

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI

UQAC

Université du Québec
à Chicoutimi

**SYNTHÈSE ET ÉTUDE DE DÉRIVÉS DU L-RHAMNOSE
POUR LE DÉVELOPPEMENT D'AGENTS
ANTICANCÉREUX**

Mémoire présenté à l'Université du Québec à Chicoutimi comme exigence
partielle pour l'obtention de la maîtrise en ressources renouvelables

Par

Paul GORMAND, B. Sc.

2022

RÉSUMÉ

Le développement d'agents anticancéreux plus sélectifs et immunothérapeutiques est un enjeu important pour le traitement du cancer, en particulier lorsqu'il est diagnostiqué tardivement. Les tumeurs pulmonaires et colorectales font partie des plus difficiles à détecter à un stade précoce, il est donc important de développer de nouvelles thérapies afin d'améliorer la qualité de soin des patients. Des avancées récentes ont permis de développer des traitements d'immunothérapie. De plus, des agents de chimiothérapie capables de cibler sélectivement les cellules cancéreuses qui présentent certaines mutations spécifiques permettent d'améliorer significativement le pronostic de survie et la qualité de vie des personnes affectées. Malheureusement, ces traitements sont efficaces seulement sur une minorité des personnes atteintes, puisque les cellules cancéreuses présentent une grande diversité de spécificités biologiques. Dans le cadre de ce projet de maîtrise, nous avons étudié le potentiel d'un sucre, le L-rhamnose, pour amplifier l'activité cytotoxique et la sélectivité de composés envers les cellules tumorales, lorsqu'il est greffé à ceux-ci. Pour mener ces travaux, deux approches ont été étudiées : la multivalence à travers la synthèse d'un dendrimère de L-rhamnose et la modulation chimique autour des différentes fonctions hydroxyles que présente ce sucre.

Concernant la synthèse du dendrimère de rhamnose, celui-ci a été articulé autour d'un acide gallique et la synthèse a été établie de manière à être facilement adaptable à d'autres sucres. L'étude de modulation chimique, quant à elle, a été effectuée en méthylant sélectivement les différents hydroxyles du L-rhamnose.

Les résultats préliminaires semblent appuyer l'importance de la position 4 du L-rhamnose dans les mécanismes biologiques liés à la sélectivité et à l'activité du composé, en particulier sur la lignée cellulaire A-549 issue d'un adénocarcinome pulmonaire. Ainsi, une part de lumière supplémentaire sera faite concernant les propriétés de ce sucre dans le domaine de la recherche contre le cancer.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ.....	i
TABLE DES MATIÈRES.....	ii
LISTE DES TABLEAUX.....	v
LISTE DES FIGURES.....	v
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	viii
REMERCIEMENTS.....	xii
1. REVUE DE LITTÉRATURE.....	1
1.1 Le cancer.....	1
1.1.1 Généralités.....	1
1.1.2 Chimiothérapie.....	2
1.1.3 L'immunothérapie.....	7
1.1.4 Les traitements ciblés.....	7
1.2 Les agents anti cancéreux glycosidiques.....	10
1.2.1 Agents anticancéreux glycosidiques d'origine naturelle.....	10
1.2.2 Agents anticancéreux glycosidiques d'origine hémi-synthétique.....	10
2. INTRODUCTION.....	12
2.1 Le L-rhamnose.....	12
2.1.1 Sources et structure.....	12
2.1.2 Dérivés cytotoxiques de triterpènes.....	13
2.1.3 Autres composés actifs.....	15
2.1.4 Rôle des lectines.....	19

2.1.5	Immunothérapie	21
2.2	Interactions multivalentes en milieu biologique	21
2.2.1	Concept général	21
2.2.2	Les glycodendrimères	22
2.3	Objectifs	23
2.3.1	Synthèse d'un dendrimère de L-rhamnose.....	23
2.3.2	Synthèse de dérivés fonctionnalisés du rhamnoside d'acide bétulinique.....	24
3.	SYNTHÈSE ET ÉTUDE BIOLOGIQUE D'UN DENDRIMÈRE DE L-RHAMNOSE	26
3.1	Structure générale d'un dendrimère de L-rhamnose de première génération (1G)	26
3.2	Synthèse du dendrimère de L-rhamnose	27
3.2.1	Résultats.....	27
3.2.2	Essai préliminaire de couplage du dendron avec une sonde fluorescente	30
3.2.3	Discussion.....	31
4.	PHARMACO-MODULATION DES FONCTIONS HYDROXYLES DU L-RHAMNOSE.....	33
4.1	Structure générale des dérivés cibles	33
4.2	Synthèse des dérivés méthylés du 3-O- α -L-rhamnopyranoside d'acide bétulinique	33
4.2.1	Synthèse du 3-O- α -L-rhamnopyranoside d'acide bétulinique (22) à partir de l'acide bétulinique (20).....	34
4.2.2	Synthèse du dérivé méthylé en position 2 du L-rhamnose (40)	35
4.2.3	Synthèse du dérivé méthylé en position 3 du L-rhamnose (41)	36
4.2.4	Synthèse du dérivé méthylé en position 4 du L-rhamnose (42)	38
4.3	Évaluation de l'activité cytotoxique des dérivés.....	39
4.4	Relation structure-activité	42
5.	CONCLUSION GÉNÉRALE	45

5.1	Synthèse du dendrimère de L-rhamnose	45
5.2	Modulation autour des positions hydroxyyles du 3-O- α -L-rhamnoside d'acide bétulinique 46	
6.	PARTIE EXPÉRIMENTALE	48
6.1	Synthèse du dendrimère de α -L-rhamnose (54)	48
6.2	Synthèse des dérivés méthylés du rhamnoside de triterpène	53
6.2.1	Global synthesis of 3-O-2-methoxy- α -L-rhamnopyranosylbetulinic Acid (40).....	56
6.2.2	Global synthesis of 3-O-3-methoxy- α -L-rhamnopyranosylbetulinic Acid (41).....	60
6.2.3	Global synthesis of 3-O-4-methoxy- α -L-rhamnopyranosylbetulinic Acid (42).....	61
	RÉFÉRENCES	65
	ANNEXES	78
I.	Spectres RMN du produit (55) (CD ₃ OD)	79
II.	Spectres RMN du produit (57) (CDCl ₃)	84
III.	Spectres RMN du produit (58) (CDCl ₃ : CD ₃ OD, 1:2).....	86
IV.	Spectres RMN du produit (59) (CDCl ₃)	91
V.	Spectres RMN du produit (60) (CDCl ₃)	96
VI.	Spectres RMN du produit (61) (CDCl ₃)	101
VII.	Spectres RMN du produit (40) (CDCl ₃)	106
VIII.	Spectres RMN du produit (62) (CDCl ₃)	111
IX.	Spectres RMN du produit (41) ((CD ₃) ₂ SO)	117
X.	Spectres RMN du produit (67) (CDCl ₃)	124
XI.	Spectres RMN du produit (68) (CDCl ₃)	131
XII.	Spectres RMN du produit (42) (CDCl ₃)	138
XIII.	Données complètes des résultats biologiques	145

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Activité cytotoxique de l'émodine et de ses dérivés sur diverses lignées de cellules cancéreuses humaines (Xing et al., 2015).....	17
Tableau 2: Résumé des IC ₅₀ mesurées lors des tests de cytotoxicité. Les valeurs sont obtenues en calculant la moyenne des IC ₅₀ obtenus lors du même test selon un modèle de triplicat, révélés après 24 h d'incubation par la coloration de Hoechst. (Détails Annexes XIII p. 141-142). A-549 = lignée d'adénocarcinome pulmonaire. DLD-1 = lignée d'adénocarcinome colorectal. WS-1 = lignée saine de cellules de peau	39

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Exemples d'agents alkylants	2
Figure 2: Exemple d'agents antimétabolites.....	3
Figure 3: Exemple d'agents cytotoxiques intercalants	4
Figure 4: Exemple d'agent antimétabolite.....	5
Figure 5: Inhibiteurs de tyrosine kinase utilisés sur les cancers broncho-pulmonaires. Erlotinib (12) pour la mutation de l'EGFR et Crizotinib (13) pour la mutation de l'ALK.	6
Figure 6: Exemples d'agents de chimiothérapie ciblée.....	9
Figure 7: Exemples d'agents cytotoxiques présentant une section glycosidique (ici en rouge).....	11
Figure 8: Représentation du L-rhamnose (18) et du rutinoside (19)	12
Figure 9: Structure de l'acide bétulinique (20), du bétulinol (21) et de leurs dérivés rhamnosylés (22) et (23).....	13
Figure 10: Structure de l'acide ursolique (24), de l'uvaol (25) et du 3,28-O-dirhamnoside d'uvaol (26).....	15

Figure 11: Structure de l'émodyne (27) et de ses dérivés rhamnosylés acétylés (28-32).....	16
Figure 12: Représentation de la diosgénine (33) et de la dioscine (34).....	18
Figure 13: Représentation de la solasodine (35) et de ses dérivés (36-37).....	19
Figure 14: Structure des conjugués de biotine testés.....	20
Figure 15: Schéma représentant la différence entre une interaction simple et multivalente.	21
Figure 16: Exemple de structure dendritique à deux branches de première et deuxième génération (G1 à gauche et G2 à droite).	22
Figure 17: Structure des dérivés ciblés	25
Figure 18: Structure générale d'un dendrimère de L-rhamnose trivalent (rouge), lié par des chaînes éthylène glycol à un corps gallique (vert) au pied duquel un espaceur de nature polyéthylène glycol est greffé (jaune).....	26
Figure 19: Synthèse de la plateforme dendritique (47) à partir du gallate de méthyle (44).....	27
Figure 20: Synthèse du dendrimère de L-rhamnose intermédiaire (50) à partir du support (47).....	28
Figure 21: Ajout d'un espaceur au pied du dendrimère afin d'obtenir l'azide (54).....	29
Figure 22: Synthèse d'une sonde fluorescente afin d'effectuer des études par imagerie.	30
Figure 23: Images observées après incubation de la sonde fluorescente (55) avec les cellules PC-3 (λabsorption = 568 nm, traitement : PBS, lavage : H ₂ O).....	31
Figure 24: Images observées après incubation de la sulforhodamine B seule avec les cellules PC-3 (λabsorption = 568 nm, traitement : PBS, lavage : H ₂ O).....	31
Figure 25: Structure générale des dérivés ciblés	33
Figure 26: Synthèse du rhamnoside de bétulinate de benzyle intermédiaire (58) et du rhamnoside d'acide bétulinique (22) à partir de l'acide bétulinique commercial (20).	34
Figure 27: Synthèse du dérivé méthylé (40) à partir du rhamnoside (58).....	35
Figure 28: Synthèse du dérivé méthylé (41) à partir du rhamnoside (58).....	36
Figure 29: Schéma de réaction impliquant l'intermédiaire stannylène acétal (64).....	37

