 ($\text{CH}_3\text{-Ac}$). Ce composé est conforme à la littérature (Kalograiaki *et al.* 2018).

Benzylbetulinate **43**.

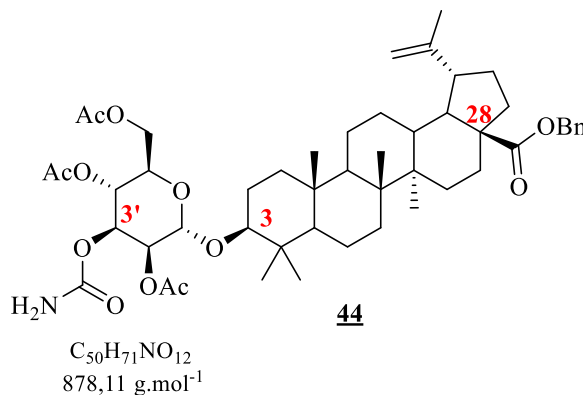
Le BnBr (300 μ L), le K_2CO_3 (0,5 g ; 3,6 mmol) et le DMF (20 mL) ont été ajoutés à l'acide bétulinique **4** (1,0 g ; 2,2 mmol). Le milieu réactionnel a été agité à température ambiante pendant 2 heures. La réaction a été stoppée avec de l'acétate d'éthyle (40 mL) et du toluène (40 mL). La phase organique a été lavée avec une solution de chlorure d'ammonium saturée (2 x 40 mL), avec une solution de $NaHCO_3$ saturée (2 x 40 mL) puis avec une solution de NaCl saturée (2 x 40 mL). La phase organique a été séchée sur du sulfate de sodium anhydre et concentrée sous pression réduite. Le produit brut a été purifié sur colonne de silice (Hexane : AcOEt ; gradient 1 : 0 $\rightarrow$ 75 : 25) pour donner le composé **43** sous forme d'une poudre blanche (1,04 g, 86 %) ; $R_f = 0,25$ (Hexane : AcOEt, 9 : 1). 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7,37 - 7,26 (m, 5H, H-aro), 5,12 (q, $J = 12,3$ Hz, 2H, H-32a, H-32b), 4,72 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H, H-29), 4,59 (s, 1H, H-29), 3,17 (dd, $J = 11,2$ Hz, $J = 5,1$ Hz, 1H, H-3), 3,02 (m, 1H, H-18), 2,31 - 2,13 (m, 2H), 1,68 (d, $J = 7,1$ Hz, 5H), 1,56 (dd, $J = 23,1$ Hz, $J = 11,4$ Hz, 1H), 1,51 - 1,09 (m, 17H), 1,04 (m, $J = 24,9$ Hz, 1H), 0,95 (s, 3H, H-27), 0,91 (s, 3H, H-23), 0,79 (s, 6H, H-25, H-26), 0,73 (s, 3H, H-24), 0,69 - 0,62 (m, 1H, H-5). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$) δ : 175,97 (O-C=O), 150,74 (CH_3 -C=C), 136,64 (C-aro), 128,64 (C-aro), 128,39 (C-aro), 128,21 (C-aro), 109,73 (C-29), 79,10 (C-3), 65,87 (C-32), 56,69 (C-17), 55,48 (C-5), 50,70 (C-9), 49,59 (C-19), 47,08 (C-18), 42,53 (C-14), 40,79 (C-8), 38,99 (C-4), 38,86 (C-1), 38,34 (C-13), 37,32 (C-10), 37,09 (C-22), 34,44 (C-7), 32,26 (C-16), 30,72 (C-15), 29,71 (C-21), 28,12 (C-23), 27,54 (C-2), 25,68 (C-12), 21,01 (C-11), 19,51 (C-30), 18,43 (C-

6), 16,27 (C-26), 15,97 (C-25), 15,50 (C-24), 14,82 (C-27). Ce composé est conforme à la littérature (Thibeault *et al.* 2007).

Procédure générale (D) pour la réaction de glycosylation

Le donneur de glycoside (1 éq.) et le benzylbétulinate **43** (1 éq.) ont été ajoutés au tamis moléculaire 4 Å. Le mélange a été dissous dans du dichlorométhane puis le trifluorométhylsulfonate de triméthylsilyle (TMSOTf) (0,1 éq.) a été ajouté au mélange sous agitation à 0°C. La réaction a été arrêtée par l'ajout de dichlorométhane et d'une solution de NaHCO₃ saturée. La phase aqueuse a été lavée trois fois avec du dichlorométhane. La phase organique a été séchée avec du sulfate de sodium anhydre et évaporée sous pression réduite. Le produit brut a été purifié sur colonne de silice (Hexane : AcOEt ; gradient : 8 : 2 → 1 : 1)(Gauthier *et al.* 2009).

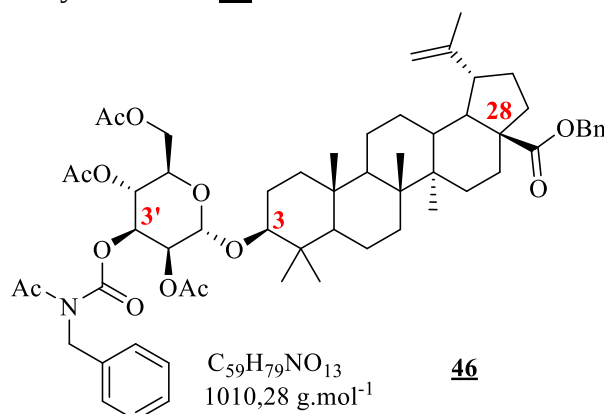
➤ 2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-carbamoyl- α -*D*-mannopyranosylbenzylbetulinate **44**.



Selon la procédure générale **D** pour la préparation des sucres glycosylés, la solution contenant le benzylbétulinate **43** (114,8 mg ; 0,021 mmol) et le donneur de glycoside **21** (105,4 mg ; 0,021 mmol) a permis d'obtenir le composé **44** sous forme d'un solide blanc (70 mg, 38 %) ; $R_f = 0,47$ (Hexane : AcOEt, 1 : 1) ; $[\alpha]^{20,0}_D +46,135$ (c 0,97, AcOEt). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ : 7,38 - 7,27 (m, 5H, H-aro), 5,29 - 5,18 (m, 2H), 5,16 - 5,04 (m, 3H, H-32a, H-32b, H-4'), 4,97 (s, 1H, H-1'), 4,84 (s, 1H, H-3'), 4,70 (s, 1H, H-29a), 4,57 (s, 1H, H-29b), 4,24 (dd, $J = 12,1 \text{ Hz}$, $J = 5,3 \text{ Hz}$, 1H, H-6a'), 4,10 (dd, $J = 12,0 \text{ Hz}$, $J = 5,0 \text{ Hz}$, 2H, H-6b', H-2'), 3,16 (dd, $J = 11,7 \text{ Hz}$, $J = 3,5 \text{ Hz}$, 1H, H-3),

3,00 (td, $J = 10,8$ Hz, $J = 4,3$ Hz, 1H, H-18), 2,26 (d, $J = 12,1$ Hz, 1H), 2,14 (s, 3H, CH₃-Ac), 2,07 (s, 3H, CH₃-Ac), 2,04 (s, 3H, CH₃-Ac), 1,93 - 1,78 (m, 2H), 1,56 (t, $J = 11,4$ Hz, 1H), 1,51 - 1,03 (m, 15H), 0,95 (s, 1H, H-27), 0,91 (s, 3H, H-23), 0,79 (s, 6H, H-25, H-26), 0,73 (s, 3H, H-24), 0,65 (t, $J = 10,7$ Hz, 1H, H-5). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃) δ : 175,84 (O-C=O), 170,72 (C=O-Ac), 170,25 (C=O-Ac), 170,11 (C=O-Ac), 155,40 (NH₂-C=O), 150,58 (CH₃-C=C), 136,54 (C-aro), 128,55 (C-aro), 128,34 (C-aro), 128,13 (C-aro), 109,70 (C-29), 94,76 (C-1'), 84,89 (C-3), 71,25 (C-5'), 70,12 (C-3'), 69,06 (C-4'), 66,44 (C-32), 65,80 (C-6'), 62,66 (C-6'), 56,58 (C-17), 55,78 (C-5), 50,60 (C-9), 49,51 (C-18), 46,99 (C-14), 42,44 (C-8), 40,73 (C-4), 38,54 (C-1), 38,34 (C-13), 38,22 (C-10), 37,14 (C-22), 37,00 (C-7), 34,36 (C-16), 32,18 (C-15), 30,63 (C-21), 29,61 (C-23), 28,68 (C-2), 25,56 (C-12), 22,47 (C-11), 21,07 (CH₃-Ac), 20,95 (CH₃-Ac), 20,86 (CH₃-Ac), 19,43 (C-30), 18,33 (C-6), 16,40 (C-26), 16,17 (C-25), 15,90 (C-24), 14,70 (C-27). Ce composé n'est pas caractérisé dans la littérature.

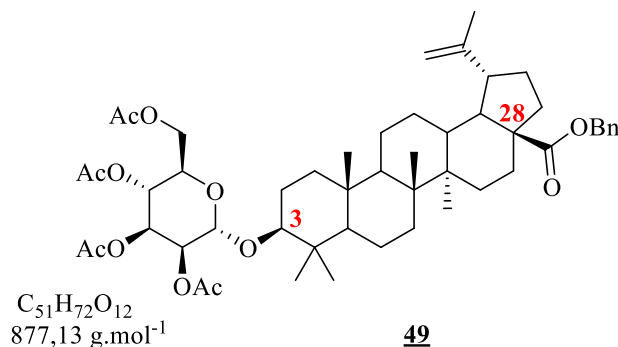
- 2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-acetylbenzylcarbamoyl- α -*D*-mannopyranosylbenzylbetulinate **46**.



Selon la procédure générale **D** pour la préparation des sucres glycosylés, la solution contenant le benzylbétulinate **43** (137,09 mg ; 0,02507 mmol) et le donneur de glycoside **22** (156,9 mg ; 0,02507 mmol) a permis d'obtenir le composé **46** sous forme d'un solide blanc (82 mg, 40 %) ; R_f = 0,31 (Hexane : AcOEt, 7 : 3) ; [α]^{20,4}_D +18,189 (c 1,06, AcOEt). ¹H RMN (400 MHz, MeOD) δ : 7,38 - 7,21 (m, 10H, H-aro), 5,33 (dd, $J =$

12,5 Hz, 2H, H-3, H-2'), 5,10 (q, $J = 12,3$ Hz, 3H, H-32a, H-32b, *Bn*-CH₂), 4,90 (s, 1H, H-1'), 4,71 (s, 1H, H-29a), 4,61 - 4,50 (m, 2H, H-29b, H-5'), 4,21 (dd, $J = 12,3$ Hz, $J = 5,3$ Hz, 1H, H-6a'), 4,06 - 4,01 (m, 1H, H-6b'), 3,79 (s, 1H, H-4'), 3,16 (dd, $J = 11,6$ Hz, $J = 3,9$ Hz, 1H, H-3), 3,00 (td, $J = 10,6$ Hz, $J = 4,2$ Hz, 1H, H-18), 2,60 (s, 3H, N-CH₃-Ac), 2,55 (t, 1H), 2,26 (d, H1), 2,22 - 2,12 (m, H1), 2,07 (s, 3H, CH₃-Ac), 2,03 (s, 3H, CH₃-Ac), 1,95 (s, 3H, CH₃-Ac), 1,91 - 1,71 (m, 4H), 1,56 (t, 1H) 1,51 - 0,99 (m, 15H), 0,95 (s, 3H, H-27), 0,91 (s, 3H, H-23), 0,78 (s, 3H, H-25), 0,77 (s, 3H, H-26), 0,74 (s, 3H, H-24), 0,64 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H, H-5). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃) δ : 175,89 (O-C=O), 172,72 (C=O-Ac), 170,74 (C=O-Ac), 169,51 (C=O-Ac), 153,79 (O-C=N), 150,61 (O-C=O), 137,30 (C-aro), 136,56 (C-aro), 128,58 (C-aro), 128,48 (C-aro), 128,35 (C-aro), 128,16 (C-aro), 128,06 (C-aro), 127,47 (C-aro), 109,73 (C-29), 97,21 (C-3'), 75,66 (C-3), 74,07 (C-1'), 70,90 (C-5'), 65,82 (C-32), 65,36 (C-2), 62,24 (C-6), 60,50, 56,63 (C-17), 56,09 (C-5), 50,62 (C-9), 49,54 (C-19), 47,33 (C-18), 47,02 (*Bn*-CH₂), 42,46 (C-14), 40,71 (C-8), 38,87 (C-4), 38,50 (C-1), 38,24 (C-13), 37,03 (C-10), 34,38 (C-22), 32,20 (C-7), 30,67 (C-16), 29,63 (C-15), 28,18 (C-21), 26,99 (N-CH₃-Ac), 25,79 (C-23), 25,60 (C-2), 21,15 (C-12), 20,95 (C-11), 20,82 (CH₃-Ac), 20,61 (CH₃-Ac), 19,49 (CH₃-Ac), 18,47 (C-30), 16,33 (C-6), 16,20 (C-26), 15,89 (C-25), 14,74 (C-24), 14,30 (C-27). Ce composé n'est pas caractérisé dans la littérature.

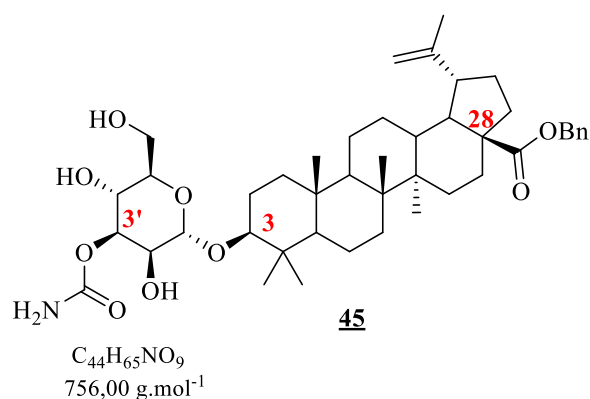
➤ 2,4,3,6-tetra-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosylbenzylbetulinate **49**.



Selon la procédure générale **D** pour la préparation des sucres glycosylés, la solution contenant le benzylbétulinate **43** (109,37 mg ; 0,2 mmol) et le donneur de

glycoside **23** (118,6 mg ; 0,24 mmol) a permis d'obtenir le composé **49** sous forme d'un solide blanc (48,2 mg, 23 %) ; $R_f = 0,4$ (Hexane : AcOEt, 1 : 1). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 7,38 - 7,24 (m, 5H, H-aro), 5,34 - 5,23 (m, 2H, H-32a, H-32b), 5,16 - 5,05 (m, 3H), 4,96 (s, 1H, H-1'), 4,71 (s, 1H, H-29a), 4,58 (s, 1H, H-29b), 4,24 (dd, $J = 12,6$ Hz, 1H, H-6a'), 4,13 - 4,07 (m, 4H, H-2', H-3', H-4', H-6b'), 3,17 (dd, $J = 11,7, 3,8$ Hz, 1H, H-3), 3,05 - 2,95 (m, 1H, H-18), 2,26 (d, $J = 12,5$ Hz, 1H), 2,15 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 2,09 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 2,04 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 1,98 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 1,93 - 1,81 (m, 2H), 1,67 (d, $J = 10,3$ Hz, 1H), 1,56 (t, 1H), 1,52 - 1,13 (m, 15H), 1,13 - 0,98 (m, 2H), 0,96 (s, 3H, H-27), 0,91 (s, 3H, H-23), 0,79 (s, 6H, H-25, H-26), 0,73 (s, 3H, H-24), 0,66 (t, $J = 9,6$ Hz, 1H, H-5). Ce composé est conforme à la littérature (Gauthier 2008).

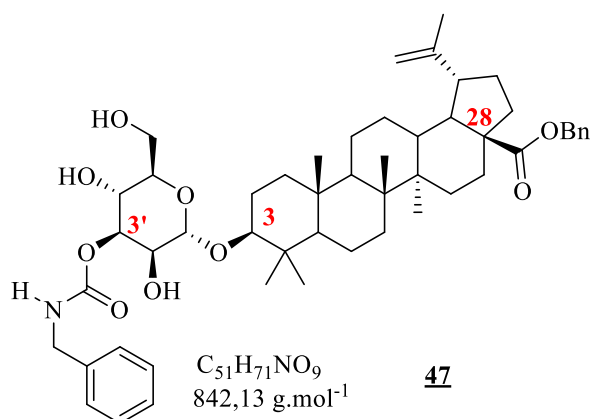
2,4,6-tri-*O*-hydroxyl-3-*O*-carbamoyl- α -*D*-mannopyranosylbenzylbetulinate **45**.



Le produit de glycosylation **44** (70 mg ; 0,0797 mmol) a été dissous dans du CH_2Cl_2 (1 mL) et du méthanol (1 mL). Le sodium (4,3 mg ; 0,134 mmol) a ensuite été ajouté au milieu réactionnel à 0°C. Le milieu réactionnel a été agité à température ambiante pendant 1 h 15. Un suivi par CCM a été effectué indiquant que la réaction était terminée. La réaction a été neutralisée avec de l'amberlite, résine Dowex H^+ . Le milieu a été rincé avec CH_2Cl_2 : MeOH, 1 : 1 (3 x 10 mL) et avec du MeOH (2 x 10 mL). Le produit brut a été purifié sur colonne de silice (AcOEt : MeOH ; gradient : 1 : 0 $\rightarrow$ 85 : 15) pour obtenir le composé **45** sous forme d'un solide blanc (40,4 mg, 64 %) ; $R_f = 0,47$ (CH_2Cl_2 : MeOH, 85 : 15). ^1H RMN (400 MHz, MeOD) δ : 7,33 - 7,22 (m, 5H, H-aro), 5,05 (q, $J =$

12,3 Hz, 2H, H-32a, H-32b), 4,94 (s, 1H, H-1'), 4,89 (s, 1H, H-3'), 4,82 (dd, $J = 9,9$ Hz, $J = 3,1$ Hz, 1H, H-5'), 4,74 (dd, $J = 3,2$ Hz, $J = 1,5$ Hz, 1H, H-4'), 4,65 (s, 1H, H-29a), 4,53 (s, 1H, H-29b), 3,91 - 3,58 (m, 5H, H-6a', H-6b', H-19, H-2'), 3,10 (td, $J = 11,2$ Hz, $J = 3,9$ Hz, 1H, H-3), 2,94 (td, $J = 10,7$ Hz, $J = 4,4$ Hz, 1H, H-18), 2,25 - 2,04 (m, 2H), 1,88 - 1,73 (m, 2H), 1,52 (t, $J = 11,3$ Hz, 1H), 1,46 - 0,99 (m, 15H), 0,90 (s, 3H, H-27), 0,87 (s, 3H, H-23), 0,73 (s, 3H, H-25), 0,70 (s, 3H, H-26), 0,68 (s, 3H, H-24), 0,60 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H, H-5). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3) δ : 176,11 (O-C=O), 150,59 ($\text{CH}_3\text{-C}=\text{C}$), 136,40 (C-aro), 128,51 (C-aro), 128,27 (C-aro), 128,11 (C-aro), 109,60 (C-29), 96,41 (C-3'), 94,66 (C-1'), 83,01, 75,25, 73,89 (C-4'), 73,08 (C-5'), 72,65, 70,33 (C-2'), 69,93, 67,24, 65,82 (C-32), 61,23 (C-6'), 56,61, 55,61 (C-17), 50,52 (C-5), 46,99 (C-9), 42,39 (C-18), 40,68 (C-14), 38,45 (C-8), 38,41 (C-4), 38,23 (C-1), 37,09 (C-13), 36,96 (C-10), 34,28 (C-22), 32,12 (C-7), 30,89 (C-16), 30,57 (C-15), 29,70 (C-21), 29,55 (C-23), 28,49 (C-2), 25,51 (C-12), 20,89 (11), 19,30 (C-30), 18,23 (C-6), 16,21 (C-26), 16,12 (C-25), 15,81 (C-24), 14,63 (C-27). Ce composé n'est pas caractérisé dans la littérature.

2,4,6-tri-*O*-hydroxyl-3-*O*-hydroxylbenzylcarbamoyl- α -*D*-mannopyranosylbenbylbetulinate **47**.

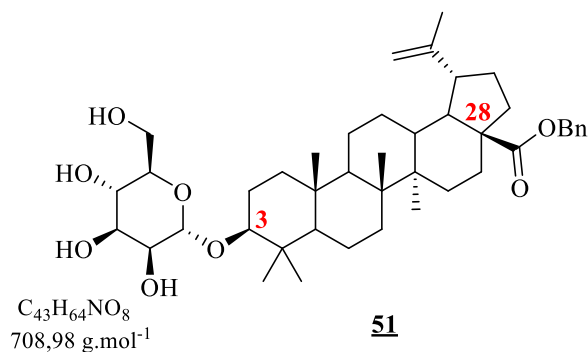


Le produit de glycosylation **46** (30,3 mg ; 0,0299 mmol) a été dissous dans du CH_2Cl_2 (1 mL) et du méthanol (1 mL). La solution de méthanolate de sodium (1 éq.) a ensuite été ajoutée au milieu réactionnel à 0°C. Le milieu réactionnel a été agité à température ambiante pendant 1 h 30. Un suivi CCM a été effectué indiquant que la

réaction n'était pas terminée. Un deuxième ajout de la solution de méthanolate de sodium a été effectué (5 μ L ; 0,1495 mmol) et le milieu réactionnel a été agité pendant 30 minutes. Un suivi CCM a été effectué indiquant que la réaction n'était pas terminée. Un troisième ajout de la solution de méthanolate de sodium a été effectué (10 μ L ; 0,299 mmol) et le milieu réactionnel a été agité pendant 30 minutes supplémentaires. Un suivi CCM a été effectué indiquant que la réaction n'était toujours pas terminée. Le milieu réactionnel a été laissé sous agitation pendant 2 jours supplémentaires. Un quatrième ajout de la solution de méthanolate de sodium a été effectuée (20 μ L ; 0,598 mmol) et le milieu réactionnel a été agité pendant 30 minutes supplémentaires. Un suivi par CCM a été effectué indiquant que la réaction était terminée. La réaction a été neutralisée avec de l'amberlite, résine Dowex H⁺. Le milieu a été rincée avec CH₂Cl₂ : MeOH, 1 : 1 (3 x 10 mL) et avec du MeOH (2 x 10 mL). Le produit brut a été purifié sur colonne de silice (AcOEt : MeOH ; gradient : 1 : 0 $\rightarrow$ 50 : 50) pour obtenir le composé **47** sous forme d'un solide blanc (6,9 mg, 27 %) ; R_f = 0,47 (CH₂Cl₂ : MeOH, 85 : 15). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ : 7,43 - 7,22 (m, 10H, H-aro), 6,13 (br s, 1H, NH), 5,18 - 5,05 (m, 3H, H-32a, H-32b, H-2'), 4,93 (d, *J* = 13,0 Hz, 2H, H-3', H-1'), 4,72 (s, 1H, H-29a), 4,60 (s, 1H, H-29b), 4,31 (d, *J* = 5,3 Hz, 2H, *Bn*-CH₂), 4,06 (s, 1H, H-2'), 3,97 - 3,82 (m, 2H, H-6a), 3,78 - 3,61 (m, 2H, H-6b, H-4'), 3,35 (s, 1H), 3,14 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H, H-3), 3,02 (s, 1H, H-18), 2,28 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 2,17 (t, *J* = 11,8 Hz, 1H), 1,96 - 1,79 (m, 3H), 1,57 (t, 2H), 1,50 - 1,04 (m, 17H), 0,93 (s, 6H, H-23, H-27), 0,78 (s, 3H, H-25), 0,75 (s, 3H, H-26), 0,74 (s, 3H, H-24), 0,68 - 0,61 (m, 1H, H-5). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃) δ : 175,94 (O-C=O), 157,28 (O-C=N), 150,71 (O-C=O), 138,21 (C-aro), 136,62 (C-aro), 128,86 (C-aro), 128,63 (C-aro), 128,39 (C-aro), 128,20 (C-aro), 127,72 (C-aro), 127,70 (C-aro), 110,11 (C-29), 96,33 (C-1'), 83,45 (C-3), 73,12 (C-3'), 70,82 (C-5), 65,87 (C-32), 61,54 (C-6), 56,69 (C-17), 55,75 (C-5), 50,66 (C-9), 49,59 (C-19), 47,08 (C-18), 45,33 (*Bn*-CH₂), 42,53 (C-14), 40,82 (C-8), 38,61 (C-4), 38,41 (C-1), 38,32 (C-13), 37,08

(C-10), 34,44 (C-22), 32,26 (C-7), 30,72 (C-16), 29,85 (C-15), 28,77 (C-21), 25,68 (C-23), 25,66 (C-2), 21,04 (C-12), 19,52 (C-11), 18,38 (C-30), 16,49 (C-6), 16,29 (C-26), 15,99 (C-25), 14,80 (C-24), 14,28 (C-27). Ce composé n'est pas caractérisé dans la littérature.

2,4,3,6-tetrahydroxyl- α -D-mannopyranosylbenzylbetulinate **51**.

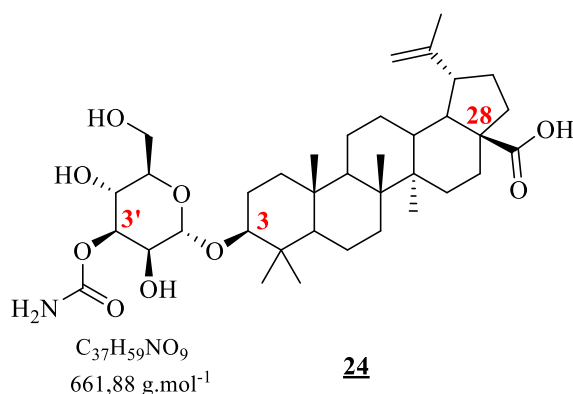


Le produit de glycosylation (48,2 mg ; 0,055 mmol) a été dissous dans du CH_2Cl_2 (1mL) et le méthanol (0,5 mL). Une solution de méthanolate de sodium (1,2 mL) a été ajoutée au milieu réactionnel. La réaction a été agitée à température ambiante pendant 2 h 30. Un suivi CCM a été effectué indiquant que la réaction était terminée. La réaction a été stoppée par ajout de la résine H^+ , l'amberlite. Le tout a été filtré puis évaporé. Le produit brut a été purifié sur colonne de silice (CH_2Cl_2 : MeOH ; gradient : 1 : 0 $\rightarrow$ 9 : 1) afin d'obtenir le composé **51** sous forme d'un solide blanc (19,3 mg, 50 %) ; R_f = 0,28 (CH_2Cl_2 : MeOH, 95 : 5). 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7,34 - 7,26 (m, 5H, H-aro), 5,11 (dd, J = 19,4 Hz, J = 12,3 Hz, 2H, H-32a, H-32b), 4,97 (s, 1H, H-1'), 4,73 (s, 1H, H-29a), 4,60 (s, 1H, H-29b), 3,96 (d, 2H, H-4', H-6a'), 3,82 (s, 2H, H-2', H-3'), 3,71 (d, J = 11,1 Hz, 1H, H-6b'), 3,62 (d, J = 8,3 Hz, 1H, H-5'), 3,12 (d, J = 8,8 Hz, 1H, H-3), 3,03 (s, 1H, H-18), 2,29 - 2,17 (m, 2H), 1,87 (m, J = 16,2- 9,4 Hz, 1H), 1,68 (s, 6H), 1,58 (t, 2H), 1,52 - 1,14 (m, 17H), 1,09 (d, J = 10,3 Hz, 2H), 0,93 (s, 3H, H-27), 0,89 (s, 3H, H-23), 0,78 (s, 3H, H-25), 0,76 (s, 3H, H-24), 0,72 (s, 3H, H-26), 0,65 (s, 1H, H-5). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$) δ : 176,01 (O-C=O), 150,76 (CH_3 -C=C), 136,73 (C-aro),

128,72 (C-aro), 128,47 (C-aro), 128,29 (C-aro), 109,90 (C-29), 96,64 (C-1'), 83,05 (C-3), 72,95 (C-5'), 72,20 (C-3'), 72,04 (C-2'), 66,43 (C-4'), 65,95 (C-32), 61,12 (C-6'), 56,78 (C-17), 55,84 (C-5), 50,77 (C-9), 49,68 (C-19), 47,17 (C-18), 42,62 (C-14), 40,92 (C-8), 38,66 (C-4), 38,54 (C-1), 38,41 (C-13), 37,31 (C-10), 34,57 (C-22), 32,33 (C-7), 30,82 (C-16), 29,94 (C-15), 28,80 (C-21), 25,75 (C-23), 22,79, 22,25, 21,13 (C-11), 19,62 (C-30), 18,47 (C-6), 16,58 (C-26), 16,37 (C-25), 16,11 (C-24), 14,92 (C-27).

Ce composé est conforme à la littérature (Gauthier 2008).

Acide 2,4,6-tri-*O*-hydroxyl-3-*O*-carbamoyl- α -*D*-mannopyranosylbetulinique **24**.



Le produit déprotégé des acétates du sucre **44** (38,3 mg ; 0,0549 mmol) a été placé sous atmosphère d'hydrogène. Puis, du MeOH (2 mL) et du Pd/C ont été ajoutés. Le milieu réactionnel a été agité à reflux pendant 3 h 30. Un suivi par CCM a été effectué indiquant que la réaction était terminée. Le milieu réactionnel a été filtré sur une fine couche de célite. Le tout a été rincé avec CH₂Cl₂ : MeOH 1 : 1 (3 x 10 mL) et avec du MeOH (2 x 10 mL). Le produit brut a été purifié manuellement sur colonne de silice (CHCl₃ : MeOH ; gradient : 1 : 0 → 95 : 5) pour obtenir le composé **24** sous forme d'un solide blanc (7 mg, 21 %) ; R_f = 0,43 (CH₂Cl₂ : MeOH, 85 : 15) ; positive-ion HRMS *m/z* 661,42 [M+H]⁺ (calculé pour C₃₇H₆₀NO₉, 661,42). ¹H RMN (400 MHz, MeOD) δ : 5,50 (s, 1H, H-1'), 5,13 (s, 1H, H-3'), 5,00 (s, 2H), 4,71 (s, 3H), 4,59 (s, 2H), 3,93 - 3,60 (m, 17H), 3,04 (s br, 2H), 2,41 - 2,16 (m, 7H), 2,15 - 1,77 (m, 12H), 1,66 - 1,13 (m, 47H),

1,05 (s, 5H), 1,02 (s, 6H), 1,01 (s, 7H), 0,99 (s, 11H), 0,94 - 0,85 (m, 24H), 0,82 (s, 3H, H-27, H-23), 0,81 (s, 6H, H-25, H-26), 0,79 (s, 3H, H-24), 0,78 (s, 3H, H-5). Ce composé n'est pas caractérisé dans la littérature

CONCLUSION

Le premier objectif de ce projet était de synthétiser des donneurs de carbamoylmannoses par deux voies de synthèses différentes, mais également le donneur de mannose dépourvu de carbamate. Le second objectif du projet consistait à préparer des glycosides de carbamoylmannoses à partir de l'accepteur de glycoside, l'acide bétulinique protégé en position 28. Le fragment carbamoylmannose final en position 3 a été obtenu selon la première voie de synthèse classique en 12 étapes. Nous avons, par la suite, optimisé cette synthèse totale avec une seconde voie non-décrite dans la littérature en réduisant le nombre d'étapes nécessaire à 7. Faute de temps, la seconde voie de synthèse a été arrêtée à une étape d'obtenir le conjugué carbamoylé. Il serait intéressant de compléter cette voie de synthèse prometteuse en optimisant les dernières étapes de déprotections. Quant à la séquence dépourvue du carbamate, la séquence a été arrêtée à une étape d'obtenir le conjugué final.

Les essais de glycosylations effectués ont permis d'obtenir des glycosides protégés, proches des produits cibles de ce projet. Les essais de déprotection n'ont malheureusement pas permis d'obtenir les conjugués ciblés.

En perspective, il serait très intéressant de finaliser ce projet dans le but de connaître l'attrait biologique des molécules cibles de ce mémoire. Puis, ce même projet pourrait être élargi à l'utilisation du bétulinol en tant qu'agent cytotoxique, molécule très reconnue dans la littérature scientifique pour ses propriétés anticancéreuses. Ces travaux de recherches pourraient être étendus au fragment carbamoylmannose en position 2. Cette approche pourrait permettre de bonifier l'activité de composés à potentiel anticancéreux.