Figure 30: Synthèse du dérivé méthylé (42) à partir du rhamnoside (58).....	38
Figure 31: Courbes dose-réponse décrivant le profil de toxicité des composés testés sur des fibroblastes sains WS-1.	40
Figure 32: Courbes dose-effet décrivant le profil de toxicité des composés testés sur des cellules cancéreuses A-549.	40
Figure 33: Courbes dose-effet décrivant le profil de toxicité des composés testés sur des cellules cancéreuses DLD-1.	41
Figure 34: Bilan de l'impact des position méthylées sur l'activité du composé.	43

LISTE DES ABRÉVIATIONS

^1H :	RMN des protons d'une molécule
^{13}C :	RMN de l'isotope « 13 » des atomes de carbone d'une molécule
2,2-DMP :	2,2-diméthoxypropane
A-549 :	lignée cellulaire d'adénocarcinome pulmonaire humain
ADN :	acide désoxyribonucléique
ALK :	kinase du lymphome anaplasique
Anti-Gal Ig :	anticorps capables de se lier au galactose
ARN :	acide ribonucléique
B16-F1	lignée cellulaire de mélanome humain
BxPC-3 :	lignée cellulaire de cancer du pancréas humain
BzCl :	chlorure de benzoyle
Brine :	solution aqueuse saturée en chlorure de sodium (NaCl)
C18 :	silice greffée avec des chaînes alkyles linéaires de 18 carbones
Cat. :	quantité catalytique
CBR's :	récepteurs aux cannabinoïdes
COSY :	« Correlated Spectroscopy » analyse RMN bidimensionnelle impliquant une corrélation proton – proton
CSA :	acide camphorsulfonique
DCM = CH_2Cl_2 :	dichlorométhane
DEPT 135 :	« Distortionless Enhancement by Polarization », RMN du carbone 13 permettant d'afficher les « $-\text{CH}_2-$ » en négatif et ne faisant pas paraître les carbones quaternaires
DIPEA :	<i>N,N</i> -diisopropyléthylamine

DLD-1 :	lignée cellulaire d'adénocarcinome colorectal humain
DMAP :	4-diméthylaminopyridine
DMF :	diméthylformamide
DMSO :	diméthylsulfoxyde
DU-145 :	lignée cellulaire de cancer prostatique humain
EGFR :	récepteur du facteur de croissance épidermique
EL4 :	lignée cellulaire de lymphome murin
Et ₃ N :	triéthylamine
EtOH :	éthanol
FDA :	Food and Drug Administration (administration des médicaments et de l'alimentaire)
H4 :	lignée cellulaire de neurogliome humain
HBTU :	<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethyl-O-(1 <i>H</i> -benzotriazol-1-yl)uronium hexafluorophosphate
HeLa :	lignée cellulaire métastatique d'un cancer du col de l'utérus humain
HepG2 :	lignée cellulaire de cancer du foie humain
Hex :	hexanes
HS :	Human serum (sérum humain)
HSQC-edited :	« Heteronuclear Single Quantum Correlation » analyse RMN bidimensionnelle impliquant une corrélation proton – carbone de courte distance (¹ J)
HMBC :	« Heteronuclear Multi-Bond Connectivity » analyse RMN bidimensionnelle impliquant une corrélation proton – carbone de longue distance (² J et ³ J)
HT-29 :	lignée cellulaire d'adénocarcinome colorectal humain
IC ₅₀ :	concentration inhibitrice de 50% de la croissance tumorale

KB :	lignée cellulaire tumorale de la tête et du cou humain
LASEVE :	Laboratoire d'Analyse et de Séparation des Essences Végétales
LecB :	récepteur lectinique capable d'interagir avec le fucose
MAB :	monoclonal antibody (anticorps monoclonal)
MCF-7 :	lignée cellulaire de cancer du sein humain
MMAE :	monométhyle Auristatine E
MS :	Molecular Sieves (tamis moléculaire)
NMR = RMN :	Résonance Magnétique Nucléaire
<i>p</i> -TsOH = APTS :	acide <i>para</i> -toluenesulfonique
PBS :	Phosphate Buffered Saline (solution saline de tampon phosphate)
PC-3 :	lignée cellulaire de cancer prostatique humain
PD-1 :	Programmed cell Death 1 (récepteur de la mort programmée cellulaire)
Pd/C :	palladium supporté sur charbon
RBL :	Rhamnose Binding Lectin (récepteur capable d'interagir avec le rhamnose)
R _f :	rapport frontal
ROS :	Reactive Oxygen Species (espèces réactives de l'oxygène)
RT :	Room Temperature (température ambiante)
TBAI :	iodure de tétrabutylammonium
Tol :	toluène
TLC = CCM :	Thin Layer Chromatography (chromatographie sur couche mince)
TMOF :	orthoformate de triméthyle
TMSOTf :	triflate de triméthylsilyle
UV :	ultraviolet
WS-1 :	lignée cellulaire de fibroblastes sains

À la création,

À ma famille,

Paix et amour...

REMERCIEMENTS

Je tiens d'abord à remercier mes parents, Régis et Fabienne Gormand, à qui je dois tout et que je ne saurais remercier suffisamment. Merci également à tout le reste de ma famille, à commencer par mon frère, Loïc et ma sœur Prune pour leur soutien ; mes grands-parents, oncle, tantes, cousins, cousines et ceux qui nous ont quittés trop tôt...

Un grand merci à mon directeur, le professeur André Pichette, pour sa patience, son écoute et ses nombreuses qualités humaines en plus de son expertise scientifique forte d'inspiration ; au professeur Jean Legault, co-directeur du projet qui s'est consacré à la partie biologique ; au docteur Jérôme Alsarraf qui m'a formé aux manipulations en laboratoire et m'a guidé dans une atmosphère amicale, amusante et de confiance tout au long des travaux, même à travers les moments difficiles ; au docteur Balla Sylla pour toutes ses astuces concernant la glycochimie, son écoute, sa compréhension et tous les débats enflammés passionnants que nous avons eu au laboratoire ; au docteur François Simard pour son expertise technique, sa patience et sa gentillesse ; au professeur Vakhtang Mshvildadze pour sa bonne humeur éternelle ; au professeur Charles Gauthier pour m'avoir accueilli en stage dans son laboratoire et tout ce que j'ai appris durant ce défi de trois mois.

Je tiens aussi à remercier particulièrement l'ensemble des étudiants avec lesquels j'ai eu l'honneur de travailler au LASEVE, à commencer avec une mention spéciale pour Christopher Herailh avec qui nous avons partagé des moments de joie inoubliables, de la paillasse jusqu'au spectromètre RMN. Merci également à Simon Gandrieau, Gilles Jost, Marion Etienne, François Latour, Sophie Fortin, Julie Pierra, Eloïse Derot-Desclaux, Diamondra Raminoson, Clément Viretto, Quentin Lion, Laura Viala, Léa Garcia, Alexis St-Gelais, Jean-François Bilodeau, Lorry Jean, Valentine Coicaud, Anne Ardailloux, Fanny Charlier et Marie Frissard. Vous avez rythmé mes journées dans la bonne humeur pendant ces trois années d'initiation difficile dans le milieu de la recherche.

Merci aussi à toute la section biologique du laboratoire : Karl Lalancette, Audrey Bélanger, Catherine Dussault, Mouad Mihoub.

Merci au personnel des laboratoires : Caroline Potvin, Tommy Perron, Pascal Tremblay et Claire Fournier pour tous les services que vous m'avez rendus. Merci à Dominique Simard pour son incroyable patience.

Enfin, merci à mes amis : Guillaume, Marilyn, Constantin, Joey, Franky, Millie, Cla, Lisa, Sarah, Nico John, Charles, Bastien, Max, Yuna, P-H, Joseph, Camille, Gigi, Yannick, Ambre, H4rlking, Kevin, Sabrina, Robin, les odarsois et tous ceux qui n'ont pas été cités...

1. REVUE DE LITTÉRATURE

1.1 Le cancer

1.1.1 Généralités

La cellule cancéreuse est caractérisée par son immortalité ainsi que son aptitude à se répliquer plus ou moins rapidement dans le corps de son hôte. Elle prolifère selon un procédé mitotique jusqu'à l'apparition d'une tumeur sur un tissu initialement sain. La tumeur ainsi formée peut ensuite métastaser dans d'autres organes et aller jusqu'à une généralisation de la maladie, engendrant la mort si elle n'est pas prise en charge assez tôt (Matthews et Gerritsen, 2010).

Le cancer est la principale cause de mortalité au Canada. Environ deux cent mille nouveaux cas de cancer sont diagnostiqués chaque année. Les estimations actuelles indiquent qu'un Canadien sur quatre mourra de cette maladie. Les mauvais taux de survie sont souvent dus à la découverte tardive de la maladie qui est alors à un stade avancé (Leah Smith, 2018).

Les cancers les plus souvent détectés à un stade avancé sont les suivants :

- Pulmonaire et bronchique (environ 50% au stade IV)
- Colorectal (environ 50% au stade III ou IV)
- Prostate (environ 25% au stade III ou IV)
- Sein (environ 20% au stade III ou IV)

Parmi ces différentes pathologies, les plus difficile à détecter à un stade précoce sont les cancers pulmonaires et bronchiques dont la moitié des diagnostics sont effectués après le stade IV. On trouve ensuite les cancers colorectaux avec un cas sur deux diagnostiqué au stade III.

Ces pathologies sont donc parmi les plus préoccupantes et représentent un défi majeur dans le cadre de la recherche de traitements antitumoraux.

1.1.2 Chimiothérapie

Les traitements les plus employés aujourd'hui sont les chimiothérapies. Ils consistent à utiliser des agents cytotoxiques capables de tuer les cellules cancéreuses ou de diminuer leur aptitude à proliférer, on parle alors d'agents cytostatiques. Les premiers agents de chimiothérapie ont été découverts en 1942 lors d'autopsies de soldats ayant été exposés au sulfure de 2,2'-dichlorodiéthyle **(1)** (gaz moutarde soufré, figure 1) (Chabner, 2005). Les chercheurs Louis Goodman et Alfred Gilman ont alors mis en évidence la capacité de ce composé à engendrer une hypoplasie lymphoïde. Ils ont ensuite démontré son efficacité sur un cas humain de lymphome non-Hodgkinien. Ces chercheurs ont également découvert le mécanisme d'action de ce type d'agents qui implique l'alkylation des nucléotides de l'ADN de la cellule, bloquant ainsi le processus de réplication.

a. Les agents alkylants

Depuis, de nombreux autres agents antitumoraux agissant selon des mécanismes dit « alkylants » ont été découverts. Parmi les plus utilisés aujourd'hui encore, on retrouve le cyclophosphamide **(2)** (figure 1) approuvée par la FDA en 1959 (Chabner, 2005). Il est utilisé contre plusieurs pathologies telles que les lymphomes non-Hodgkiniens, les leucémies, les cancers du sein, les cancers des ovaires, les myélomes multiples, les neuroblastomes et les rétinoblastomes (MedlinePlus, 2019). Les sels de platine, dont la première approbation date de 1978 avec le cisplatine **(3)** (figure 1) (Chabner, 2005), sont particulièrement efficaces sur le cancer du testicule (Rosenberg, 1999). Enfin, il existe aussi la famille des nitroso-urées comme la lomustine **(4)** (figure 1), laquelle est principalement utilisée pour traiter certains types de tumeurs cérébrales (National Cancer Institute, 2012).