REFERENCES

- Alakurtti S, Mäkelä T, Koskimies S et Yli-Kauhaluoma J. 2006. Pharmacological properties of the ubiquitous natural product betulin. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 29 : 1-13.
- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K et Walter P. 2002. 17-An overview of the cell cycle. Dans : *Molecular Biology of the Cell* 4th edition. Garland Science, New York, p. 863-1020.
- Aronson J-K. 2016. Bleomycin. Dans : *Meyler's side effects of drugs*. Elsevier, Amsterdam, p. 1005-1006.
- Avendano C et Menendez JC. 2015. *Medicinal chemistry of cancer drugs*. Elsevier, Amsterdam, 740 p.
- Avendaño C et Menéndez JC. 2008. Chapter 4 - Anticancer Drugs Acting via Radical Species, Photosensitizers and Photodynamic Therapy of Cancer. Dans : Avendaño C et Menéndez JC eds. *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs*. Elsevier, Amsterdam, p. 93-138.
- Bachran C, Bachran S, Sutherland M, Bachran D et Fuchs H. 2008. Saponins in tumor therapy. *Mini reviews in Medicinal Chemistry*, 8 : 575-584.
- Baglin I, Mitaine-Offer AC, Nour M, Tan K, Cavé C et Lacaille-Dubois MA. 2003a. A review of natural and modified betulinic, ursolic and echinocystic acid derivatives as potential antitumor and anti-HIV agents. *Mini reviews in Medicinal Chemistry*, 3 : 525-539.
- Baglin I, Poumaroux A, Nour M, Tan K, Mitaine-Offer A, Lacaille-Dubois M, Chauffert B et Cavé C. 2003b. New ursolic and betulinic derivatives as potential cytotoxic agents. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 18 : 111-117.
- Bang S-C, Lee J-H, Song G-Y, Kim D-H, Yoon M-Y et Ahn B-Z. 2005. Antitumor activity of *Pulsatilla koreana* saponins and their structure-activity relationship. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53 : 1451-1454.
- Baudino T. 2015. Targeted cancer therapy: the next generation of cancer treatment. *Current Drug Discovery Technologies*, 12 : 3-20.
- Berlowska J, Dudkiewicz M, Kregiel D, Czyzowska A et Witonska I. 2015. Cell lysis induced by membrane-damaging detergent saponins from *Quillaja saponaria*. *Enzyme and Microbial Technology*, 75-76 : 44-48.
- Bernard P, Scior T, Didier B, Hibert M et Berthon J-Y. 2001. Ethnopharmacology and bioinformatic combination for leads discovery: application to phospholipase A2 inhibitors. *Phytochemistry*, 58 : 865-874.
- Bhattacharya C, Yu Z, Rishel MJ et Hecht SM. 2014. The carbamoylmannose moiety of bleomycin mediates selective tumor cell targeting. *Biochemistry*, 53 : 3264.

Bi Y, XU J-Y et WU X-M. 2005. Advances in research of betulinic acids. Chinese New Drugs Journal, 1.

Bianchi V et El Abassi S. 2018. Médicaments. DeBoeck, Paris, 208 p.

Boger DL et Honda T. 1994. Total synthesis of bleomycin A2 and related Agents. 4. Synthesis of the disaccharide subunit 2-O-(3-O-Carbamoyl-.alpha.-D-mannopyranosyl)-L-gulopyranose and completion of the total synthesis of bleomycin A2. Journal of the American Chemical Society, 116 : 5647-5656.

Braca A, De Simone F, Marzocco S, Morelli I, Venturella F et De Tommasi N. 2004. Cytotoxic saponins from *Schefflera rotundifolia*. Planta medica, 70 : 960-966.

Bringmann G, Saeb W, Assi LA, Francois G, Narayanan AS, Peters K et Peters E-M. 1997. Betulinic acid: isolation from *Triphyophyllum peltatum* and *Ancistrocladus heyneanus*, antimalarial activity, and crystal structure of the benzyl ester. Planta medica, 63 : 255-257.

Bruneton J. 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes medicinales. Éditions médicales internationales, Cachan, 1120 p.

Bubb WA. 2003. NMR spectroscopy in the study of carbohydrates: Characterizing the structural complexity. Concepts in Magnetic Resonance Part A, 19 : 1-19.

Carol M. 2017. Prise en charge des effets indésirables de la chimiothérapie anticancéreuse à l'officine par homéopathie, aromathérapie et phytothérapie. Thèse, Université Toulouse III Paul Sabatier, Toulouse, 145 p.

Castel M, Despas F, Modesto A, Gales C, Honton B, Galinier M, Senard J-M et Pathak A. 2013. Effets indésirables cardiaques des chimiothérapies. La Presse Médicale, 42 : 26-39.

Cella DF, Tulskey DS, Gray G, Sarafian B, Linn E, Bonomi A, Silberman M, Yellen SB, Winicour P et Brannon J. 1993. The functional assessment of cancer therapy scale: development and validation of the general measure. Journal Clinical Oncology, 11 : 570-579.

Chan L et Taylor MS. 2011. Regioselective alkylation of carbohydrate derivatives catalyzed by a diarylboronic acid derivative. Organic letters, 13 : 3090-3093.

Chandramu C, Manohar RD, Krupadanam DGL et Dashavantha RV. 2003. Isolation, characterization and biological activity of betulinic acid and ursolic acid from *Vitex negundo L.* Phytotherapy Research, 17 : 129-134.

Chaturvedi PK, Bhui K et Shukla Y. 2008. Lupeol : Connotations for chemoprevention. Cancer Letters, 263 : 1-13.

Che R, Zhu Q, Yu J, Li J, Yu J et Lu W. 2017. Syntheses of two kinds of disaccharide subunits of antitumor antibiotic bleomycins. Tetrahedron, 73 : 6172-6180.

Chen C, Si S, He Q, Xu H, Lu M, Xie Y, Wang Y et Chen R. 2008. Isolation and characterization of antibiotic NC0604, a new analogue of bleomycin. *The Journal of Antibiotics*, 61 : 747-751.

Chen JK, Yang D, Shen B et Murray V. 2017. Bleomycin analogues preferentially cleave at the transcription start sites of actively transcribed genes in human cells. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 85 : 56-65.

Cichewicz RH et Kouzi SA. 2004. Chemistry, biological activity, and chemotherapeutic potential of betulinic acid for the prevention and treatment of cancer and HIV infection. *Medicinal Research Reviews*, 24 : 90-114.

Cmoch P, Pakulski Z, Swaczynová J et Strnad M. 2008. Synthesis of lupane-type saponins bearing mannosyl and 3,6-branched trimannosyl residues and their evaluation as anticancer agents. *Carbohydrate Research*, 343 : 995-1003.

Comité consultatif des statistiques canadiennes sur le cancer. 2019. Statistiques canadiennes sur le cancer 2019. Société canadienne du cancer, Toronto 98 p.

Comité consultatif des statistiques canadiennes sur le décès. 2018. Rapport statistiques des principales causes de mortalité. Société canadienne sur cancer, Toronto, 5 p.

Cragg GM et Newman DJ. 2005. Plants as a source of anti-cancer agents. *Journal of Ethnopharmacology*, 100 : 72-79.

Deng S, Yu B, Xie J et Hui Y. 1999. Highly efficient glycosylation of sapogenins. *The Journal of Organic Chemistry*, 64 : 7265-7266.

DeVita VT et Chu E. 2008. A history of cancer chemotherapy. *Cancer Research*, 68 : 8643-8653.

DeVita VT, Lawrence TS et Rosenberg SA. 2019. DeVita, Hellman, and Rosenberg's cancer : principles & practice of oncology. Wolters Kluwer, Philadelphia, 4360 p.

Dimitrijevi E et Taylor MS. 2013. 9-Hetero-10-boraanthracene-derived borinic acid catalysts for regioselective activation of polyols. *Chemical Science*, 4 : 3298-3303.

Ding H, Wu X, Pan J, Hu X, Gong D et Zhang G. 2018. New Insights into the Inhibition Mechanism of Betulinic Acid on α -Glucosidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66 : 7065-7075.

Dolan C, Burke CS, Byrne A et Keyes TE. 2017. Cellular uptake and sensing capability of transition metal peptide conjugates. Dans : *Inorganic and organometallic transition metal complexes with biological molecules and living cells*. Academic Press, Dublin, p. 55-89.

Dulohery M, Maldonado F et Limper AH. 2016. 71-Drug-induces pulmonary disease. Dans : *Murray & Nadel's textbook of Respiratory Medicine*. Elsevier, Philadelphie, p. 1275-1294.

Dzubak P, Hajduch M, Vydra D, Hustova A, Kvasnica M, Biedermann D, Markova L, Urban M et Sarek J. 2006. Pharmacological activities of natural triterpenoids and their therapeutic implications. *Natural Product Reports*, 23 : 394-411.

Einzig AI, Wiernik PH, Sasloff J, Runowicz CD et Goldberg GL. 1992. Phase II study and long-term follow-up of patients treated with taxol for advanced ovarian adenocarcinoma. *Journal of Clinical Oncology*, 10 : 1748-1753.

El Nemr AEA, El Sayed H. 2005. Synthesis of naturally occurring nitrogen heterocycles from carbohydrates. Blackwell Publishing, Oxford, 462 p.

Excoffier G, Gagnaire D et Utile J-P. 1975. Coupure sélective par l'hydrazine des groupements acétyles anomères de résidus glycosyles acétylés. *Carbohydrate Research*, 39 : 368-373.

Fafard P. 2010. Étude de la synthèse des taxanes chez l'if du Canada (*Taxus Canadensis Marsh.*) et recherche de traitements pouvant influencer cette dernière. Thèse, Université Laval, Québec, 122 p.

Farrar D. 2011. Advanced wound repair therapy. Woodhead Publishing United Kingdom, 649 p.

Fernández MA, de las Heras B, Garcia MD, Sáenz MT et Villar A. 2001. New insights into the mechanism of action of the anti-inflammatory triterpene lupeol. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53 : 1533-1539.

Francis G, Kerem Z, Makkar HP et Becker K. 2002. The biological action of saponins in animal systems: a review. *British journal of Nutrition*, 88 : 587-605.

Fujioka T, Kashiwada Y, Kilkuskie RE, Cosentino LM, Ballas LM, Jiang JB, Janzen WP, Chen I-S et Lee K-H. 1994. Anti-AIDS agents, 11. Betulinic acid and platanic acid as anti-HIV principles from *Syzigium claviflorum*, and the anti-HIV activity of structurally related triterpenoids. *Journal of Natural Products*, 57 : 243-247.

Fulda S, Friesen C, Los M, Scaffidi C, Mier W, Benedict M, Nuñez G, Krammer PH, Peter ME et Debatin K-M. 1997. Betulinic acid triggers CD95 (APO-1/Fas)-and p53-independent apoptosis via activation of caspases in neuroectodermal tumors. *Cancer Research*, 57 : 4956-4964.

Gauthier C. 2006. Glycosidation de triterpènes pentacycliques de type lupane et évaluation in vitro de leur potentiel anticancéreux. Mémoire de maîtrise, Université du Québec à Chicoutimi, Chicoutimi, 231 p.

Gauthier C. 2008. Amélioration du comportement biopharmaceutique de triterpènes naturels anticancéreux par synthèse de saponines mono- et bidesmosidiques. Thèse, Université du Québec à Chicoutimi, Chicoutimi, 332 p.

Gauthier C, Legault J, Piochon-Gauthier M et Pichette A. 2011. Advances in the synthesis and pharmacological activity of lupane-type triterpenoid saponins. *Phytochemistry Reviews*, 10 : 521-544.

Gauthier C, Legault J, Lavoie S, Rondeau S, Tremblay S et Pichette A. 2009. Synthesis and cytotoxicity of bidesmosidic betulin and betulinic acid saponins. *Journal of Natural Products*, 72 : 72-81.

Habiyaremye I, Stevanovic-Janezic T, Riedl B, Garneau F-X et Jean F-I. 2002. Pentacyclic triterpene constituents of yellow birch bark from Quebec*. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 22 : 83-91.

Hayek EW, Jordis U, Moche W et Sauter F. 1989. A bicentennial of betulin. *Phytochemistry*, 28 : 2229-2242.

Holmes FA, Walters RS, Theriault RL, Buzdar AU, Frye DK, Hortobagyi GN, Forman AD, Newton LK et Raber MN. 1991. Phase II trial of taxol, an active drug in the treatment of metastatic breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 83 : 1797-1805.

Horbach SER, Lokhorst MM, Saeed P, de Goüyon Matignon de Pontouraude CMF, Rothová A et van der Horst CMAM. 2016. Sclerotherapy for low-flow vascular malformations of the head and neck: A systematic review of sclerosing agents. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, 69 : 295-304.

Huang S-X, Feng Z, Wang L, Galm U, Wendt-Pienkowski E, Yang D, Tao M, Coughlin JM, Duan Y et Shen B. 2012. A designer bleomycin with significantly improved DNA cleavage activity. *Journal of the American Chemical Society*, 134 : 13501-13509.

Ida N, Elisabet IN, Lena EF et Mats OK. 2017. Model-based prediction of myelosuppression and recovery based on frequent neutrophil monitoring. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* : 1-11.

Jäger S, Winkler K, Pfüller U et Scheffler A. 2007. Solubility studies of oleanolic acid and betulinic acid in aqueous solutions and plant extracts of *Viscum album L.* *Planta medica*, 73 : 157-162.

Jarowicki K et Kocienski P. 2000. Protecting groups. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* : 2495-2527.

Jeong H-J, Chai H-B, Park S-Y et Kim DS. 1999. Preparation of amino acid conjugates of betulinic acid with activity against human melanoma. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 9 : 1201-1204.

Kalograiaki I, Abellán-Flos M, Fernández LÁ, Menéndez M, Vincent SP et Solís D. 2018. Direct evaluation of live uropathogenic *Escherichia coli* adhesion and efficiency of antiadhesive compounds using a simple microarray approach. *Analytical Chemistry*, 90 : 12314-12321.

Kessler JH, Mullauer FB, de Roo GM et Medema JP. 2007. Broad in vitro efficacy of plant-derived betulinic acid against cell lines derived from the most prevalent human cancer types. *Cancer Letters*, 251 : 132-145.

Kim DS, Chen Z, Nguyen vT, Pezzuto JM, Qiu S et Lu Z-Z. 1997. A concise semi-synthetic approach to betulinic acid from betulin. *Synthetic communications*, 27 : 1607-1612.

Knottenbelt DC, Paterson-Kane JC et Snalune K. 2015. Clinical Equine oncology. Elsevier, Edinburgh, 699 p.

Kolomitsyn IV, Holy J, Perkins E et Krasutsky PA. 2007. Analysis and antiproliferative activity of bark extractives of *Betula neoalaskana* and *Betula papyrifera*. Synthesis of the most active extractive component-betulin 3-cafeate. Natural Product Communications, 2 : 17-26.

Kommerer H, Kaluđerović GN, Dittrich S, Kalbitz J, Dräger B, Mueller T et Paschke R. 2010. Carbamate derivatives of betulinic acid and betulin with selective cytotoxic activity. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 20 : 3409-3412.

Kong J, Yi L, Xiong Y, Huang Y, Yang D, Yan X, Shen B, Duan Y et Zhu X. 2018. The discovery and development of microbial bleomycin analogues. Applied Microbiology and Biotechnology, 102 : 6791-6798.

Krasutsky PA. 2006. Birch bark research and development. Natural Product Reports, 23 : 919-942.

Kutkowska JS, L. ; Rapak, A. 2018. Sorafenib en association avec l'acide bétulinique induit de manière synergique une arrestation du cycle cellulaire et inhibe l'activité clonogénique dans les cellules d'adénocarcinome canalaire du pancréas. International Journal of Molecules Sciences, 19 : 3234.

Kvasnica M, Sarek J, Klinotova E, Dzubak P et Hajduch M. 2005. Synthesis of phthalates of betulinic acid and betulin with cytotoxic activity. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 13 : 3447-3454.

Kwok KK, Vincent EC et Gibson JN. 2017. 36 - Antineoplastic Drugs. Dans : Pharmacology and therapeutics for dentistry (seventh edition). Mosby, Saint Louis, p. 530-562.

Larson DP et Heathcock CH. 1997. Total synthesis of tricolorin A. The Journal of Organic Chemistry, 62 : 8406-8418.

Lavoie S. 2001. Contribution à la synthèse de dérivés de l'acide bétulinique à partir du bétulinol extrait de l'écorce du bouleau blanc (*Betula papyrifera*). Mémoire de maîtrise, Université du Québec à Chicoutimi, Chicoutimi, 142 p.

Madduri S, Chris VG et Philip SL. 2015. Principles in the design of ligand-targeted cancer therapeutics and imaging agents. Nature Reviews Drug Discovery, 14.

Mahato SB et Sen S. 1997. Advances in triterpenoid research, 1990–1994. Phytochemistry, 44 : 1185-1236.

Mahato SB, Nandy AK et Roy G. 1992. Triterpenoids. Phytochemistry, 31 : 2199-2249.

Manase MJ. 2013. Etude chimique et biologique de saponines isolées de trois espèces Malgaches appartenant aux familles des caryophyllaceae, pittosporaceae et solanaceae. Thèse, Université de Bourgogne, Bourgogne, 222 p.