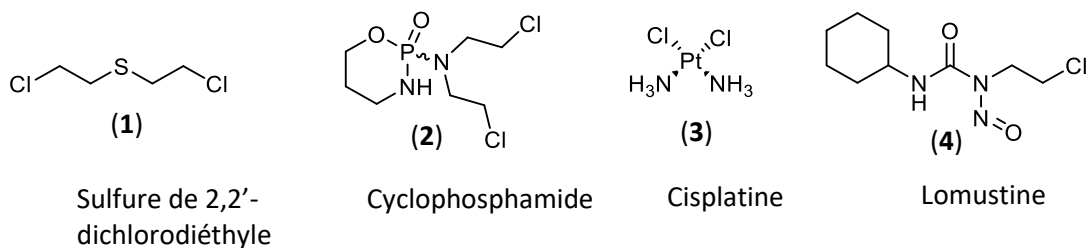


Figure 1: Exemples d'agents alkylants

b. Les antimétabolites

La deuxième classe d'agents de chimiothérapie à avoir été découverte est celle des antimétabolites. Les agents anti-foliques, comme le méthotrexate **(5)** (figure 2) ont permis la première rémission d'un patient atteint d'une leucémie lymphoblastique aigüe (Farber, 1948). Ce mécanisme d'action fut découvert après que le professeur Sydney Farber administra de l'acide folique à un patient atteint d'une leucémie, ce qui eut pour conséquence de stimuler la prolifération cellulaire (Chabner, 2005).

Un autre agent antimétabolite efficace, en particulier sur les cancers colorectaux, est le 5-fluorouracile **(6)** (figure 2). Il fait partie de la famille des bases pyrimidiques. Il agit en inhibant l'enzyme thymidylate synthase et en incorporant ses métabolites dans l'ARN et l'ADN des cellules en division (Longley, Harkin et Johnston, 2003).

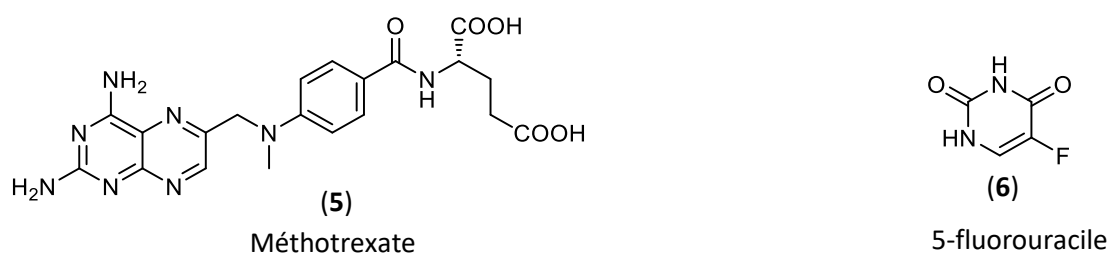


Figure 2: Exemple d'agents antimétabolites

c. Les agents intercalants

La découverte des premiers agents intercalants étudiés pour leurs propriétés antitumorales date de 1957 avec les premiers essais cliniques à partir d'extraits de *Camptotheca acuminata* (Wall, 1995). Cette plante originaire de Chine contient de la camptothécine **(9)**, précurseur de l'irinotecan **(7)** et du topotecan **(8)** (figure 3) qui sont utilisés aujourd'hui pour traiter les tumeurs des ovaires, colorectales et pulmonaires (Chabner, 2005 ; Vidal, 2013c, 2015). Ce sont des molécules hautement cytotoxiques de la famille des alcaloïdes, capables d'inhiber la topoisomérase I. Cette enzyme joue

un rôle lors de la transcription de l'ADN, son absence engendre des cassures dans les brins (Wong, 1994).

Durant cette même période, un autre agent intercalant important fut découvert dans les bactéries du genre *Streptomyces* : la doxorubicine (**10**), aussi appelée adriamycine (figure 3), un antibiotique de la famille des anthracènes (Lown, 1993). Elle agit d'une manière similaire, en inhibant l'enzyme topoisomérase II (Bodley, 1989) et est utilisée contre plusieurs cancers notamment : les leucémies, les myélomes multiples, les lymphomes malins non hodgkiniens, la maladie de Hodgkin et les cancers broncho-pulmonaires, de l'estomac, de l'ovaire, de la vessie et du sein (Vidal, 2013b).

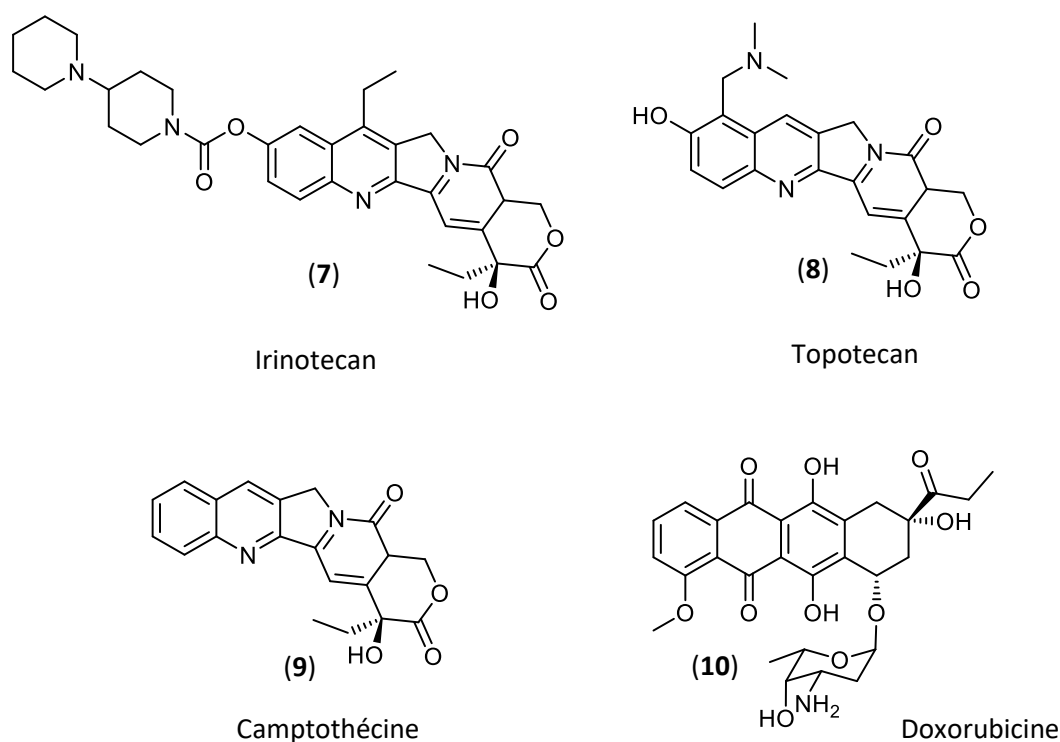


Figure 3: Exemple d'agents cytotoxiques intercalants

d. Les antimétoprotiques

Le début de l'utilisation des agents antimétoprotiques date de 1958 avec la découverte d'alcaloïdes aux structures complexes extraits de *Catharanthus roseus*, aussi appelée la pervenche

de Madagascar (Kulkarni, 2016). Les principaux agents actifs de cette plante, dont la vincristine et la vinblastine, sont aujourd'hui utilisés afin de traiter une large gamme de maladies incluant les cancers broncho-pulmonaires, du sein, les leucémies aiguës lymphoblastiques, les lymphomes et les neuroblastomes (Vidal, 2013e, 2013d).

C'est à la fin des années 1980 que cette classe d'agents de chimiothérapie connaît son essor le plus important, notamment avec la découverte de l'efficacité du paclitaxel (**11**), commercialisé sous le nom de Taxol (figure 4). Ce produit naturel, extrait de *Taxus brevifolia* (USA, Nord-Ouest) (Wall, 1995), fait partie de la famille des taxanes et agit en inhibant la dépolymérisation des microtubules, bloquant ainsi le processus de division cellulaire. Son efficacité a d'abord été démontrée sur le cancer des ovaires en 1987 (Donehower, 1987). Depuis, il a montré une bonne efficacité sur de nombreux autres types de tumeur, notamment celles du sein, du poumon et de la prostate (Wall, 1995).

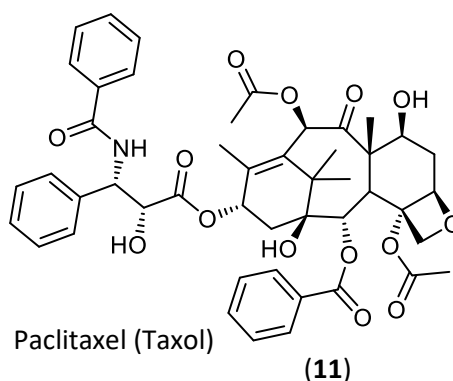


Figure 4: Exemple d'agent antiméiotique

e. Les inhibiteurs des tyrosine kinases (ITK)

Cette nouvelle famille d'agents de chimiothérapie vise à inhiber des enzymes appelées tyrosine kinase. Ils agissent en se liant à ces récepteurs qui jouent un rôle important sur la croissance cellulaire, la prolifération, l'angiogenèse et/ou la diffusion métastatique des cellules (Salimi-Jeda *et al.*, 2022). Cette dernière décennie a été marquée par les progrès qui ont été faits sur le pronostic

de survie de nombreux cancers à des stades métastatiques grâce à cette catégorie d'agents thérapeutiques.

Leur principal inconvénient est qu'ils nécessitent la présence de récepteurs ou autres protéines spécifiques produites par les cellules cancéreuses avec lesquels les tyrosine kinase interagissent. Par exemple, dans le cas des cancers pulmonaires non à petites cellules, la présence de mutations spécifiques situées sur l'EGFR ou sur la protéine ALK est nécessaire afin de pouvoir traiter ces cellules avec des inhibiteurs de tyrosine kinase. Or, la mutation de l'EGFR concerne environ 10% des patients atteints par cette pathologie et la mutation de l'ALK est présente pour environ 5% des cas (Shaw *et al.*, 2013). Par conséquent, environ 85% des cas de cancer broncho-pulmonaire ne peuvent pas bénéficier de ce type de traitement.

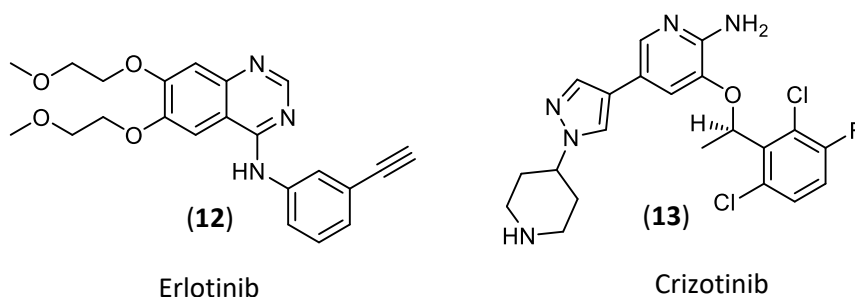


Figure 5: Inhibiteurs de tyrosine kinase utilisés sur les cancers broncho-pulmonaires. Erlotinib (12) pour la mutation de l'EGFR et Crizotinib (13) pour la mutation de l'ALK.

Dépendamment de l'interprétation que l'on donne à un « traitement ciblé », ceux-ci sont souvent classés dans la famille des agents de chimiothérapie ciblée. C'est le cas dans la revue publiée par Amaury Daste en 2016 (Daste *et al.*, 2016). En effet, les ITK engendrent une toxicité largement réduite par rapport aux autres agents de chimiothérapie et sont capables de cibler des récepteurs spécifiques des cellules tumorales. En revanche, ces thérapies ne sont pas administrées spécifiquement sur le site tumoral, elles interagissent donc à de nombreux endroits du corps, engendrant toujours des effets secondaires. C'est la raison pour laquelle ici, nous ne les qualifierons pas comme tel. Par exemple, l'erlotinib peut provoquer des diarrhées, des inflammations de la peau, une altération pulmonaire ou encore une lésion de la cornée (Vidal, 2022).

1.1.3 L'immunothérapie

L'immunothérapie est un type de traitement qui consiste à agir indirectement sur la tumeur, en stimulant le système immunitaire de l'hôte et en lui permettant de détecter les cellules cancéreuses afin de les éliminer. De nombreuses recherches sont effectuées dans cette optique afin de traiter les pathologies les plus problématiques comme les tumeurs cérébrales (Fujita *et al.*, 2011), pulmonaires (Forde, Kelly et Brahmer, 2014) ou encore sur des cancers agressifs de la peau (Ravulapati *et al.*, 2017). Aujourd'hui, des traitements immunothérapeutiques comme le nivolumab et le pembrolizumab sont employés contre plusieurs types de cancer et représentent parfois un vrai rempart à l'inefficacité de certaines chimiothérapies ou radiothérapies, comme cela peut être le cas pour le cancer broncho-pulmonaire.

Ces produits sont aujourd'hui employés en particulier sur les mélanomes, les cancers bronchiques non à petites cellules, les carcinomes à cellules rénales et les lymphomes de Hodgkin (Vidal, 2017a, 2017b). Ces traitements sont principalement des protéines qui font partie de la famille des anticorps monoclonaux et agissent en se liant aux récepteurs de la mort programmée cellulaire PD-1, permettant ainsi aux lymphocytes T de reconnaître la cellule cancéreuse comme un antigène à éliminer.

1.1.4 Les traitements ciblés

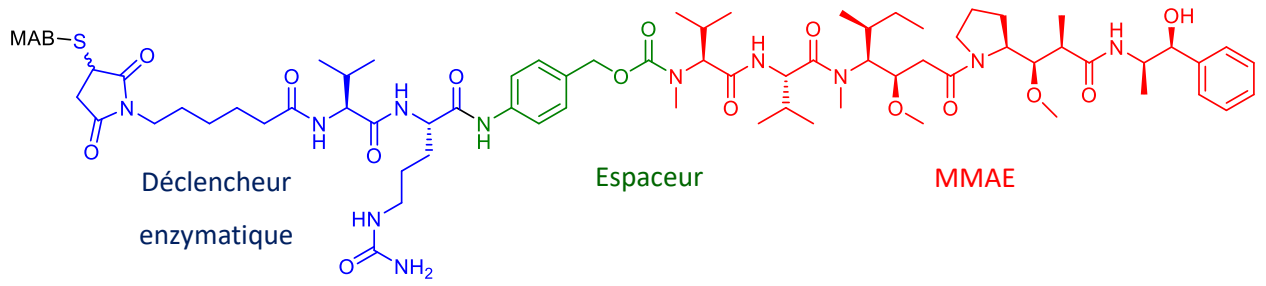
Un des principaux inconvénients des agents de chimiothérapie est leur manque de sélectivité, engendrant ainsi de lourds effets secondaires. Aussi, la dernière décennie a marqué un tournant majeur dans le traitement de certains cancers avec l'apparition des premiers traitements ciblés. En effet, depuis quelques années, des nouveaux traitements générant une faible toxicité générale et une meilleure efficacité ont fait leur apparition. Ils permettent à la fois un meilleur pronostic de survie ainsi qu'une meilleure qualité de vie (Daste *et al.*, 2016).

Cette approche du traitement ciblé consiste à libérer sélectivement un principe actif dans la ou les tumeurs. Celui-ci doit donc souvent posséder un ligand capable de l'amener au contact de la

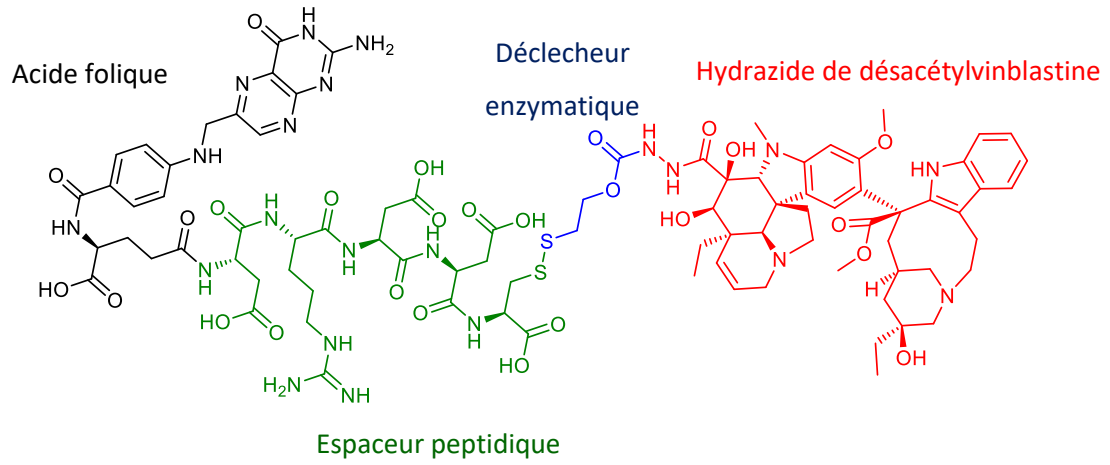
tumeur afin que l'agent actif puisse être libéré dans la cellule cible. Cette approche est aussi appelée en anglais « Ligand-Based Targeted Therapy » et inclus un système de « Drug-delivery » qui implique une libération de l'actif sur le site tumoral afin d'augmenter l'efficacité et de réduire la toxicité sur les tissus sains (Das, Mohanty et Sahoo, 2009).

Plusieurs approches sont possibles pour appliquer ce concept. Par exemple, il est possible de cibler des antigènes spécifiques à certaines cellules cancéreuses comme c'est le cas avec le Brentuximab Vedotin (**14**) (figure **6**) utilisé depuis plusieurs années pour traiter différents types de lymphomes (Deng, Pan et O'Connor, 2013). Cet agent est composé d'un anticorps monoclonal (MAB) capable de se lier à l'antigène CD30 présent sur ce type de cellule, d'un déclencheur enzymatique attaché à un espaceur auto-immolable qui peut être clivé par une enzyme (cathepsine) présente dans l'environnement ciblé et de monométhyl auristatine E (MMAE), un agent antimitotique capable d'agir sur la dépolymérisation des microtubules lors de la division cellulaire après son internalisation dans la cellule (Katz, Janik et Younes, 2011 ; Senter et Sievers, 2012).

En suivant ce même concept, il existe une autre stratégie qui consiste à cibler des récepteurs surexprimés à la surface des cellules cancéreuses. À ce titre, le vintafolide (**15**) (figure **6**), un produit à l'étude depuis une dizaine d'années, peut se lier sélectivement aux récepteurs de l'acide folique surexprimés dans certaines tumeurs pulmonaires et ovariennes (Vergote et Leamon, 2015). Cet agent est constitué d'un ligand pour le récepteur de l'acide folique, d'un espaceur clivable dans le milieu tumoral et d'un agent antimitotique actif, l'hydrazide de désacétylvinblastine, un dérivé de la vinblastine issu de *Catharanthus roseus*.



Brentuximab vedotin (14)



Vintafolide (15)

Figure 6: Exemples d'agents de chimiothérapie ciblée

1.2 Les agents anti cancéreux glycosidiques

Certains agents antitumoraux disposent d'une section glycosidique naturelle ou greffée par des procédés de synthèse organique. Cette caractéristique spécifique est particulièrement intéressante dans un contexte de glycochimie, en particulier pour le développement d'agents cytotoxiques plus actifs et ciblés que les agents de chimiothérapie classique.

1.2.1 Agents anticancéreux glycosidiques d'origine naturelle

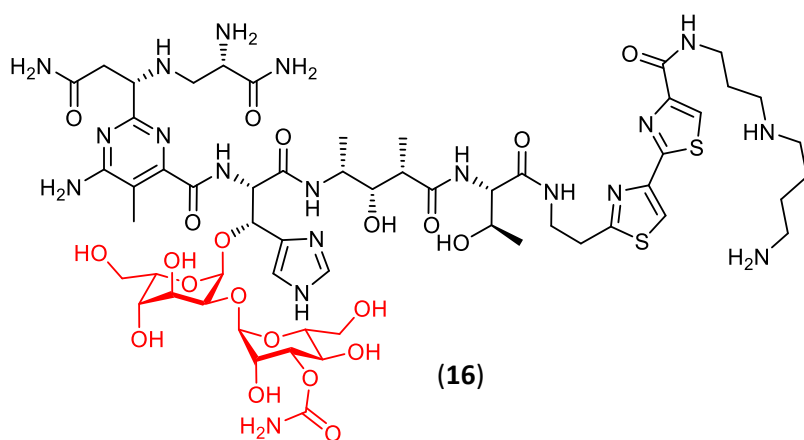
Parmi les agents cytotoxiques d'origine naturelle comportant une section glycosidique, il y a les bléomycines (**16**) (figure 7). Elles sont utilisées pour traiter les lymphomes de Hodgkin et non Hodgkiniens et aussi les cancers des testicules, des organes génitaux externes, du col de l'utérus et otorhinolaryngologiques (Vidal, 2013a). Ce sont des molécules naturellement produites par des bactéries telles que *Streptomyces verticillus* (Cohen, 1976). Elles agissent par un mécanisme intercalant qui aboutit à la rupture des brins d'ADN (Masson, 1997).

Récemment, de nombreuses études utilisant des sondes fluorescentes ont permis de mettre en avant les propriétés de ciblage de la section sucre des bléomycines, notamment sur des cellules malignes du sein (MCF-7), de la prostate (DU-145) ou encore du pancréas (BxPC-3)(Yu *et al.*, 2015 ; Yu *et al.*, 2013), ouvrant ainsi des perspectives pour développer des traitements ciblés en incorporant une section « sucre » sur des agents cytotoxiques. La doxorubicine (**10**) (figure 3) est également un agent antitumoral naturellement glycosylé utilisé aujourd'hui.