Micallef C-M, Shield KD, Hill C, Rogel A, Menvielle G, Dossus L, Ormsby J-N, Rehm J, Rushton L, Vineis P, Parkin M, Bray F et Soerjomataram I. 2018. Les cancers attribuables au mode de vie et à l'environnement en France métropolitaine. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire, Lyon, 448 p.

Millar A, Kim KH, Minster DK, Ohgi T et Hecht SM. 1986. Synthesis of the carbohydrate moiety of bleomycin. 2,3,4,6-Tetra-O-substituted D-mannose derivatives. The Journal of Organic Chemistry, 51 : 189-196.

Mshvildadze V. 2016a. Les saponines triterpéniques (Cours). Pharmacognosie I, 9 Novembre 2016, UQAC, Chicoutimi.

Mshvildadze V. 2016b. Les saponines stéroïdiques (Cours). Pharmacognosie I, 9 Novembre 2016, UQAC, Chicoutimi.

Mukherjee R, Kumar V, Srivastava SK, Agarwal SK et Burman AC. 2006. Betulinic acid derivatives as anticancer agents: structure activity relationship. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry, 6 : 271-279.

Mullauer FB, Kessler JH et Medema JP. 2009. Betulin is a potent anti-tumor agent that is enhanced by cholesterol. PLoS ONE, 4 : 1-8.

Murphy WK, Fossella FV, Winn RJ, Shin DM, Hynes H, Gross HM, Davilla E, Leimert J, Dhingra H et Raber MN. 1993. Phase II study of taxol in patients with untreated advanced non-small-cell lung cancer. Journal of the National Cancer Institute, 85 : 384-388.

O'Connell MM, Bentley MD, Campbell CS et Cole BJW. 1988. Betulin and lupeol in bark from four white-barked birches. Phytochemistry, 27 : 2175-2176.

Osborn A. 1996. Saponins and plant defence—a soap story. Trends in plant science, 1 : 4-9.

Padiya KJ, Gavade S, Kardile B, Tiwari M, Bajare S, Mane M, Gaware V, Varghese S, Harel D et Kurhade S. 2012. Unprecedented “in water” imidazole carbonylation : paradigm shift for preparation of urea and carbamate. Organic letters, 14 : 2814-2817.

Park H-J, Kwon S-H, Lee J-H, Lee K-H et Lee K. 2001. Kalopanaxsaponin A is a basic saponin structure for the antitumor activity of hederagenin monodesmosides. Planta medica, 67 : 118-121.

Patterson AD, Gonzalez FJ, Perdew GH et Peters JM. 2018. Molecular Regulation of Carcinogenesis: Friend and Foe. Toxicological Sciences, 165 : 277-283.

Phillips DR, Rasbery JM, Bartel B et Matsuda SPT. 2006. Biosynthetic diversity in plant triterpene cyclization. Current Opinion in Plant Biology, 9 : 305-314.

Pichette A, Legault J et Gauthier C. 2012. Bidesmosidic betulin and betulinic acid derivatives and uses thereof as antitumor agents. . US20110224159A1. Canada.

Pisha E, Chai H, Lee IS, Chagwedera TE, Farnsworth NR, Cordell GA, Beecher CWW, Fong HHS, Kinghorn AD, Brown DM, Wani MC, Wall ME, Hieken TJ, Gupta TKD et Pezzuto JM. 1995. Discovery of betulinic acid as a selective inhibitor of human melanoma that functions by induction of apoptosis. *Nature Medicine*, 1 : 1046-1051.

Pitié M, Boldron C et Pratviel G. 2006. DNA oxidation by copper and manganese complexes. Dans : van Eldik R et Reedijk J éd. *Advances in Inorganic Chemistry*. Academic Press, p. 77-130.

Poláková M, Roslund MU, Ekholm FS, Saloranta T et Leino R. 2009. Synthesis of β -(1 $\rightarrow$ 2)-Linked Oligomannosides. *European Journal of Organic Chemistry*, 2009 : 870-888.

Polovich M, Olsen M et LeFebvre K. 2014. Chemotherapy and biotherapy guidelines and recommendations for practice. . PA Oncology Nursing Society, Pittsburgh, 493 p.

Pyo JS, Roh SH, Kim DK, Lee JG, Lee YY, Hong SS, Kwon SW et Park JH. 2009. Anti-cancer effect of betulin on a human lung cancer cell line: a pharmacoproteomic approach using 2 D SDS PAGE coupled with nano-HPLC tandem mass spectrometry. *Planta medica*, 75 : 127-131.

Rao AV et Gurfinkel DM. 2000. The bioactivity of saponins: Triterpenoid and steroidal glycosides. *Drug Metabolism and Drug Interactions*, 17 : 211-235.

Saleem M. 2009. Lupeol, a novel anti-inflammatory and anti-cancer dietary triterpene. *Cancer Letters*, 285 : 109-115.

Sankaranarayanan K, Ramachandran RP et Sundararajan R. 2014. 6 - Electrically-enhanced proliferation control of cancer-stem-cells-like adult human mesenchymal stem cells – a novel modality of treatment. Dans : Sundararajan R éd. *Electroporation-based therapies for cancer*. Woodhead Publishing, Amsterdam, p. 127-159.

Schmidt RR. 1986. New methods for the synthesis of glycosides and oligosaccharides-are there alternatives to the Koenigs-Knorr method. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 25 : 212-235.

Schmidt RR et Michel J. 1980. Einfache Synthese von α -und β -O-Glykosylimidaten; Herstellung von Glykosiden und Disacchariden. *Angewandte Chemie*, 92 : 763-764.

Siorat V, Raybaut C, Poisson N et Paubel P. 2017. Impact de la chute des brevets sur le critère « qualité » et sur le prix des médicaments à l'hôpital : étude sur cinq anticancéreux entre 2008 et 2015 à l'Assistance publique-Hôpitaux de Paris. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 75 : 59-66.

Sirois G. 2005. La récolte de l'If au Québec. *Le Monde Forestier*, juin : 26-28.

Sparg S, Light M et Van Staden J. 2004. Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*, 94 : 219-243.

Steele JCP, Warhurst DC, Kirby GC et Simmonds MSJ. 1999. *In vitro* and *In vivo* evaluation of betulinic acid as an antimalarial. *Phytotherapy Research*, 13 : 115-119.

Tanaka N, Ogawa I, Yoshigase S et Nokami J. 2008. Regioselective ring opening of benzylidene acetal protecting group(s) of hexopyranoside derivatives by DIBAL-H. *Carbohydrate Research*, 343 : 2675-2679.

Telloni SM. 2017. Tumor staging and grading : a primer. Dans : *Methods in molecular biology*. Human Press, New York, p. 1-17.

Thibeault D, Gauthier C, Legault J, Bouchard J, Dufour P et Pichette A. 2007. Synthesis and structure–activity relationship study of cytotoxic germanicane- and lupane-type 3 β -O-monodesmosidic saponins starting from betulin. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15 : 6144-6157.

Tolstikova T, Sorokina I, Tolstikov G, Tolstikov A et Flekhter O. 2006. Biological activity and pharmacological prospects of lupane terpenoids: I. Natural lupane derivatives. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 32 : 37-49.

Trimble E, Adams J, Vena D, Hawkins M, Friedman M, Fisherman J, Christian M, Canetta R, Onetto N et Hayn R. 1993. Paclitaxel for platinum-refractory ovarian cancer: results from the first 1,000 patients registered to National Cancer Institute Treatment Referral Center 9103. *Journal of Clinical Oncology*, 11 : 2405-2410.

Trumbull E, Bianchi E, Eckert D, Wiedhopf R et Cole JR. 1976. Tumor inhibitory agents from *Vauquelinia corymbosa* (Rosaceae). *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 65 : 1407-1408.

Tvaroska L et Gajdos J. 1995. Angular-dependence of vicinal carbon-proton coupling-constants for conformational studies of the hydroxymethyl group in carbohydrates. *Carbohydrate Research*, 271 : 151-162.

Udeani GO, Zhao G-M, Geun Shin Y, Cooke BP, Graham J, Beecher CWW, Kinghorn AD et Pezzuto JM. 1999. Pharmacokinetics and tissue distribution of betulinic acid in CD-1 mice. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, 20 : 379-383.

Umezawa H. 1966. New antibiotics, bleomycin A and B. *Institute of Microbial Chemistry and National Institute of Health*, 19 : 200-209.

Vanneman M et Dranoff G. 2012. Combining immunotherapy and targeted therapies in cancer treatment. *Nature Reviews Cancer*, 12 : 237-251.

Wang Q, Cui K, Espin-Garcia O, Cheng D, Qiu X, Chen Z, Moore M, Bristow RG, Xu W, Der S et Liu G. 2013. Resistance to bleomycin in cancer cell lines is characterized by prolonged doubling time, reduced DNA damage and evasion of G2/M arrest and apoptosis. *PLoS ONE*, 8 : 1-13.

Wang Z. 2010. Schmidt Glycosylation. Dans : Comprehensive organic name reactions and reagents. Angewandte Chemie International Edition, p. 2498-2502.

Yang Y, Laval S et Yu B. 2014. Chapter 2 - Chemical synthesis of saponins. Dans : Horton D éd. Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry. Academic Press, Amsterdam, p. 137-226.

You YJ, Nam NH, Kim Y, Bae KH et Ahn BZ. 2003. Antiangiogenic activity of lupeol from *Bombax ceiba*. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 17 : 341-344.

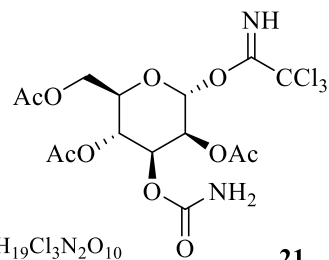
Yu Z, Schmaltz RM, Bozeman TC, Paul R, Rishel MJ, Tsosie KS et Hecht SM. 2013. Selective tumor cell targeting by the disaccharide moiety of bleomycin. *Journal of the American Chemical Society*, 135 : 2883.

Zhu X, Kong J, Yang H, Huang R, Huang Y, Yang D, Shen B et Duan Y. 2018. Strain improvement by combined UV mutagenesis and ribosome engineering and subsequent fermentation optimization for enhanced 6'-deoxy-bleomycin Z production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102 : 1651-1661.

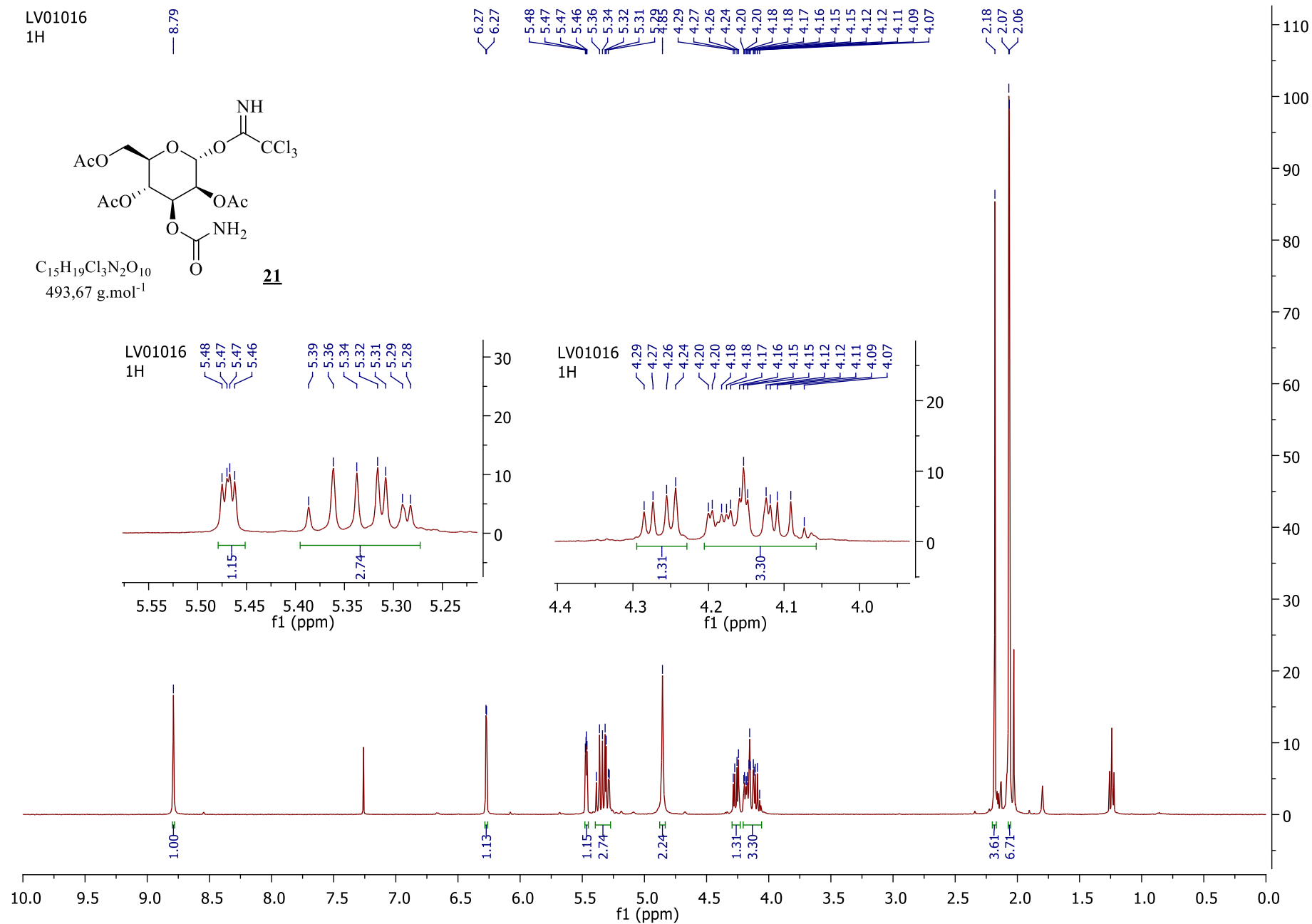
Zuco V, Supino R, Righetti SC, Cleris L, Marchesi E, Gambacorti-Passerini C et Formelli F. 2002. Selective cytotoxicity of betulinic acid on tumor cell lines, but not on normal cells. *Cancer Letters*, 175 : 17-25.

ANNEXE

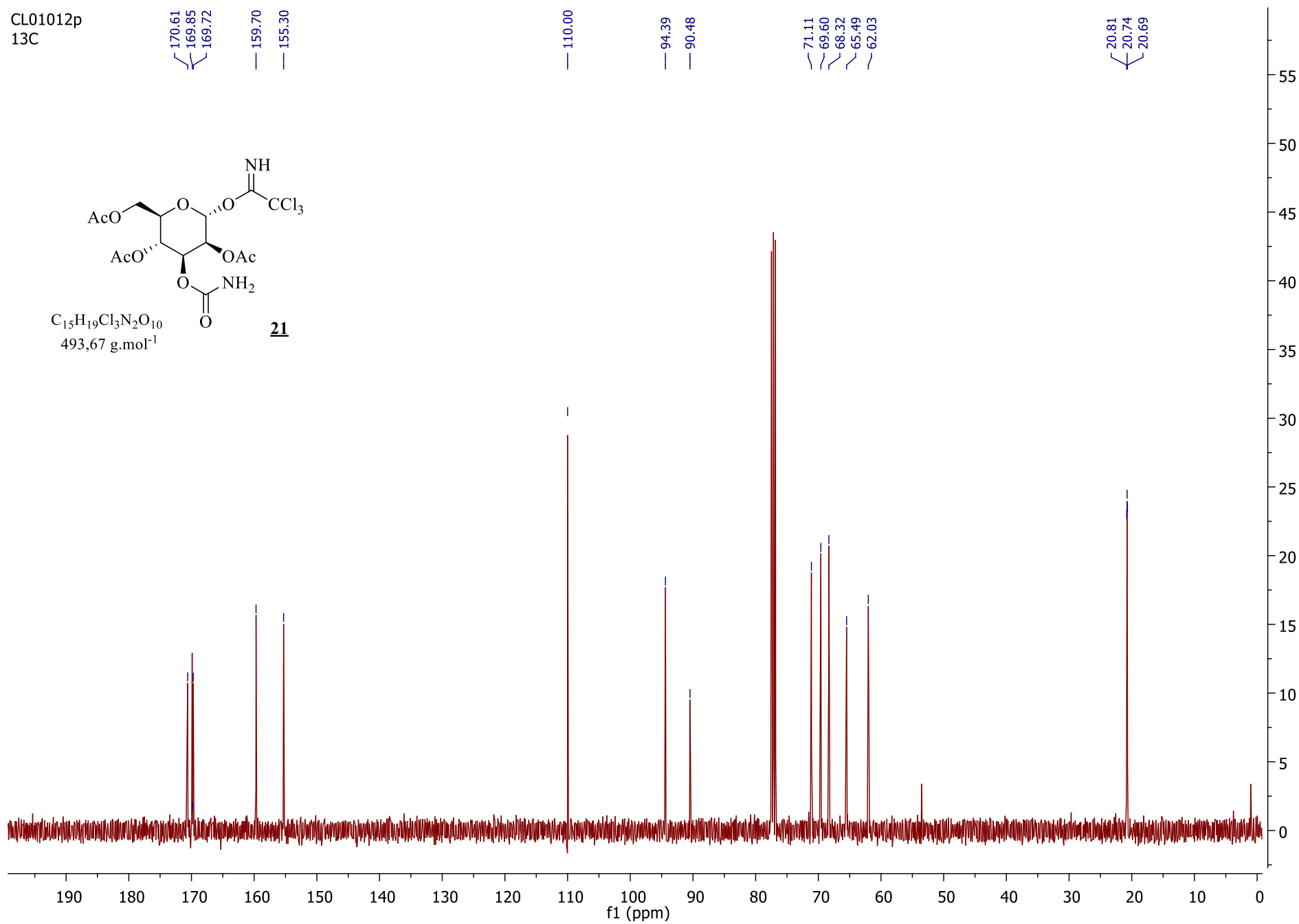
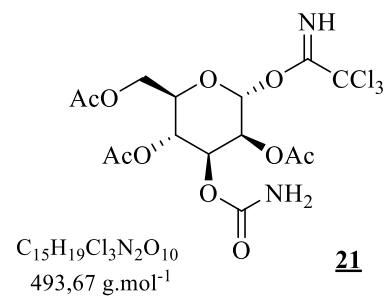
LV01016
1H