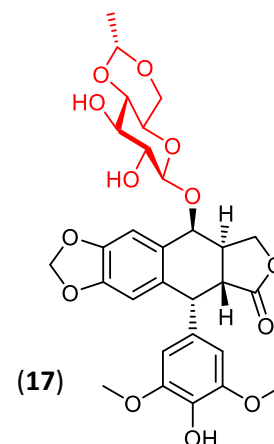
1.2.2 Agents anticancéreux glycosidiques d'origine hémi-synthétique

L'étoposide (**17**) (figure 7) est un agent antitumoral qui possède une activité cytostatique très élevée et qui agit en inhibant l'enzyme topoisomérase II, responsable de la reconstitution des brins d'ADN après leur cassure (Wu *et al.*, 2011). Ce composé a été synthétisé à partir de la podophyllotoxine, elle-même biosynthétisée par des espèces du genre *Podophyllum* (Marques *et al.*, 2013). L'étoposide est recommandé pour traiter les cancers broncho-pulmonaires (à petites cellules ou non), les lymphomes (hodgkiniens ou non), les leucémies (lymphoblastiques et

myéloblastiques), le cancer des testicules ainsi que les choriocarcinomes placentaires. Depuis, de nouveaux dérivés glycosylés de la podophyllotoxine ont été synthétisés et sont à l'étude (Liu *et al.*, 2016 ; Zi *et al.*, 2015).



Bléomycine A₅



Etoposide

Figure 7: Exemples d'agents cytotoxiques présentant une section glycosidique (ici en rouge)

2. INTRODUCTION

2.1 Le L-rhamnose

2.1.1 Sources et structure

Le L-rhamnose (**18**) est un « désoxyose » naturel, caractérisé par l'absence d'une fonction hydroxyle en position 6 et appartenant à la série des sucres naturels de configuration « L » (figure **8**). Cette série dérive d'une configuration stéréo-isomérique particulière de l'atome de carbone situé en position 2 (ici en configuration S). La structure dévie alors la lumière polarisée vers la gauche, elle est donc lévogyre contrairement à ses homologues de la série « D » qui dévie la lumière polarisée vers la droite.

Le L-rhamnose est un sucre non-mammalien qui se trouve majoritairement sous forme d'hétéroside dans de nombreux types de végétaux. Par exemple, il est souvent conjugué à des flavonoïdes comme dans le genre *Pinus* (Labib *et al.*, 2018), sous forme de rutinoses flavonoïques (rutinose (**19**): liaison $\alpha(1 \rightarrow 6)$ rhamnose - glucose, figure **8**) dans les espèces du genre *Citrus* (Liu *et al.*, 2017), ou encore dans des structures polyosidiques comme l'hémicellulose constitutive des parois cellulaires végétales du bois (Peng *et al.*, 2012).

Des composés rhamnosylés peuvent également être biosynthétisés par certaines bactéries comme *Escherichia Coli* (Yoon *et al.*, 2012) ou encore dans la membrane cellulaire de *Lactobacillus Rhamnosus* (Wicken, 1983).

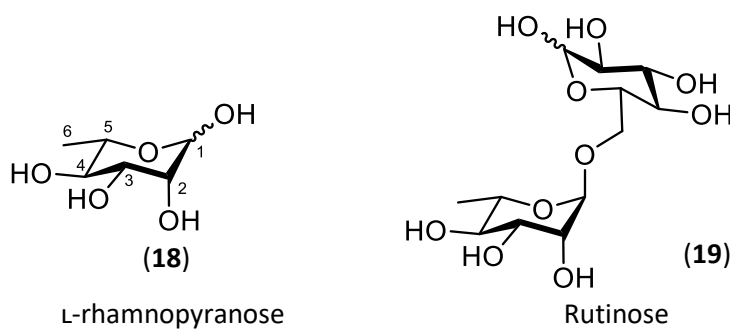


Figure 8: Représentation du L-rhamnose (**18**) et du rutinose (**19**)

2.1.2 Dérivés cytotoxiques de triterpènes

Depuis les années 2000, des études de pharmaco-modulation ont été menées sur des triterpènes cytotoxiques issus de la forêt boréale au Laboratoire LASEVE. Ces travaux avaient pour but de comparer leur activité cytotoxique, à celle d'homologues glycosylés avec différents sucres et sur différentes positions afin d'établir des relations structure-activité.

a. Dérivés de lupane

Parmi les composés étudiés, l'un des principaux ayant obtenu des résultats prometteurs est l'acide bétulinique (**20**) (figure 9). C'est un triterpène de la famille des lupanes, extrait du bouleau blanc, étudié aujourd'hui pour son aptitude à être actif sur des cellules cancéreuses ayant développé des résistances (Saeed *et al.*, 2018). Le mécanisme d'action est encore à l'étude et pourrait impliquer plusieurs cibles simultanément. Il pourrait agir en induisant la perméabilisation de la membrane externe des mitochondries et aussi en exerçant une activité impliquant des récepteurs aux cannabinoïdes (CBR's) tel que démontré sur les cellules BT474 et MDA-MB-453 de cancer agressif du sein (Kumar *et al.*, 2018 ; Liu *et al.*, 2012)

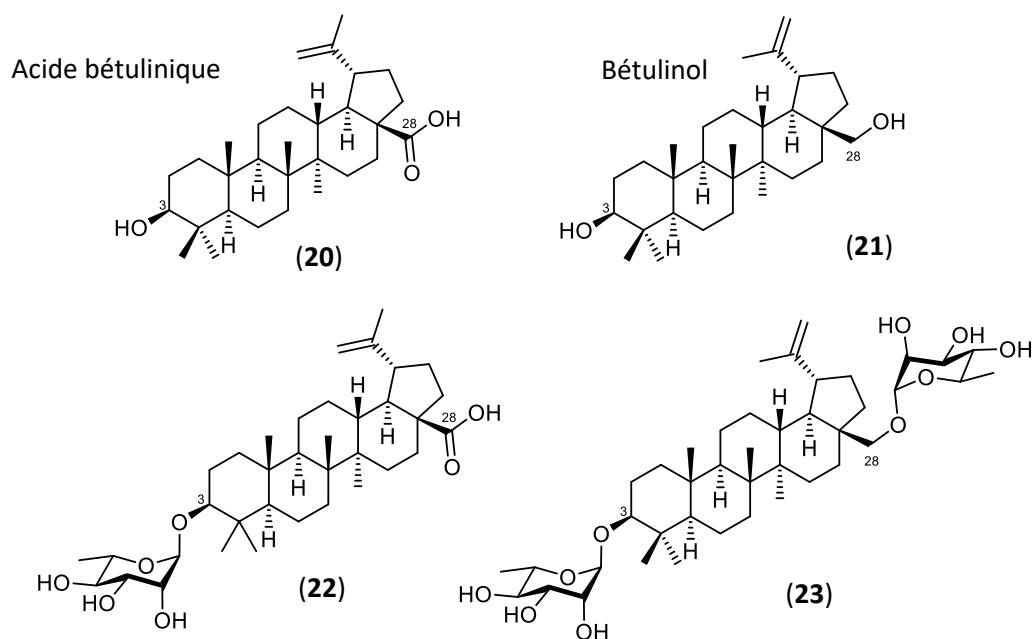


Figure 9: Structure de l'acide bétulinique (**20**), du bétulinol (**21**) et de leurs dérivés rhamnosylés (**22**) et (**23**).

L'étude de pharmaco-modulation sur l'acide bétulinique réalisée au LASEVE par le groupe de recherche des professeurs André Pichette et Jean Legault, a permis de mettre en avant l'intérêt de développer des dérivés glycosylés, de ce composé. Parmi quatorze différents glycosides de lupane, la molécule obtenant les meilleurs résultats, autant concernant la toxicité que la sélectivité du produit, est le 3-*O*-rhamnoside d'acide bétulinique (**22**) (figure 9) (Gauthier *et al.*, 2006). En effet, les tests de toxicité *in vitro* ont révélé une meilleure activité sur les cellules cancéreuses A-549, DLD-1 et B16-F1 avec des IC₅₀ respectives de 2,6, 3,9 et 3,9 μM pour le rhamnoside (**22**) contre 10,3, 15,0 et 16,1 μM pour l'acide bétulinique (**20**). De plus, les tests sur les cellules saines WS-1 indiquent une faible toxicité du dérivé rhamnosylé avec une IC₅₀ de 31 μM comparativement à l'acide bétulinique qui n'a pas montré de sélectivité avec une IC₅₀ de 12 μM.

De la même manière, dans une étude complémentaire, des dérivés bidesmosidiques du bétulinol (**21**) (figure 9) ont été synthétisés et testés sur des lignées cellulaires communes à l'étude précédente (A-549, DLD-1 et WS-1). Les résultats de ces travaux indiquent que le produit le plus actif est le composé (**23**) possédant deux unités de rhamnose aux positions 3 et 28, avec des valeurs d'IC₅₀ inférieures à 2 μM (Gauthier *et al.*, 2009b). Malgré une absence de sélectivité concernant ce composé, les résultats suggèrent que la présence d'une ou deux section(s) L-rhamnose sur ce type de structure joue un rôle d'amplificateur important de l'activité.

Concernant le mécanisme d'action du bidesmoside de bétulinol (**23**), une étude récente menée par le groupe du professeur Jean Legault semble indiquer qu'il agit en modifiant la perméabilité de la membrane des mitochondries via une accumulation de ROS, ce qui a pour conséquence l'activation d'enzymes pro-apoptotiques (Mihoub *et al.*, 2018).

b. Dérivés d'ursane

Au LASEVE, ce type d'étude de pharmaco-modulation a été étendue autour de triterpènes de la famille des ursanes. En effet, plus récemment, les travaux menés par Christopher Herailh et Gilles Jost ont permis de mettre en évidence les intéressants résultats des tests cytotoxiques de certains dérivés mono- et bidesmosidiques de l'acide ursolique (**24**) et de l'uvaol (**25**) (figure 10). Lors de ces travaux, le produit ayant obtenu les meilleurs résultats est un bidesmoside d'uvaol (**26**)

composé d'unités L-rhamnose sur ses position 3 et 28 (figure 10), à l'image des résultats obtenus sur les lupanes (Herailh, 2019 ; Jost, 2017).

Un autre fait intéressant, mis en lumière dans cette large étude, est l'amplification notable de l'activité de l'uvaol à travers l'ajout d'une section sucre. En effet, l'uvaol n'est pas ou peu actif à son état naturel ($IC_{50} > 200 \mu M$) et peut devenir actif comme dans le cas du « 3,28-O-dirhamnoside d'uvaol » (26) qui montre des IC_{50} respectives sur les cellules A-549, DLD-1 et WS-1 de 4,5, 11,4 et 14 μM .

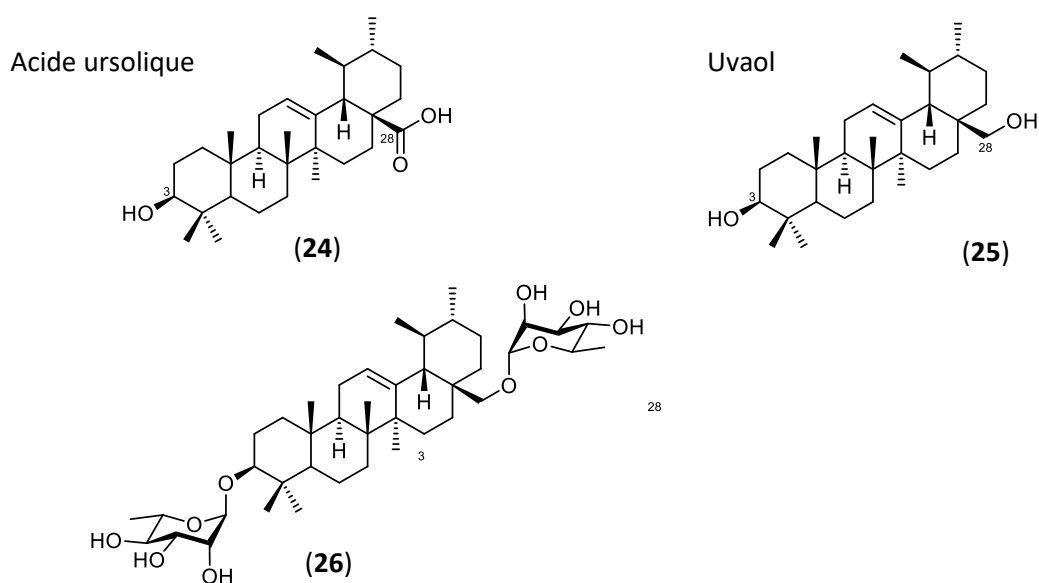


Figure 10: Structure de l'acide ursolique (24), de l'uvaol (25) et du 3,28-O-dirhamnoside d'uvaol (26).

2.1.3 Autres composés actifs

Parmi les produits cytotoxiques d'origine naturelle étudiés pour leur potentiel anticancéreux, d'autres types de structures voient leur activité amplifiée lorsque des unités rhamnosés sont greffées à celle-ci.

a. Dérivés de l'émودية

C'est le cas, par exemple, de l'émودية (**27**) (figure 11) qui fait partie de la famille des anthracènes et dont des dérivés rhamnosylés partiellement acétylés (**28** - **32**) ont pu être synthétisés. Ces composés ont fait l'objet d'une étude de pharmaco-modulation autour des fonctions hydroxyles du rhamnose. Les résultats de ces travaux montrent que des dérivés acétylés (tableau 1) ont une meilleure sélectivité sur certaines lignées de cellules cancéreuses avec des activités bien supérieures à celle des composés parents (Song *et al.*, 2010 ; Xing *et al.*, 2015).

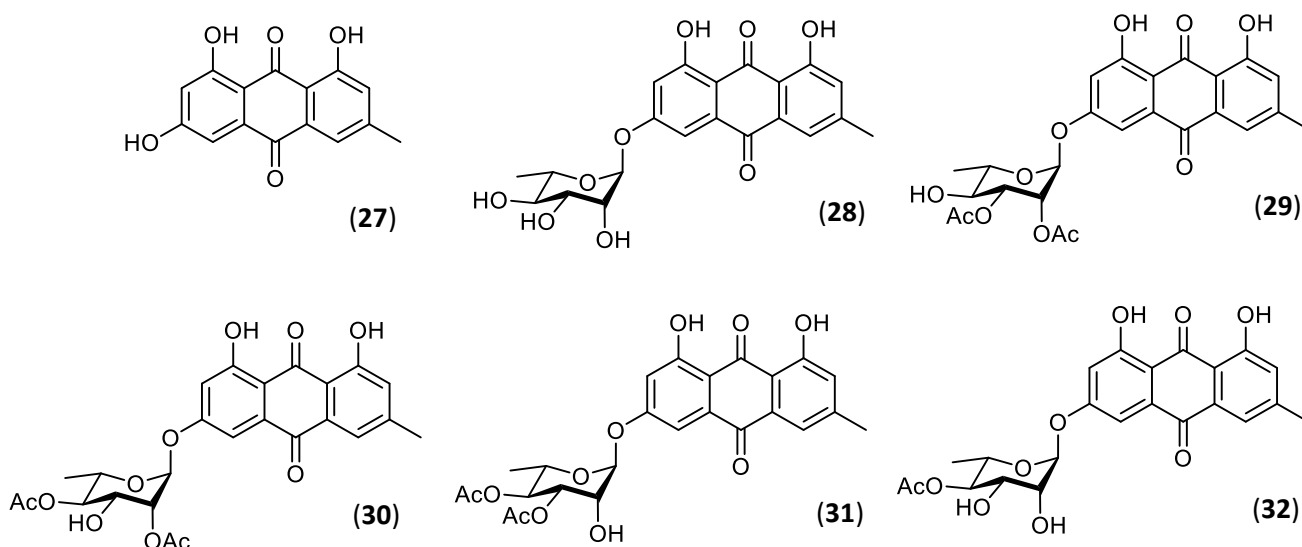


Figure 11: Structure de l'émودية (**27**) et de ses dérivés rhamnosylés acétylés (**28-32**).

Par exemple, sur les cellules A-549 du poumon, l'émودية (**27**) possède une IC_{50} de 19,54 $\mu\text{g/mL}$ alors que son homologue rhamnosylé avec une fonction acétate en position 4 du rhamnose (**32**) montre une IC_{50} de 2,25 $\mu\text{g/mL}$. Aussi, le dérivé acétylé aux positions 3 et 4 du rhamnose (**31**) se révèle très actif sur les cellules de carcinome hépatique HepG2 avec une IC_{50} de 1,32 $\mu\text{g/mL}$ comparativement à 12,79 $\mu\text{g/mL}$ pour l'émودية (tableau 1). La divergence d'activité de ces différents dérivés soulève la question du rôle des différentes positions hydroxyle dans l'activité cytotoxique de ces rhamnosides d'émودية.

Tableau 1: Activité cytotoxique de l'émodyne et de ses dérivés sur diverses lignées de cellules cancéreuses humaines (Xing et al., 2015).

Composés	IC50 (µg/mL)		
	A549	HepG2	HeLa
(27)	19,54	12,79	12,14
(28)	>20,00	>20,00	>20,00
(29)	>20,00	>20,00	>20,00
(30)	9,27	>20,00	>20,00
(31)	3,16	1,32	5,34
(32)	2,25	>20,00	>20,00

b. Dérivés de la diosgénine

Parmi les composés naturels rhamnosylés qui ont été étudiés pour leurs propriétés anticancéreuses, il y a la dioscine (**34**) (figure **12**), une saponine stéroïdique présente dans de nombreuses espèces végétales, notamment dans des Solanacées du genre *Dioscorea* (Nakamura et al., 1996). Elle est constituée d'une génine stéroïdique appelée diosgénine (**33**) (figure **12**) et d'une section sucre appelée chacotriose qui comprend deux unités de rhamnose portées par un glucose. La dioscine possède une activité cytotoxique sur des cellules cancéreuses du poumon (IC₅₀ = 4,16 µM sur A-549), des métastases du col de l'utérus (IC₅₀ = 2,90 µM sur HeLa) et cérébrales (IC₅₀ = 9,00 µM sur H4), (Lv et al., 2013 ; Wang, Zhang et Yu, 2007).

La diosgénine (**33**) a depuis fait l'objet d'études de pharmaco-modulation en comparant son activité à celle d'autres saponines naturelles de structure proche (Ikeda et al., 2003). D'autres recherches se sont orientées sur une approche hémi-synthétique de sections sucres originales aux hydroxyles fonctionnalisés, cependant les résultats des tests biologiques indiquent une activité moins importante que pour la dioscine (**34**) d'origine (Kaskiw et al., 2009).

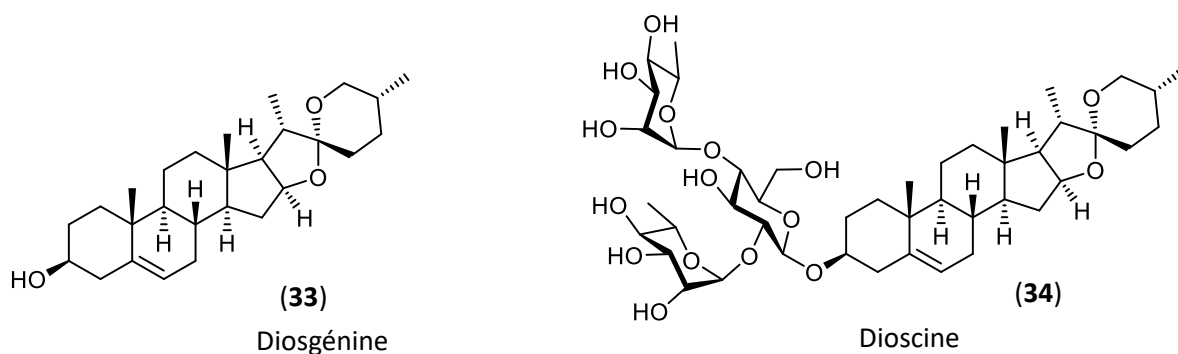


Figure 12: Représentation de la diosgénine (33) et de la dioscine (34).

Une étude datant de 2004 a proposé que la diosgénine agissait selon un mécanisme pro-apoptotique impliquant une perturbation du potentiel mitochondrial (Wang *et al.*, 2004).

c. Dérivés de la solasodine

La solasodine (35) (figure 13) est un alcaloïde stéroïdique, produit par des solanacées du genre *Solanum*, dont la structure est très proche de celle de la diosgénine (33). Elle se caractérise notamment par la présence d'un atome d'azote intracyclique typique des alcaloïdes (Bhat *et al.*, 2010).

La solamargine (36) (figure 13) est un dérivé naturel de solasodine particulièrement actif dont la section sucre est une unité chacotriose, comme pour la dioscine (34). Les tests de cytotoxicité réalisés sur quatre lignées cellulaires cancéreuses indiquent des IC_{50} de 5,9 μM pour la prostate (PC-3), 7,8 μM pour le cancer de la tête et du cou (KB), 8,0 μM pour la leucémie lymphoblastique (K562) et 8,2 μM pour le cancer du sein (MCF-7), (Sun *et al.*, 2011). Aussi, une étude de pharmaco-modulation visant à étudier différents dérivés mono-glycosidiques a été menée et révèle que, parmi six différents mono-glycosides essayés, celui donnant les meilleurs résultats est le composé rhamnosylé (37) (Cui *et al.*, 2012). Les IC_{50} mesurées pour ce dérivé rhamnosylé sont de 18,4 μM et 14,2 μM respectivement sur les cellules PC-3 et MCF-7.