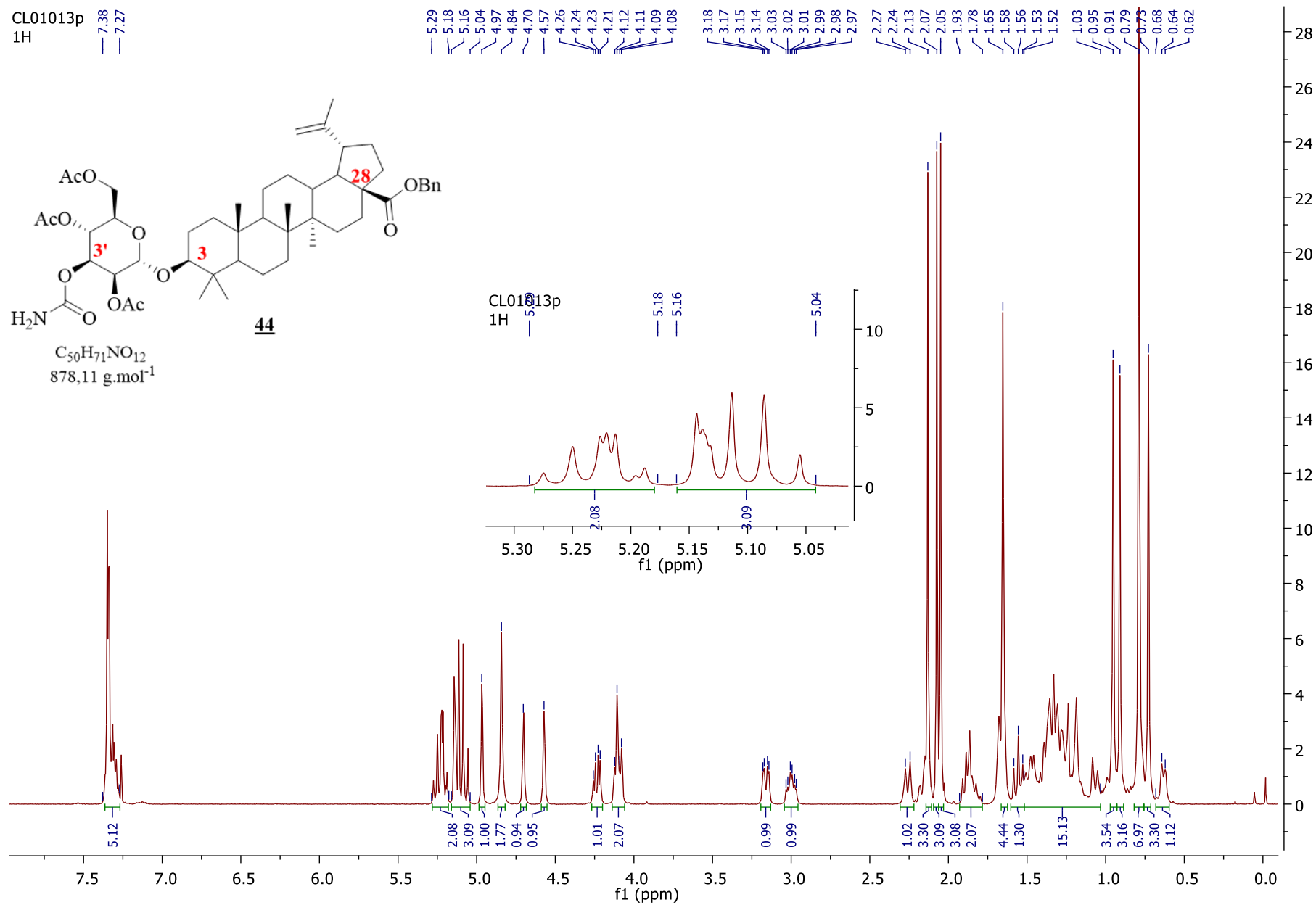
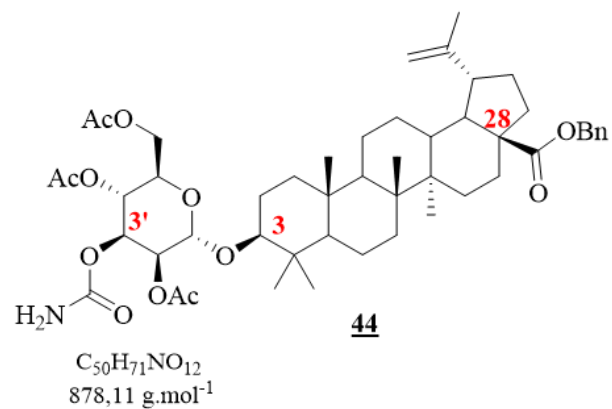
$C_{15}H_{19}Cl_3N_2O_{10}$
493,67 g.mol⁻¹

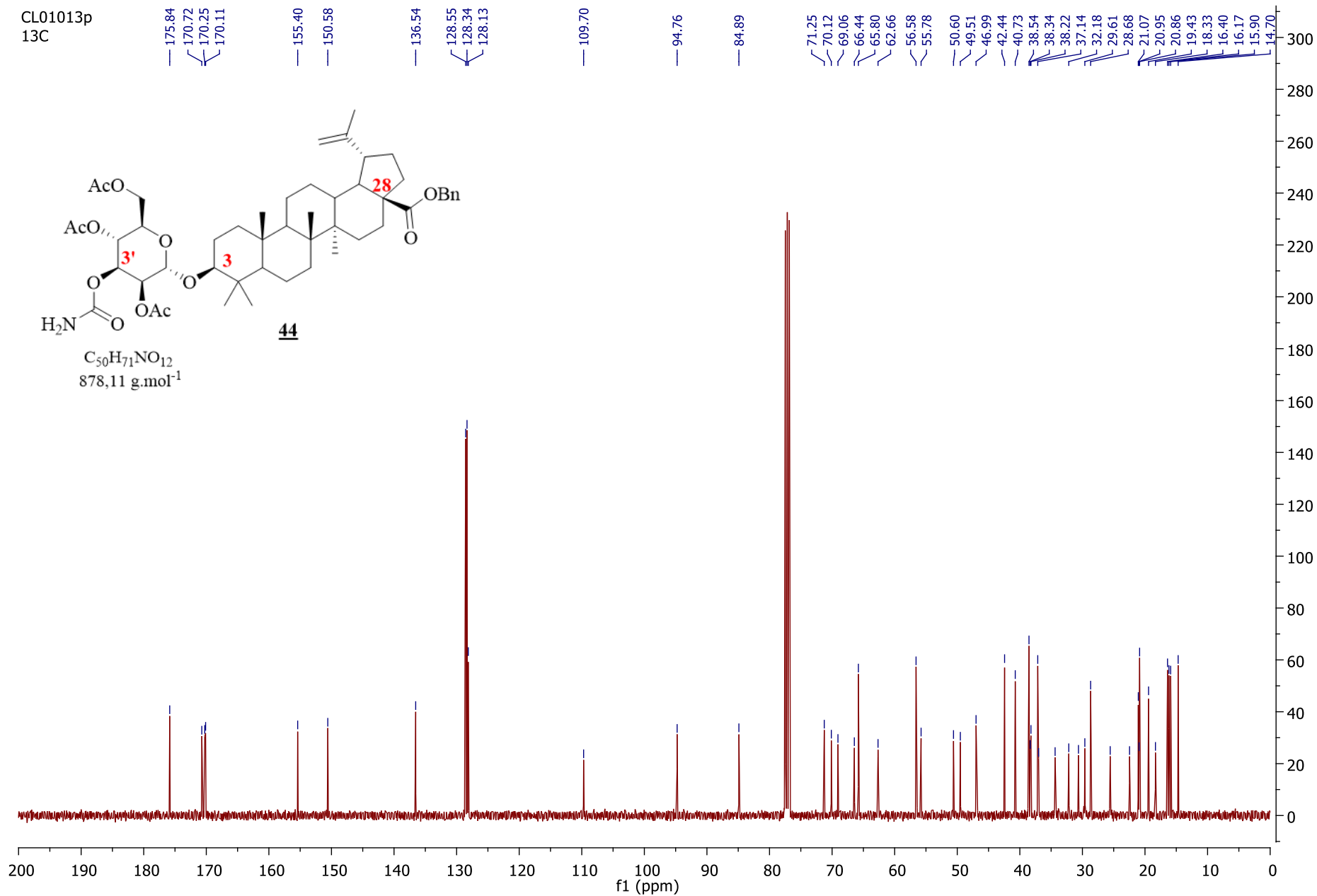


CL01012p
13C



CL01013p
1H





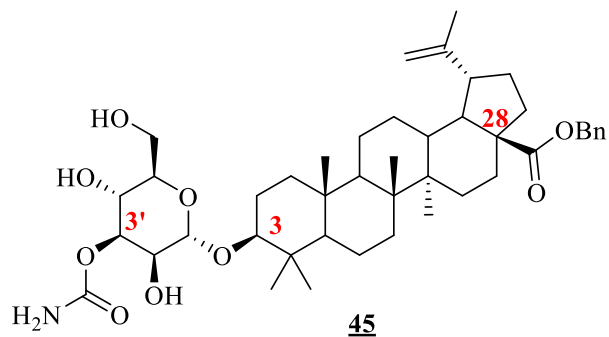
CL01014-P2
1H

7.34
7.22

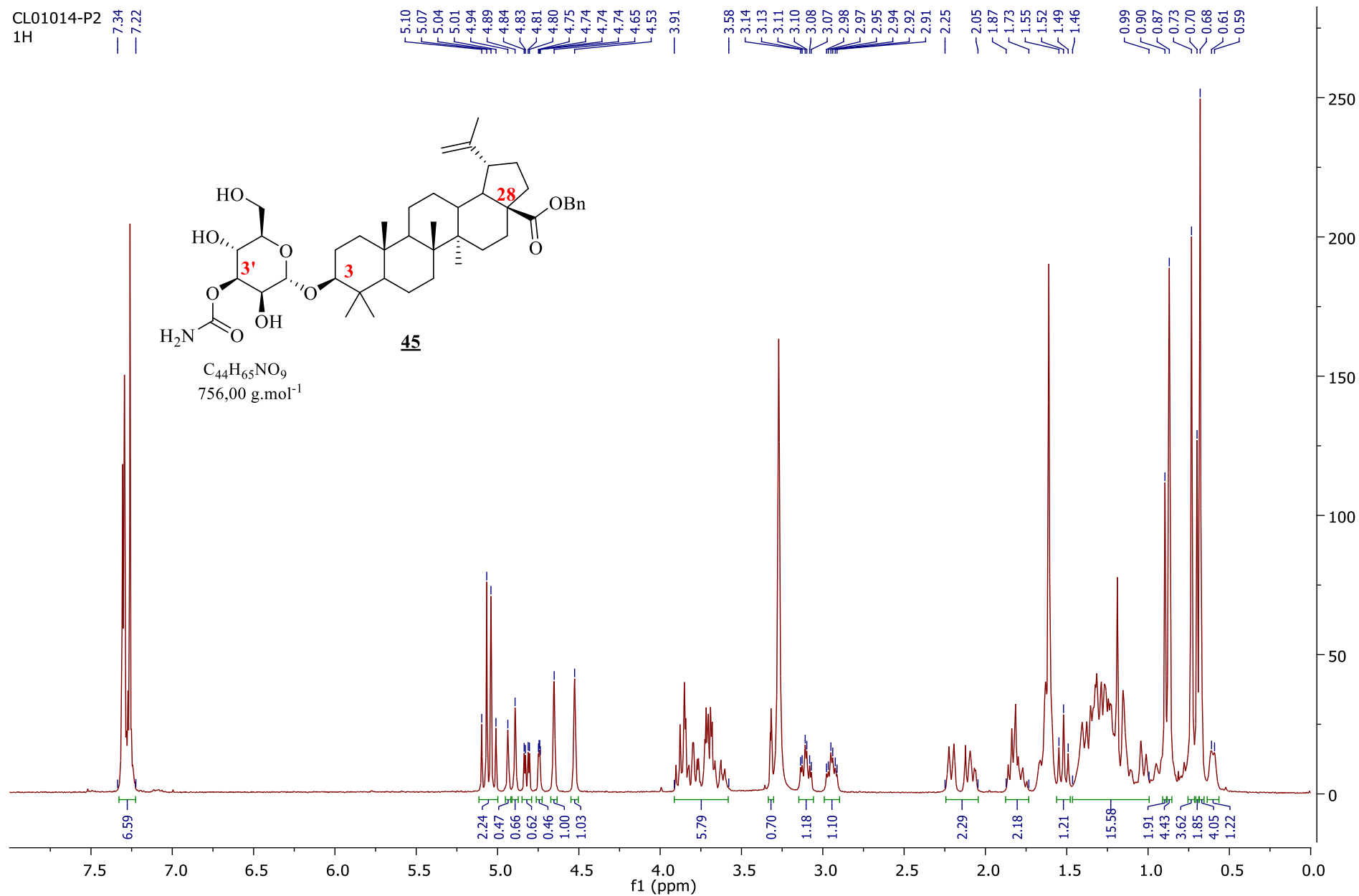
5.10
5.07
5.04
5.01
4.94
4.89
4.84
4.83
4.81
4.80
4.75
4.74
4.74
4.74
4.65
4.53
3.91

3.58
3.14
3.13
3.11
3.10
3.08
3.07
2.98
2.97
2.95
2.94
2.92
2.91
2.25
2.05
1.87
1.73
1.55
1.52
1.49
1.46