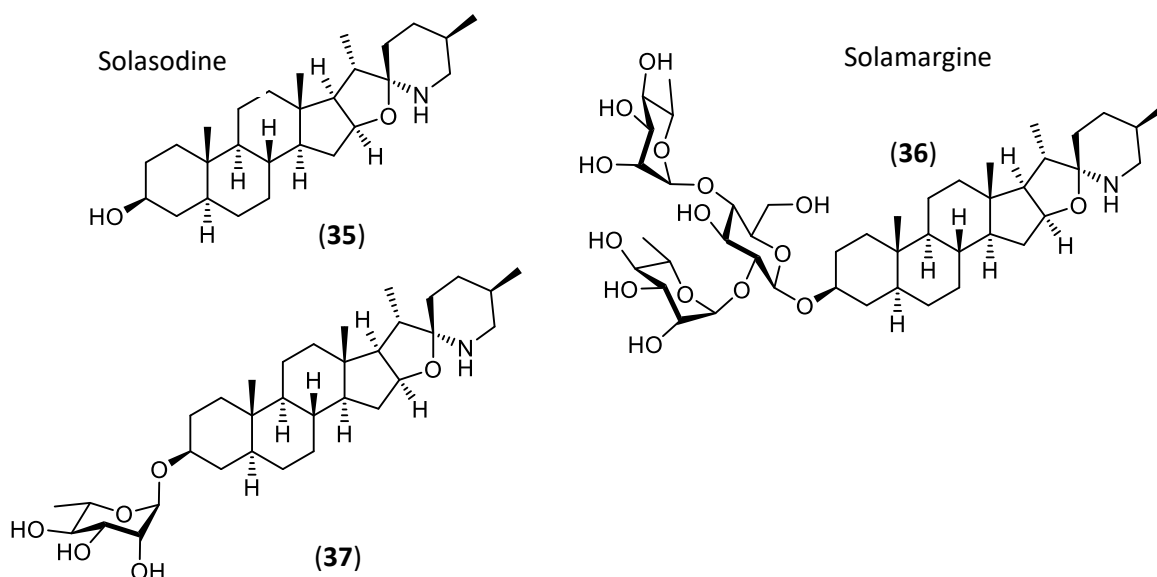


Figure 13: Représentation de la solasodine (35) et de ses dérivés (36-37).

Il est également intéressant de noter que la section chacotriose a déjà été greffé sur des dérivés lupane en 2009 (Gauthier *et al.*, 2009a). L'ajout de ce triose n'a pas engendré de modification significative de la cytotoxicité des composés, c'est la raison pour laquelle nous choisirons de concentrer notre étude sur le L-rhamnose.

2.1.4 Rôle des lectines

a. Généralités

Les récepteurs cellulaires de la famille des lectines sont des substrats capables d'interagir avec des structures glycosidiques. Ces interactions font actuellement l'objet de nombreuses études afin de développer des nouveaux traitements antitumoraux sélectifs. Le principe est de trouver des lectines surexprimées à la surface de certaines cellules cancéreuses afin de développer des produits cytotoxiques ou immunothérapeutiques incluant des sections glycosidiques capables de cibler ces récepteurs (Yau *et al.*, 2015). Par exemple, des lectines spécifiques au galactose, aussi appelées galectines, ont pu être mises en évidence sur des cellules cancéreuses de la peau (Biron-Pain *et al.*, 2013), du poumon (Kuo *et al.*, 2011), du colon (Lee *et al.*, 2013), du sein (Zhang *et al.*, 2014), des ovaires (Kim *et al.*, 2011) et de la prostate (Labrie *et al.*, 2015).

b. « Rhamnose binding-lectin » (RBL)

Des lectines spécifiques au rhamnose ont été mises en évidence sur des cellules de plusieurs espèces d'animaux marins tels que *Leiognathus nuchalis* (Okamoto *et al.*, 2005), *Oncorhynchus tshawytscha* (Bah *et al.*, 2011), la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* (Tateno *et al.*, 2002) ou encore plus récemment, dans les œufs de concombre de mer *Echinometra lucunter* (Carneiro *et al.*, 2015).

L'hypothèse d'une « rhamnose binding-lectin » qui serait surexprimée à la surface de certaines cellules cancéreuses pourrait expliquer l'activité et la sélectivité que présentent certains dérivés rhamnosylés d'agents cytotoxiques.

C'est ce que soutient une étude réalisée par un groupe de chercheurs qui ont fait la corrélation entre la cytotoxicité de deux dérivés de solasodine (le 3-*O*-rhamnoside (**37**) et le 3-*O*-chacotrioside (**36**), figure **13**) d'une part, et d'autre part la fluorescence générée par leur section glycosidique respective conjuguée à une biotine se liant à des nanoparticules fluorescentes (**38** et **39**) (figure **14**) (Wang *et al.*, 2011). Ils ont notamment montré ce phénomène en testant les composés sur quatre lignées cellulaires cancéreuses différentes, soit par ordre croissant d'activité : MCF-7 (sein), HT-29 (poumon), KB (tête et cou), et PC-3 (prostate).

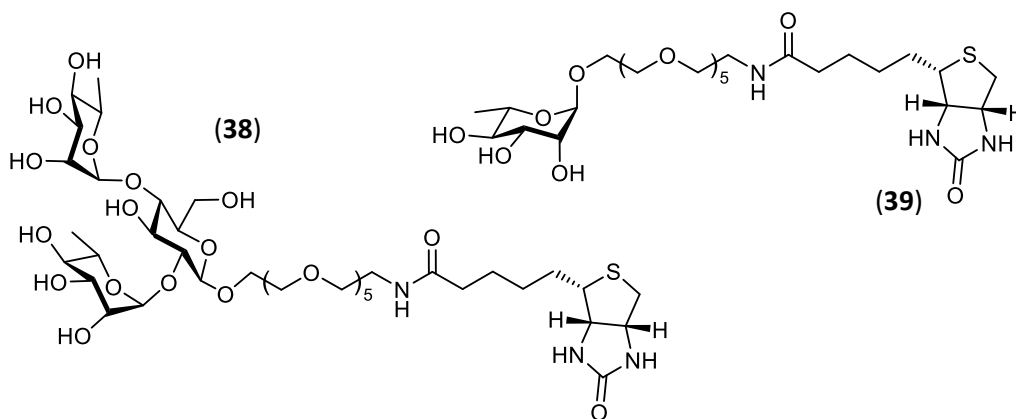


Figure 14: Structure des conjugués de biotine testés.

2.1.5 Immunothérapie

Dans un contexte de développement d'agents anticancéreux, certains sucres pourraient être utilisés en tant qu'agent d'immunothérapie par leur capacité à être reconnus comme des antigènes par les anticorps humains (Oyelaran *et al.*, 2009). Le L-rhamnose peut être reconnu comme un antigène, ce qui lui confère un potentiel pharmaceutique dans de nombreux domaines allant du développement de vaccins (Sarkar, 2010) jusqu'au développement d'agents antitumoraux par stimulation du système immunitaire (Karmakar *et al.*, 2016 ; Long *et al.*, 2014). Des travaux, effectués récemment, ont notamment permis de synthétiser des liposomes présentant des unités rhamnose à leur surface. Ceux-ci ont montré qu'ils étaient capables d'activer le système immunitaire humain. Des travaux effectués avec un L-rhamnose glycosylé sur un céramide ont montré que celui-ci était capable de s'intercaler entre les couches de la membrane lipidique des cellules EL4 de lymphome, engendrant ainsi une réaction immunitaire des anticorps.

2.2 Interactions multivalentes en milieu biologique

2.2.1 Concept général

De nombreuses structures biologiques sont organisées de manière à permettre des interactions multivalentes. Ce type d'interaction entre un produit et son substrat se caractérise par la présence de plusieurs points de contact entre eux (figure 15). Plusieurs structures présentes dans le corps exploitent ce principe, notamment des virus, des anticorps et des récepteurs cellulaires (Fasting *et al.*, 2012).

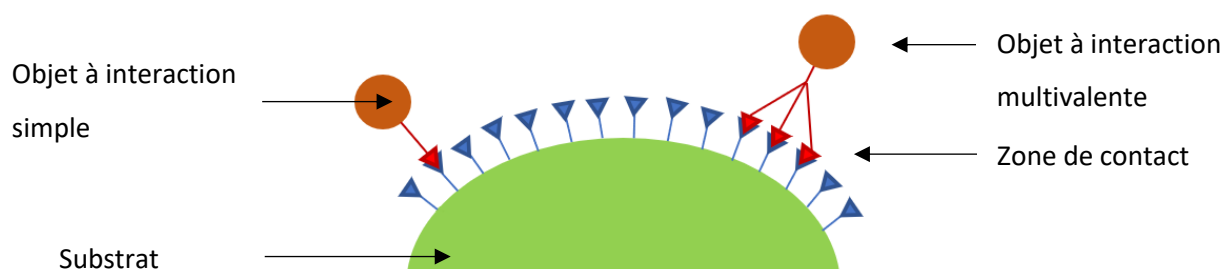


Figure 15: Schéma représentant la différence entre une interaction simple et multivalente.

L'utilisation de ce type d'interaction peut permettre à l'objet une meilleure capacité de reconnaissance du substrat ainsi qu'une force de liaison plus importante entre les deux entités. Cela nécessite souvent que le support multivalent soit bien paramétré afin d'optimiser les possibilités de point de contact avec le substrat. Aussi, une approche intéressante afin de tirer profit du potentiel de multivalence de ce type de substrat, est l'utilisation d'une structure dendritique (figure 16) qui présente plusieurs points de contacts capables de se lier à ce type de surface (Mintzer *et al.*, 2012).

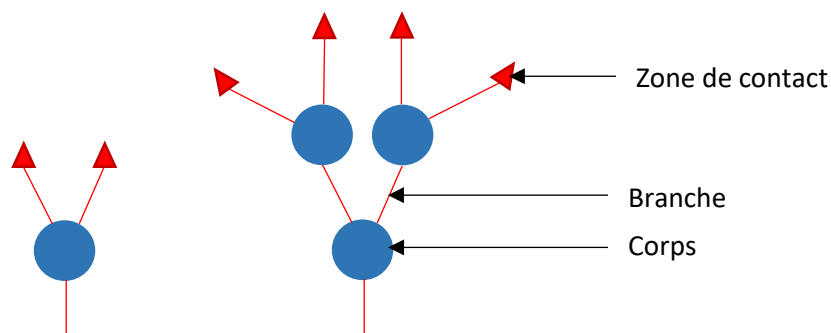


Figure 16: Exemple de structure dendritique à deux branches de première et deuxième génération (G1 à gauche et G2 à droite).

2.2.2 Les glycodendrimères

Les dendrimères sont donc des structures arborescentes qui pourraient créer des interactions avec un substrat multivalent. En effet, les sucres sont souvent retrouvés dans des zones de contact comme par exemple à la surface des lectines. Plusieurs glycodendrimères ont déjà montré un intérêt pour le milieu pharmaceutique (Deniaud, Julienne et Gouin, 2011).

Par exemple, des dendrimères présentant des galactoses (Kadam *et al.*, 2011) ou des fucoses (Kolomiets *et al.*, 2009) ont montré une efficacité variable selon leurs paramètres (nombre de sucres présentés, structure des branches et des sucres) en temps qu'inhibiteurs de biofilms bactériens. Cette activité anti-biofilm sur *Pseudomonas aeruginosa* est liée aux interactions entre les glycosides présentés au bout des branches avec des lectines se trouvant à la surface de cette bactérie. Les résultats de l'étude sur les dendrimères de fucose indiquent que l'affinité avec la lectine (LecB) est au moins deux fois plus forte que celle du L-fucose de référence. Le dendrimère ayant obtenu les meilleurs résultats, quant à lui, a révélé une affinité quatre-cent quarante fois plus

importante que celle du L-fucose pour cette même lectine ($IC_{50} = 0,025 \mu\text{M}$ contre $11 \mu\text{M}$ pour le L-fucose).