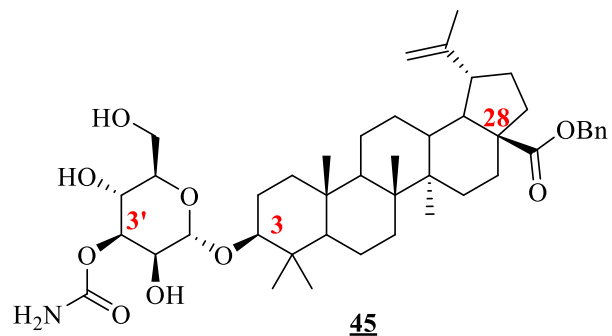
0.99
0.90
0.87
0.73
0.70
0.68
0.61
0.59



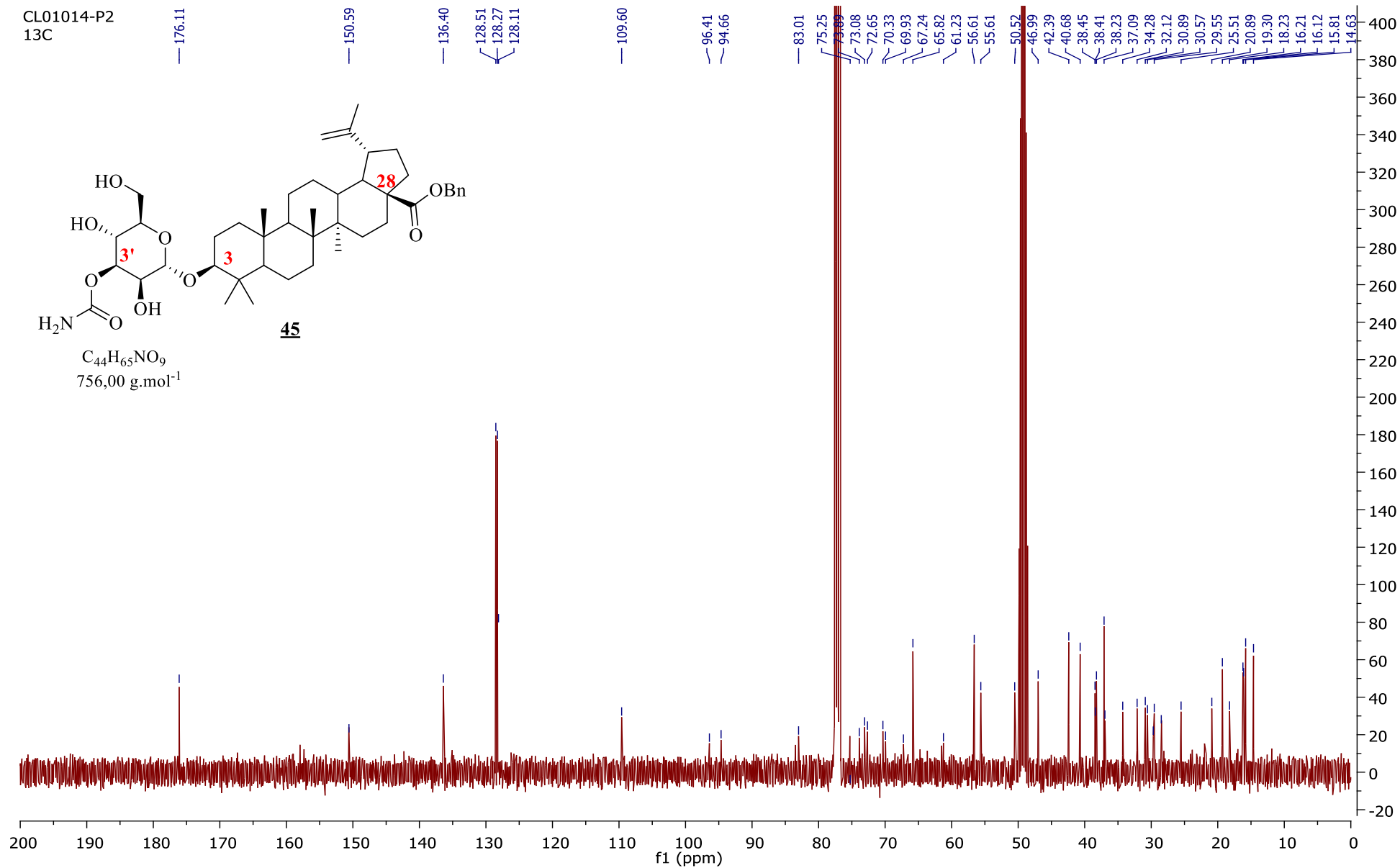
$C_{44}H_{65}NO_9$
756,00 g.mol⁻¹

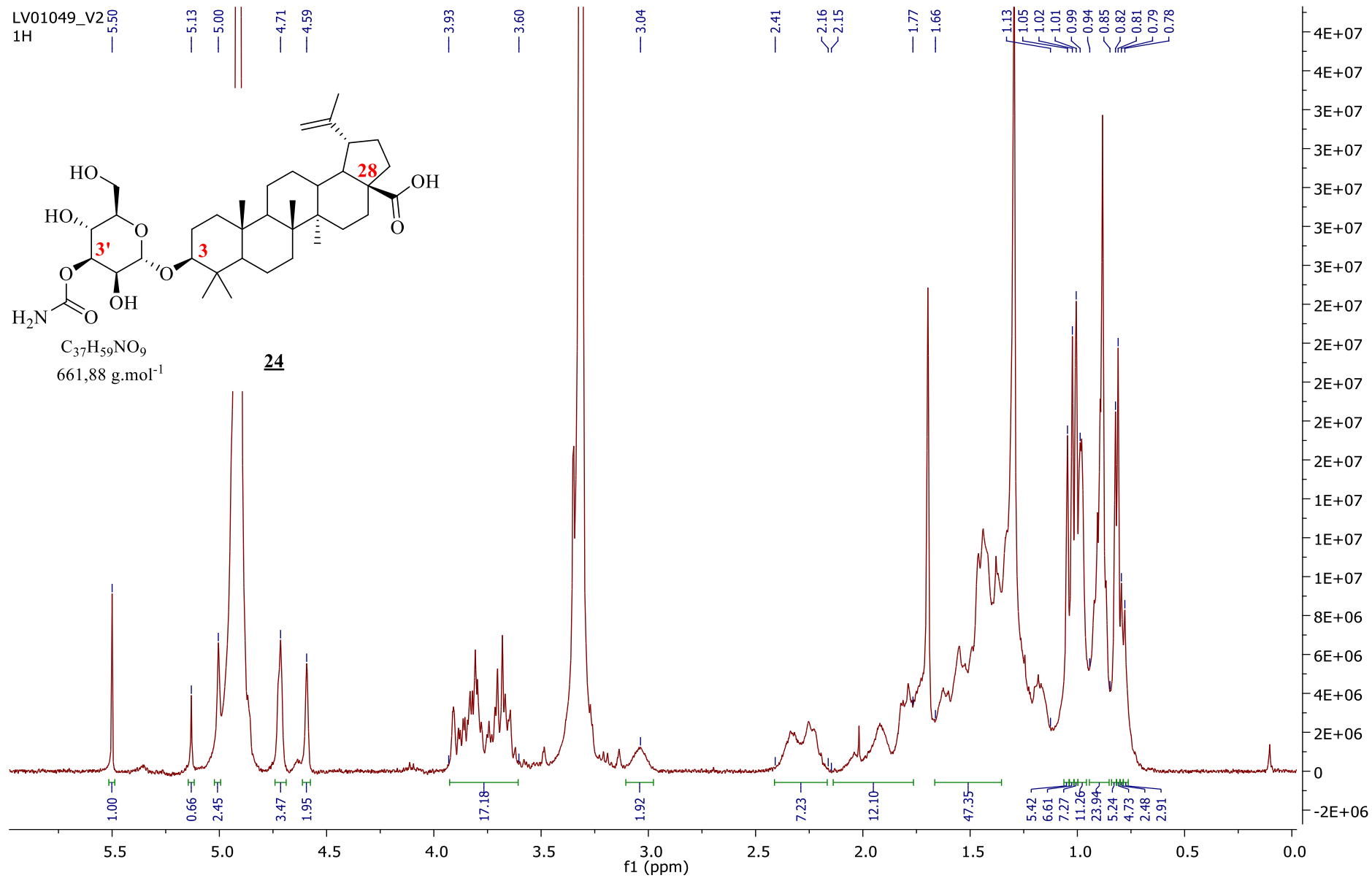


CL01014-P2
13C

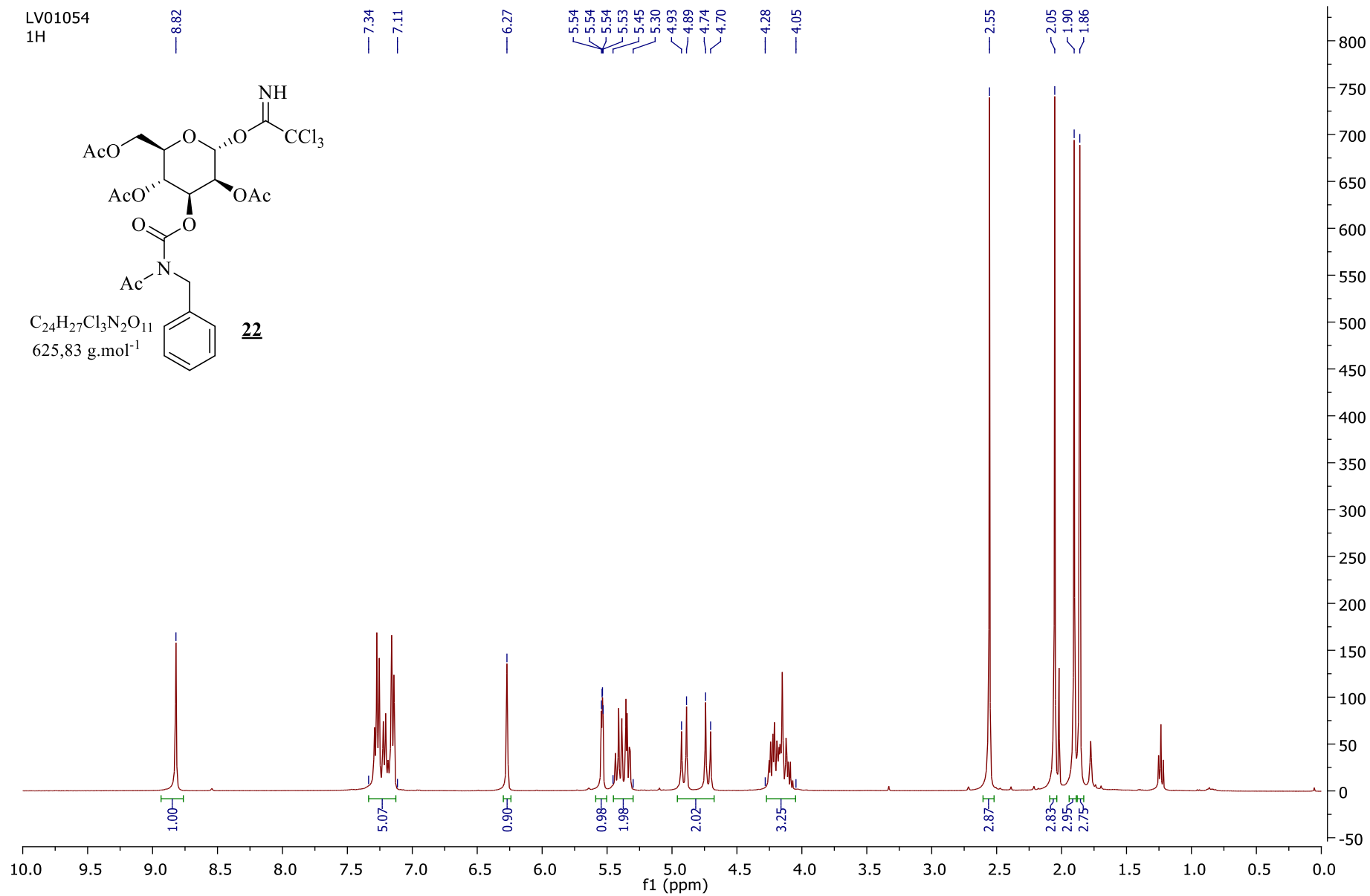
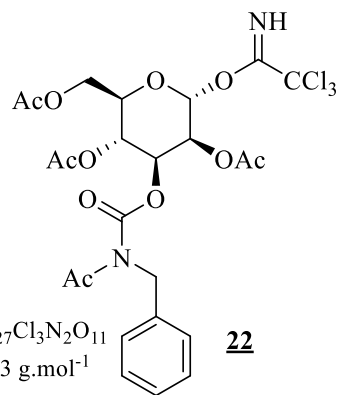


$C_{44}H_{65}NO_9$
756,00 g.mol⁻¹

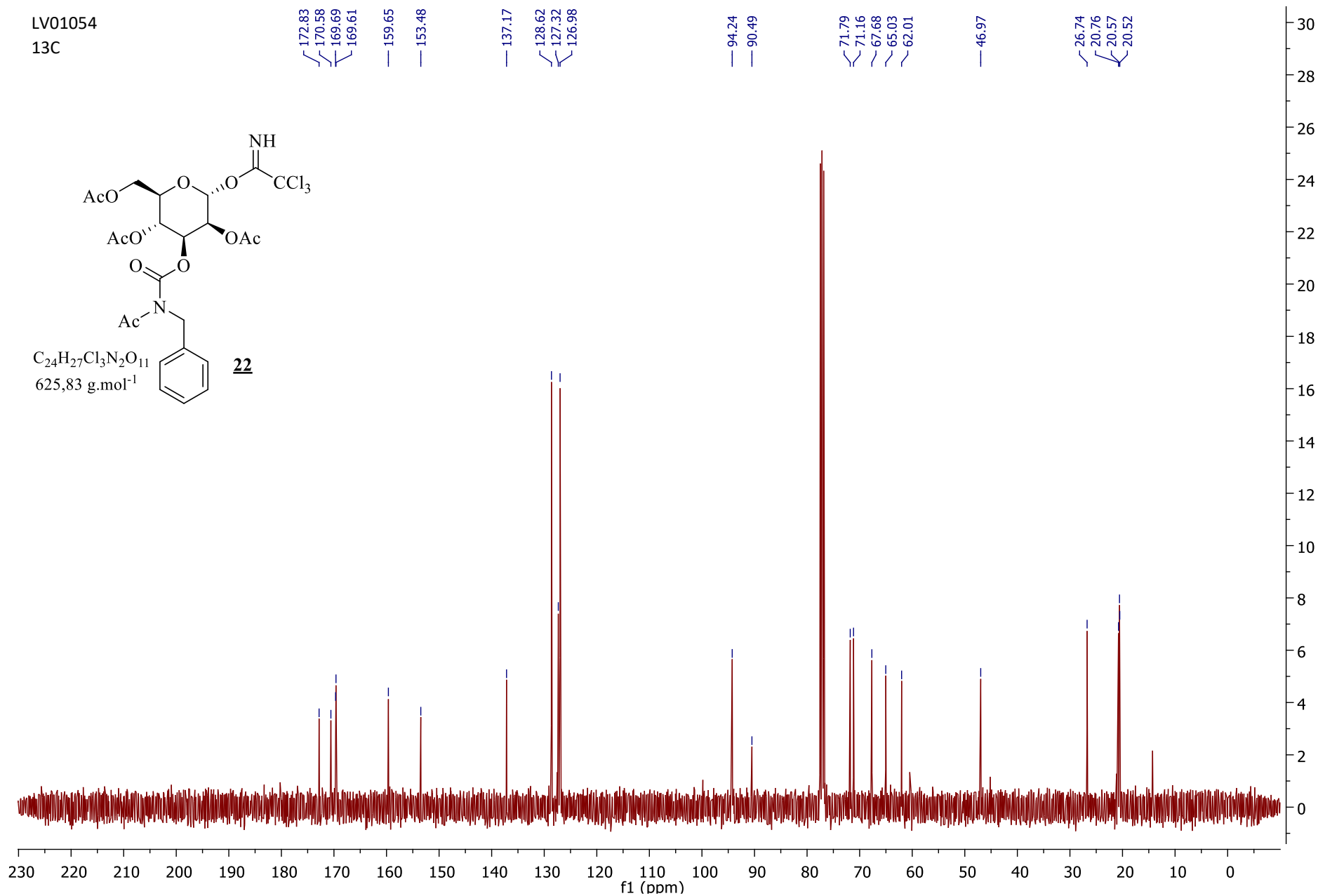
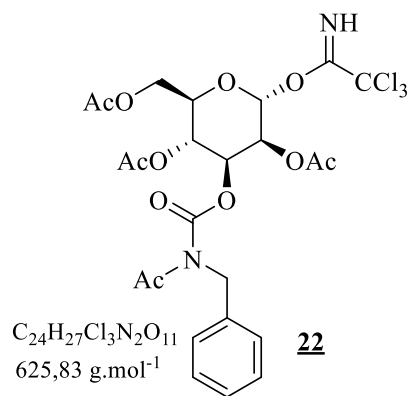




LV01054
1H

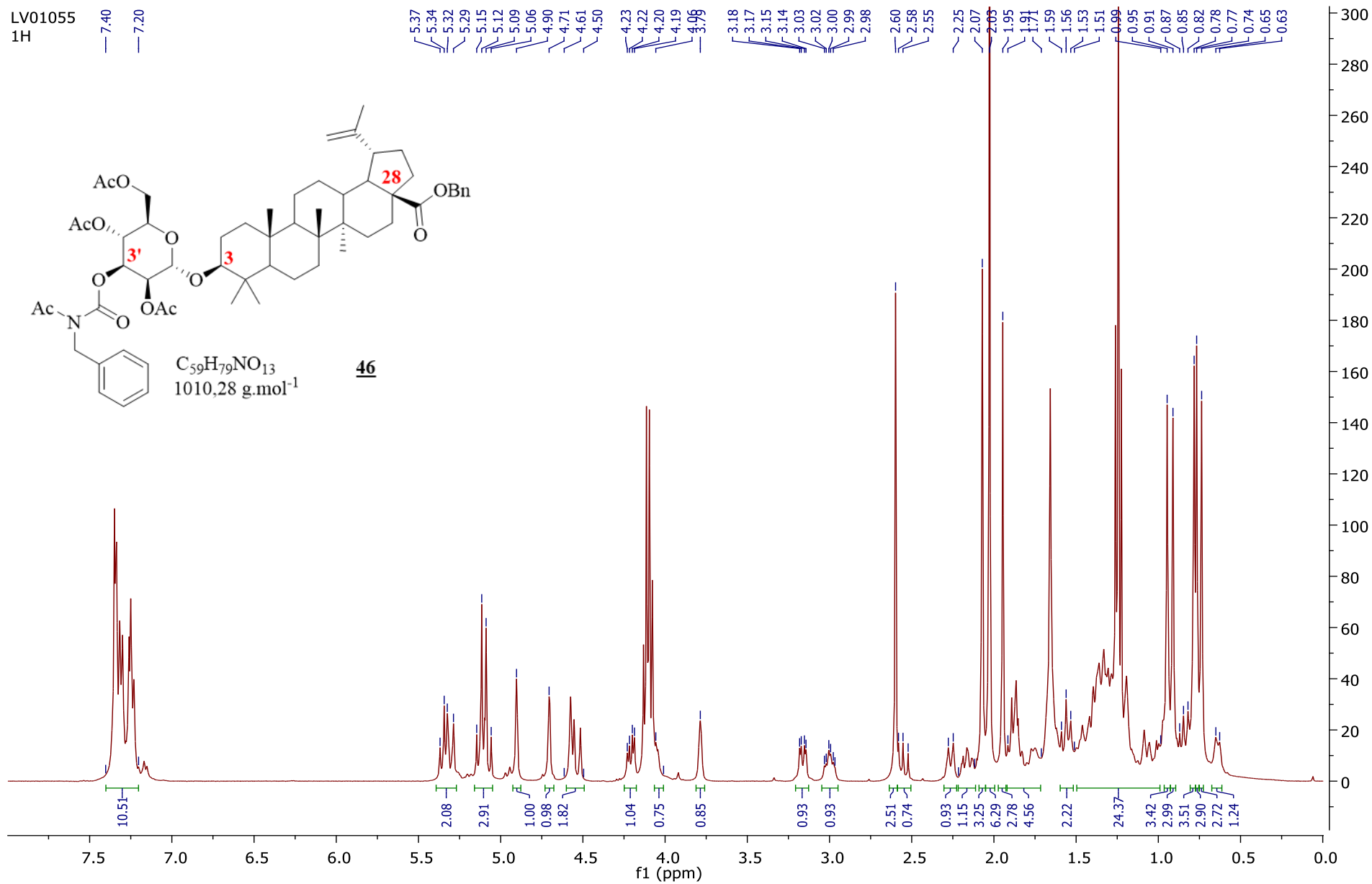
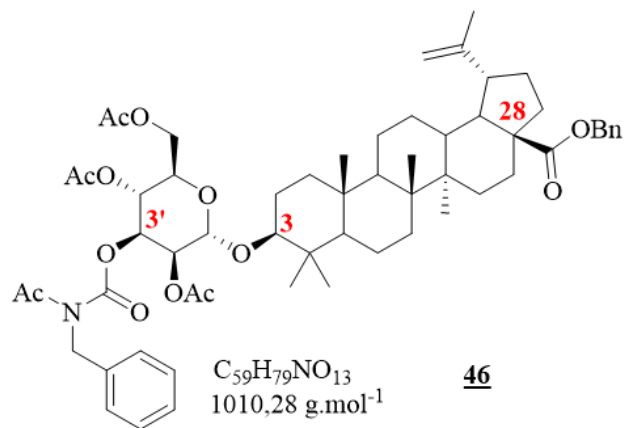


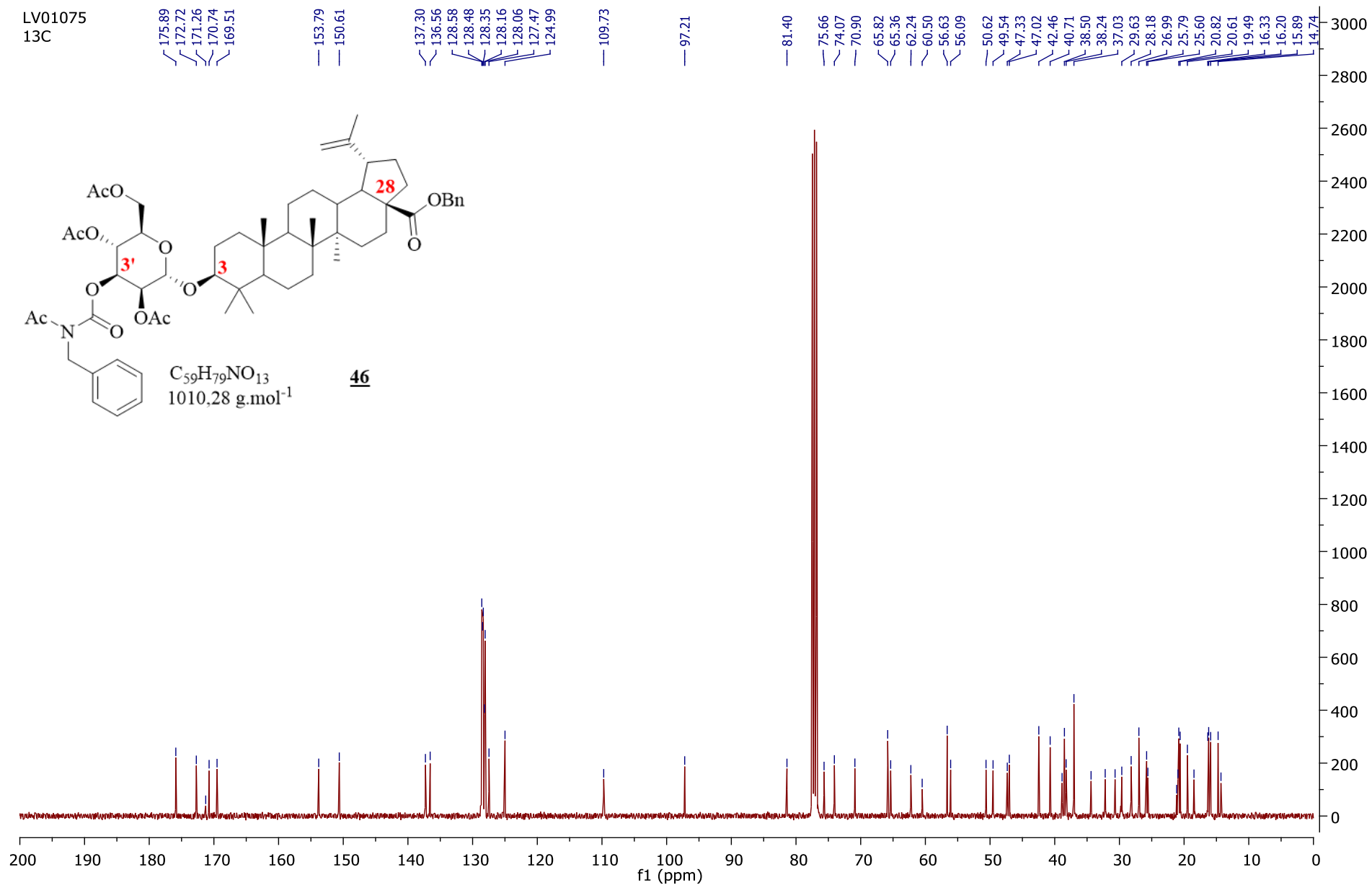
LV01054
13C



LV01055
1H

7.40
7.20





LV01091-1
1H

7.43
7.22

6.13

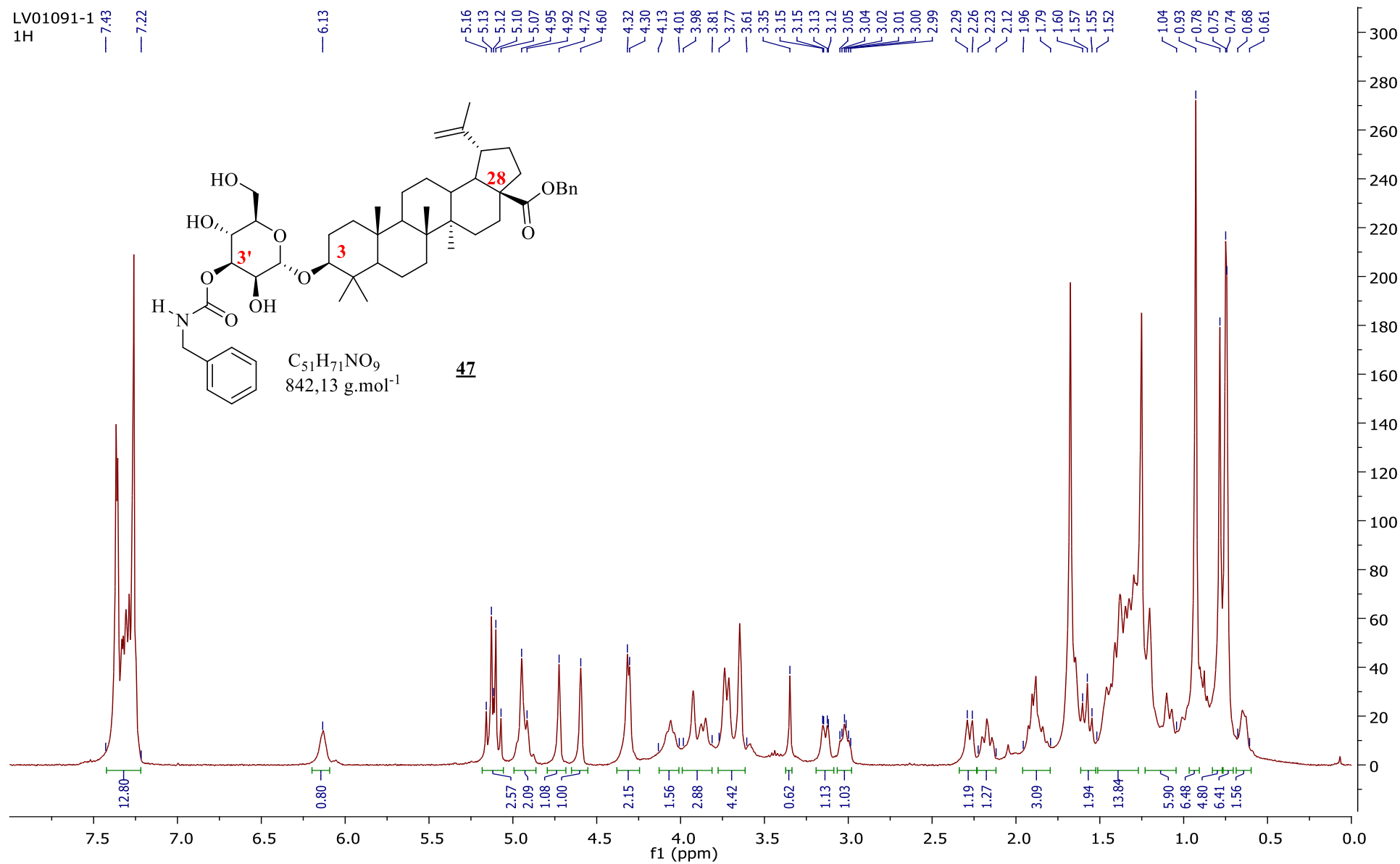
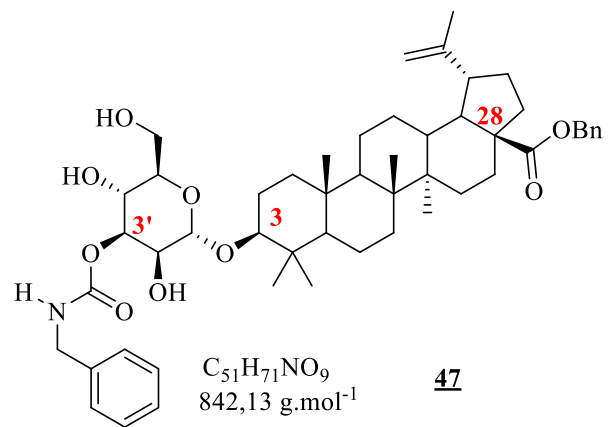
5.16
5.13
5.12
5.10
5.07
4.95
4.92
4.72
4.60

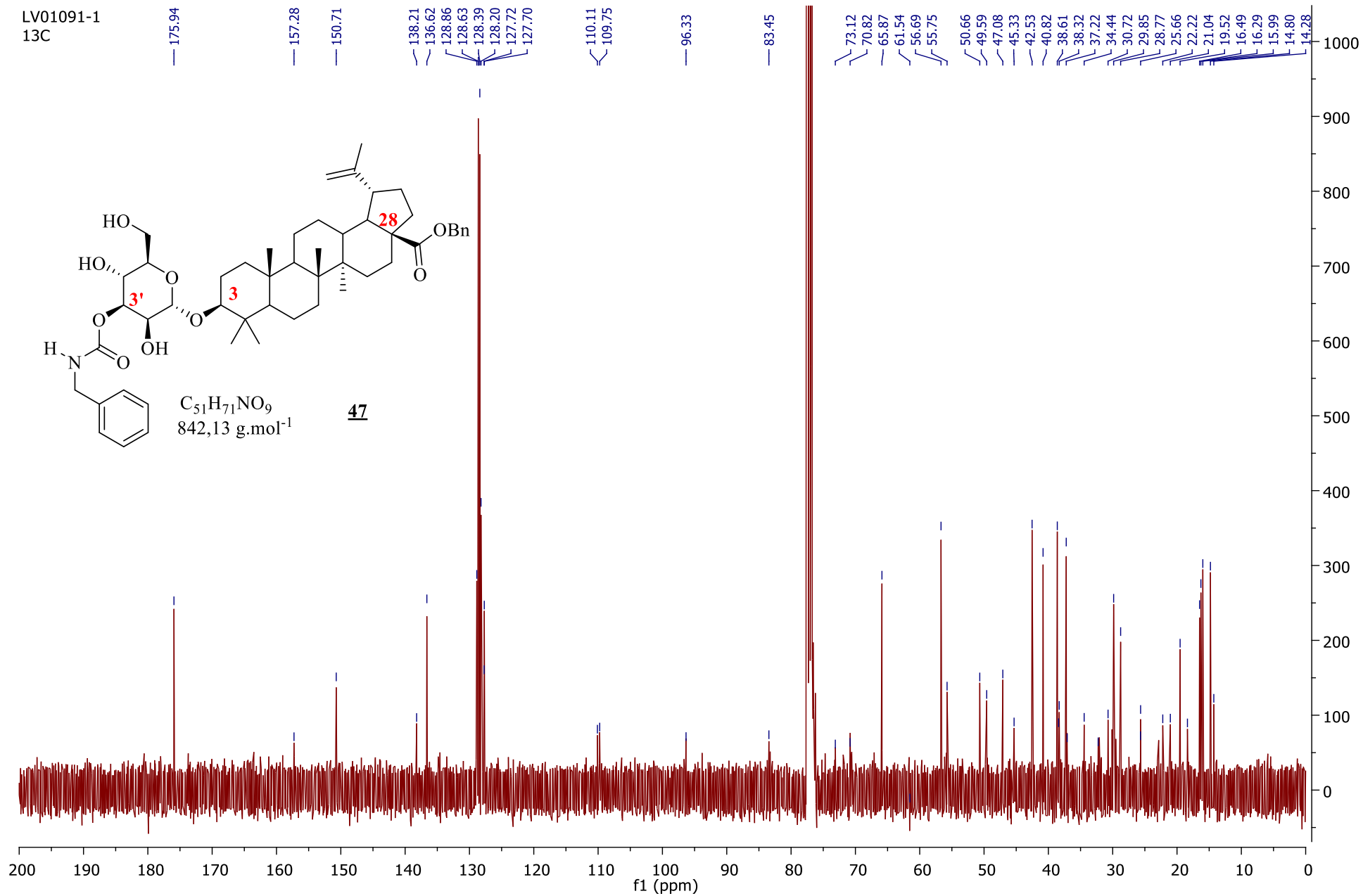
4.32
4.30
4.13
4.01
3.98
3.81
3.77
3.61
3.35
3.15
3.13
3.12

3.05
3.04
3.02
3.01
3.00
2.99

2.29
2.26
2.23
2.12
1.96
1.79
1.60
1.57
1.55
1.52

1.04
0.93
0.78
0.75
0.74
0.68
0.61





LV01026
1H

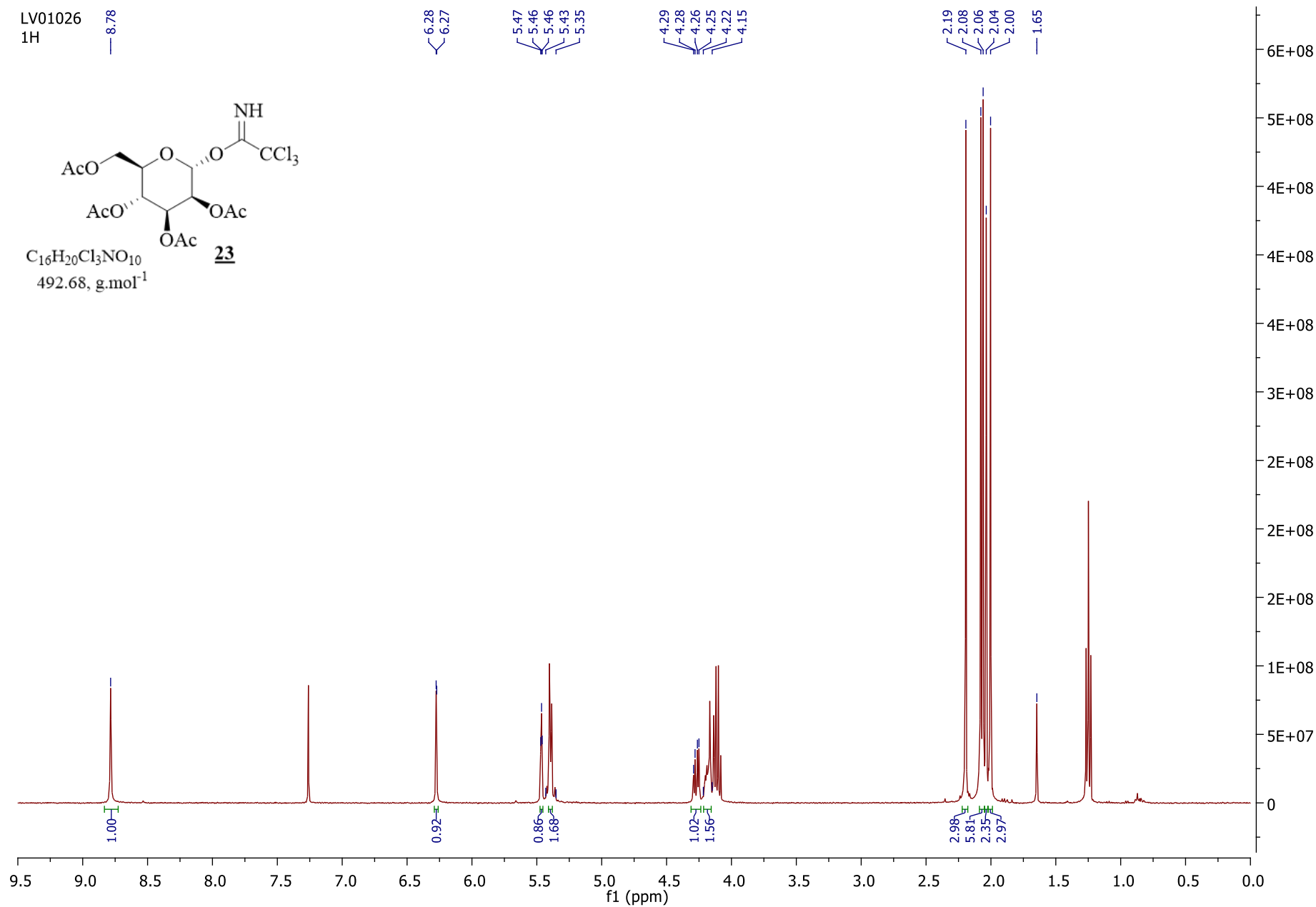
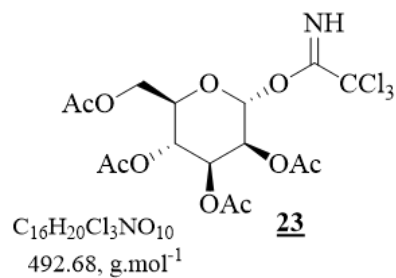
— 8.78

6.28
6.27

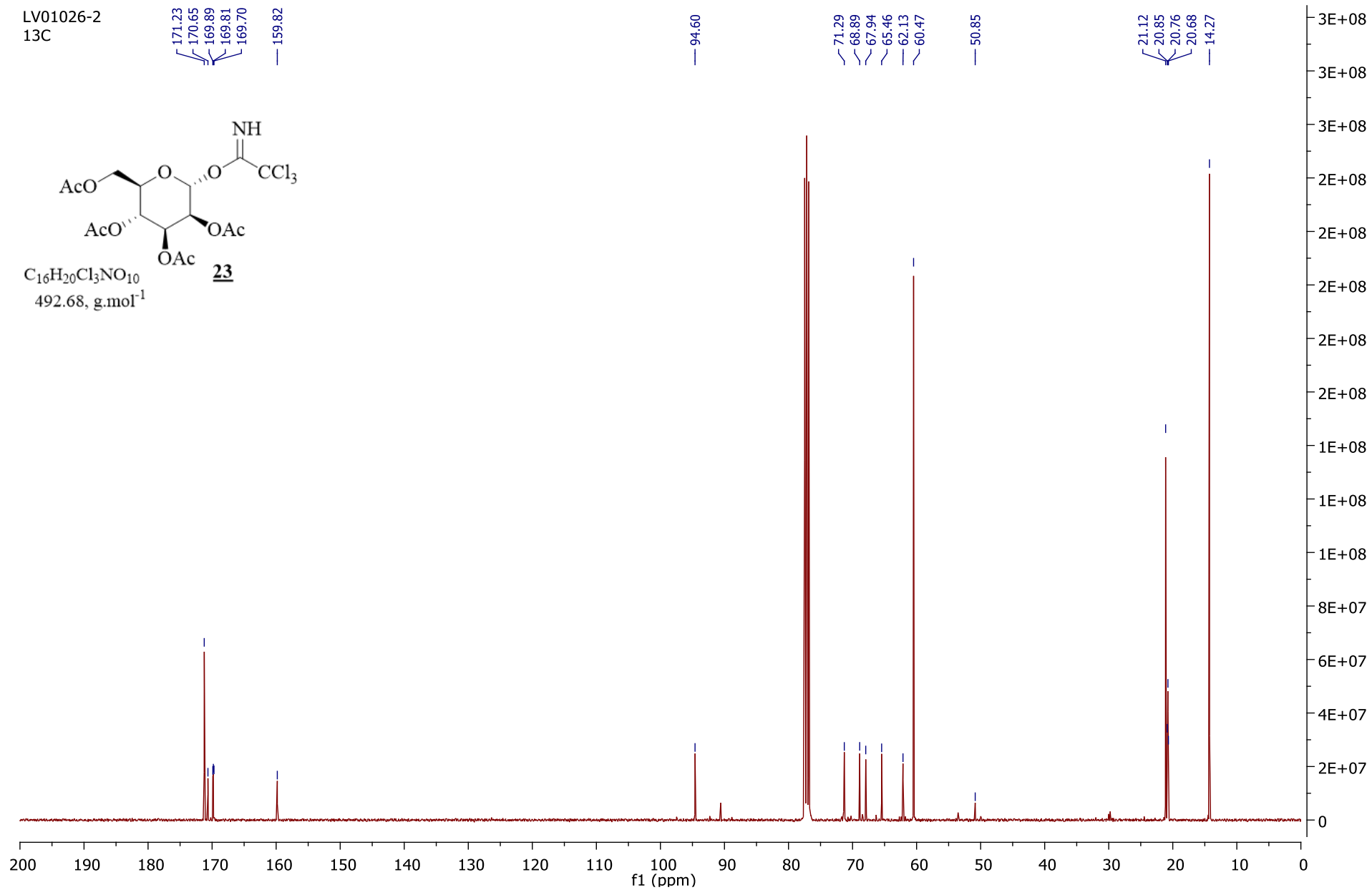
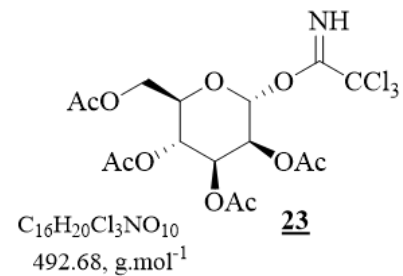
5.47
5.46
5.43
5.35

4.29
4.28
4.26
4.25
4.22
4.15

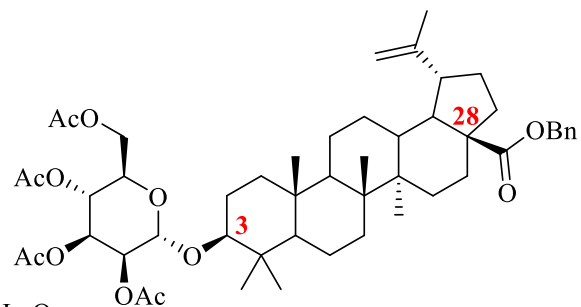
2.19
2.08
2.06
2.04
2.00
1.65



LV01026-2
13C

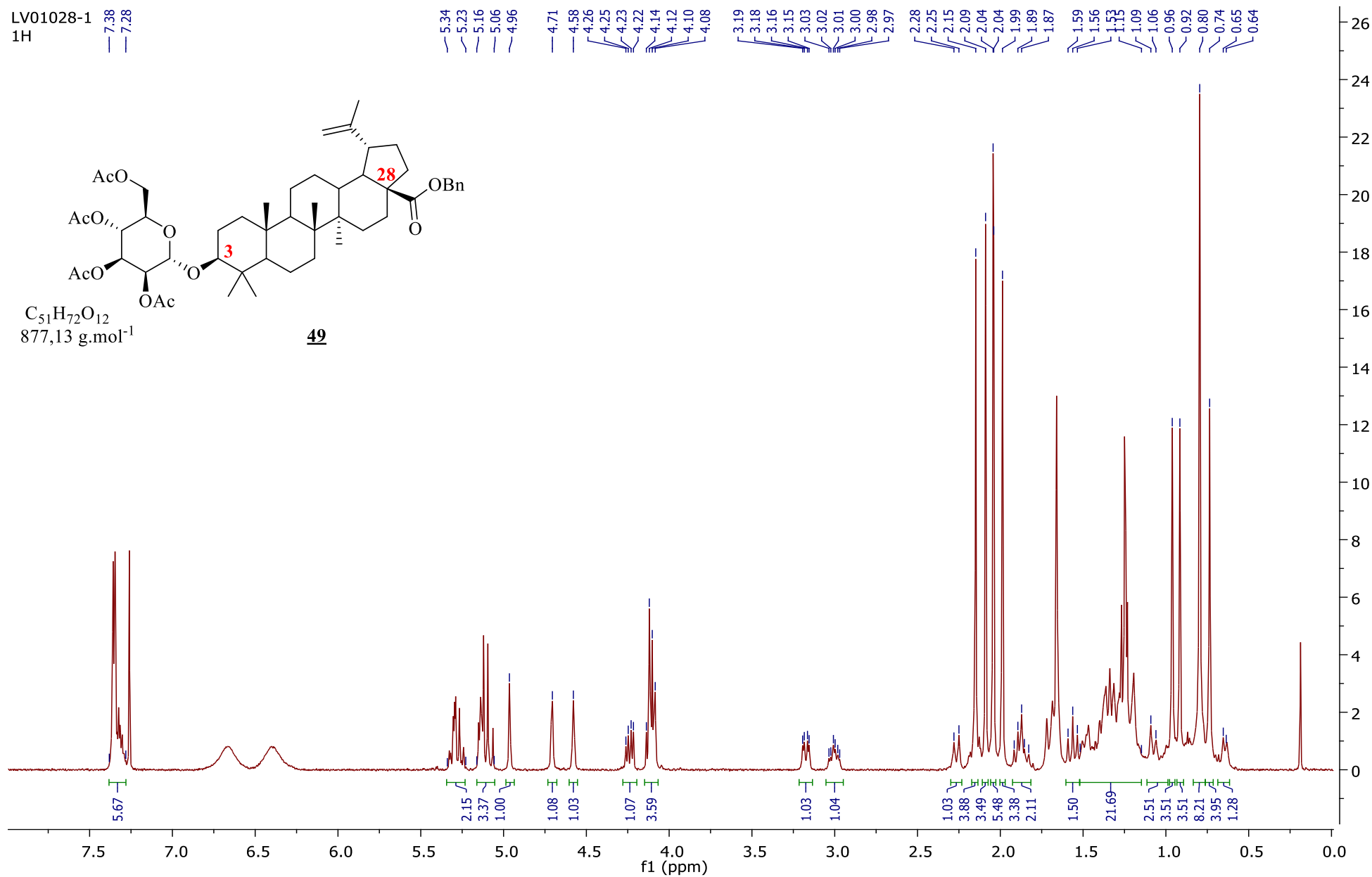


LV01028-1
1H

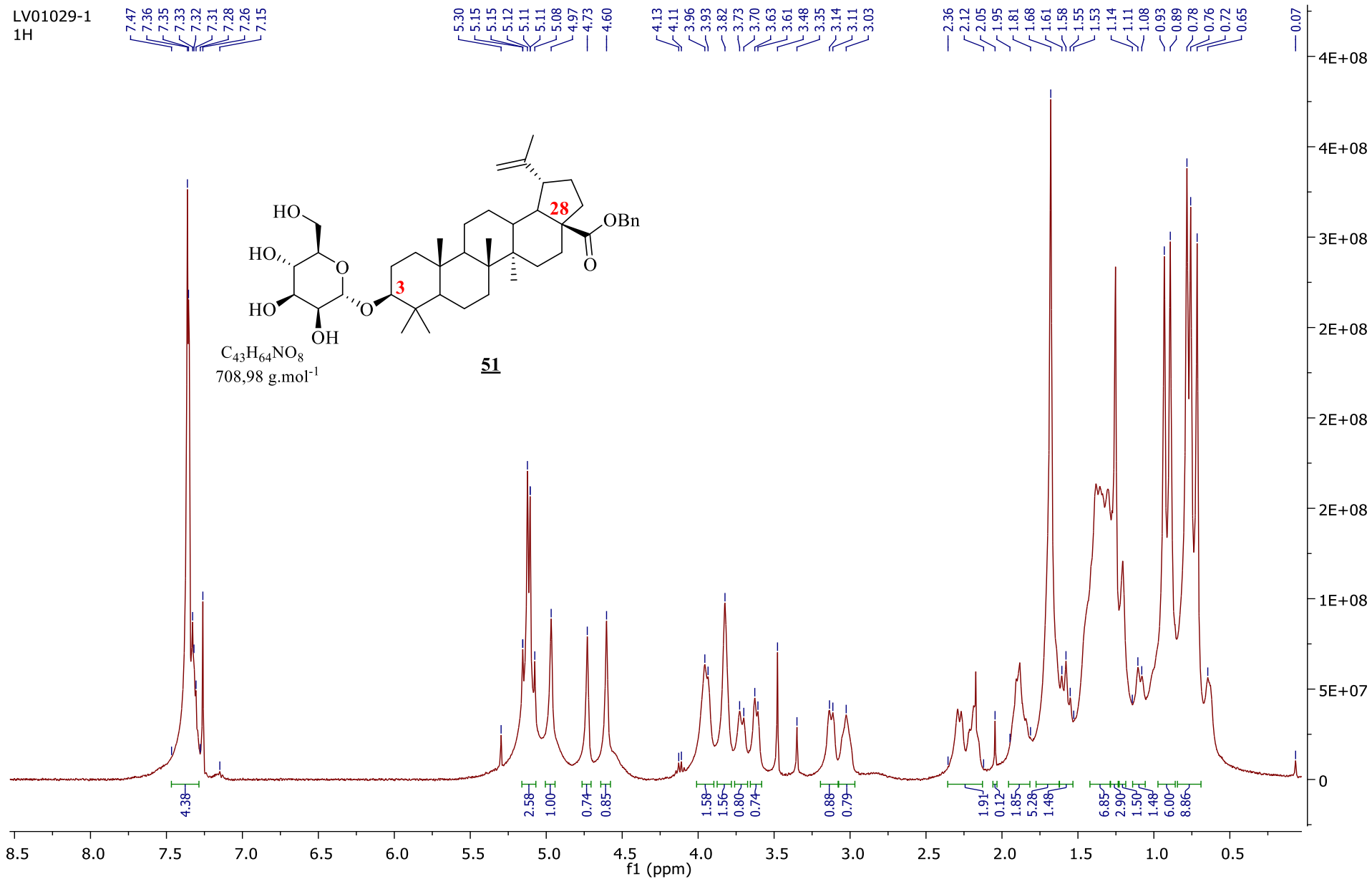


$C_{51}H_{72}O_{12}$
877,13 g.mol⁻¹

49



LV01029-1
1H



LV01029-1
13C