De plus, des travaux mettent en avant certains composés glycosidiques comme le mannose, le rhamnose et le galactose, qui semblent être de bons candidats pour développer des traitements d'immunothérapie (Antonysamy *et al.*, 2013 ; Carlson *et al.*, 2007 ; Karmakar *et al.*, 2016 ; Qiu *et al.*, 2012). Ils sont reconnus par certains anticorps, engendrant ainsi une stimulation du système immunitaire. Or les anticorps sont également des substrats multivalents (Fasting *et al.*, 2012).

2.3 Objectifs

2.3.1 Synthèse d'un dendrimère de L-rhamnose

Dans le cadre de ce projet de maîtrise, il était intéressant de concevoir un dendrimère de L-rhamnose pour exploiter les caractéristiques de multivalence des substrats auxquels se lie ce sucre en milieu biologique. Le produit synthétisé devait donc pouvoir être facilement couplé à des agents cytotoxiques ou fluorescents ou à d'autres types de ligands afin de révéler des interactions entre le dendrimère et des cibles biologiques. Ainsi, il a été envisagé d'évaluer l'impact que peut avoir l'approche de multivalence sur l'activité des composés et la capacité de se lier avec une hypothétique lectine surexprimée à la surface de certaines cellules cancéreuses telles que les cellules de la prostate PC-3 (Wang *et al.*, 2011).

L'autre intérêt de ce produit se joue sur le terrain de l'immunothérapie. En effet, en servant des L-rhamnosés présentés par le dendrimère comme antigènes détectés par des anticorps, il est possible de concevoir une stratégie d'immunothérapie sur le modèle imaginé par Carlson en 2007 avec le galactose. La reconnaissance des cellules cancéreuses serait optimisée par un lien multivalent entre le dendrimère et les anticorps. Selon cette approche, il faudrait le coupler avec un produit capable de se lier sélectivement avec des cellules cancéreuses afin de stimuler l'activité immunitaire des anticorps dans le micro-environnement tumoral.

2.3.2 Synthèse de dérivés fonctionnalisés du rhamnoside d'acide bétulinique

L'aptitude du L-rhamnose à améliorer l'activité antitumorale de certains produits d'origine naturelle a été mise en avant au LASEVE. L'approche de recherche ayant permis l'obtention de ces résultats a été celle d'études de relations structure-activité visant à mesurer l'activité de différents glycosides hémi-synthétiques issus d'aglycones naturels.

Cette approche de pharmaco-modulation de la section glycosidique a ainsi permis de déterminer cette tendance générale pour le L-rhamnose. Il est donc intéressant d'affiner la recherche selon cette même approche, avec une étude visant à effectuer des modifications sur la structure du L-rhamnose afin d'en déterminer les caractéristiques importantes pour son activité ou encore, bonifier son activité comme cela a pu être montré avec des dérivés acétylés d'un rhamnoside d'émodine (Song *et al.*, 2010 ; Xing *et al.*, 2015).

L'étude structure-activité menée sur le L-rhamnose portera particulièrement autour des trois fonctions hydroxyles (-OH) que possède ce sucre. Ces trois positions seront fonctionnalisées indépendamment les unes des autres afin de déterminer lesquelles jouent un rôle important dans l'activité du composé.

Le choix du groupement qui sera ajouté sur chacune des positions s'est porté sur le méthyle afin d'obtenir les éthers méthyliques correspondants. Cette stratégie dispose de plusieurs avantages. D'abord, contrairement aux acétates utilisés lors de l'étude sur les dérivés de rhamnoside d'émodine, les liens éthers sont extrêmement solides et stables dans le temps. Ceci permet d'éviter la migration des groupements d'une position à une autre et assure une bonne stabilité des composés. Aussi, la sensibilité des groupements acétates aux acides et aux bases peut être un problème durant les réactions intermédiaires de protection et de déprotection des autres positions du L-rhamnose, ce qui n'est pas le cas des éthers méthyliques. Enfin, le groupement méthyle est plus petit que l'acétate, ce qui permet de moins dénaturer la structure initiale.

Le 3-O- α -L-rhamnopyranoside d'acide bétulinique synthétisé au LASEVE par Charles Gauthier (Gauthier *et al.*, 2006) semble être un composé actif adapté pour débiter cette étude. En

effet, lors des tests biologiques réalisés, il montre une amplification significative de l'activité (environ d'un facteur quatre) et l'apport d'un facteur dix de sélectivité alors que l'aglycone seul ne semble pas montrer de sélectivité pour les cellules tumorales comparativement aux tissus sains WS-1 (Gauthier *et al.*, 2006). De plus, la structure de l'acide bétulinique et la solidité du lien glycosidique de ce composé permettent de travailler sur le L-rhamnose déjà couplé à l'aglycone afin d'effectuer les modifications structurales souhaitées.

Une autre stratégie consisterait à effectuer les modifications structurales sur le L-rhamnose dans un premier temps, puis de mettre en place la fonction trichloroacétimide correspondante (activation) afin de glycosyler le composé préalablement méthylyé en position 3 de l'acide bétulinique. Le principal inconvénient selon cette approche est qu'il serait impossible de conserver une configuration majoritairement « α » sur la position anomérique du composé méthylyé en position 2 du L-rhamnose. En effet, durant la réaction de glycosylation de Schmidt, le groupement présent en position 2 d'un sucre (souvent un ester) participe à la réaction et permet d'obtenir un anomère majoritaire (l'anomère alpha dans le cas du L-rhamnose), or un éther ne permet pas cette contribution.

Il a donc été décidé de travailler directement sur le composé déjà glycosylé afin d'effectuer les différentes réactions de méthylation et d'obtenir les trois composés souhaités (figure 17).

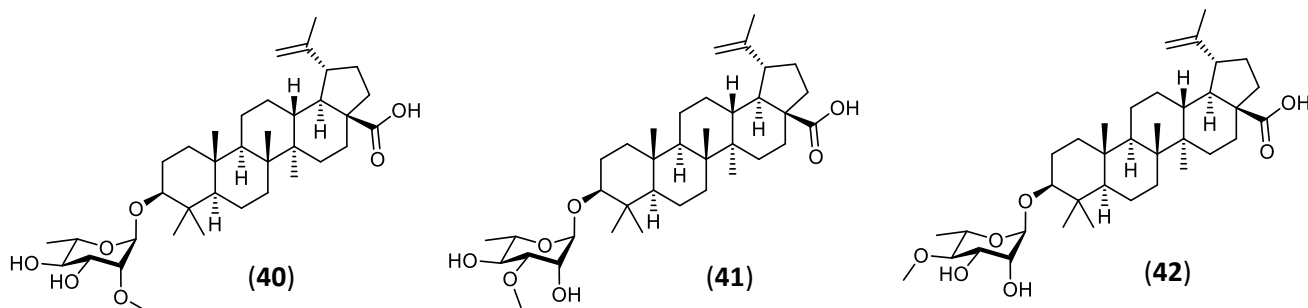


Figure 17: Structure des dérivés ciblés

3. SYNTHÈSE ET ÉTUDE BIOLOGIQUE D'UN DENDRIMÈRE DE L-RHAMNOSE

3.1 Structure générale d'un dendrimère de L-rhamnose de première génération (1G)

Le premier objectif du projet de maîtrise visait à concevoir un dendrimère de L-rhamnose tel que présenté à la figure **18**. Celui-ci pourrait notamment avoir une affinité pour les RBL présentes à la surface de certaines cellules cancéreuses. Le composé cible (**43**) s'articule autour d'un acide gallique qui constitue le corps du dendrimère. En effet, il dispose de trois fonctions phénols sur lesquels il est possible de greffer des espaceurs au bout desquels les unités L-rhamnose pourront être glycosylées afin d'obtenir une structure trivalente. De plus, l'acide gallique possède une fonction acide carboxylique à laquelle un espaceur peut être attaché par un lien ester ou amide.

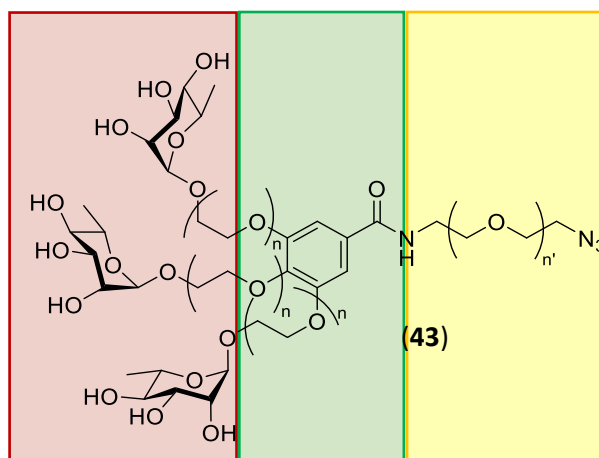


Figure 18: Structure générale d'un dendrimère de L-rhamnose trivalent (rouge), lié par des chaînes éthylène glycol à un corps gallique (vert) au pied duquel un espaceur de nature polyéthylène glycol est greffé (jaune).

Les divers espaceurs sous forme de chaînes éthylènes glycols de longueur « n » et « n' » (figure **18**), auront pour rôle de donner suffisamment de mobilité au dendrimère et à ses « branches » pour s'adapter à son substrat multivalent.

Dans un premier temps, ne connaissant pas encore les caractéristiques détaillées du lien entre le L-rhamnose et les cellules cancéreuses mais également pour des raisons économiques et pratiques, le composé sera développé avec des chaînes monoéthylène glycol pour faire le lien entre le corps gallique et les L-rhamnoses ($n = 1$). Pour ce faire, une triple étherification de Williamson, déjà décrite dans la littérature, a été effectuée sur le gallate de méthyle (**44**) (figure 19) (Li *et al.*, 2006).

Ensuite, les L-rhamnoses ont été glycosylés sur des alcools primaires disponibles au bout des « branches ». Pour cela, une triple réaction de Schmidt a été réalisée avec le trichloroacétimide de α -L-rhamnose perbenzoylé (**48**) afin de conserver la configuration « α » de l'anomère (figure 20) (Schmidt, 1986).

Enfin, l'espaceur au pied du gallate est constitué d'un triéthylène glycol et est attaché par un lien amide pouvant être créé entre un acide et une amine à l'aide d'un carbodiimide, en conditions de couplage peptidique (Al-Warhi, Al-Hazimi et El-Faham, 2012). Cet espaceur présente une fonction azoture en bout de chaîne ($-N_3$) permettant d'être attaché par des réactions de « Click » (Rostovtsev, 2002), ou bien en étant réduit en amine afin d'être couplée par condensation sur un agent cytotoxique, une structure fluorescente ou encore un agent adapté permettant de mettre en place une stratégie d'immunothérapie.

3.2 Synthèse du dendrimère de L-rhamnose

3.2.1 Résultats

a. Ajout des « branches » par la réaction de Williamson

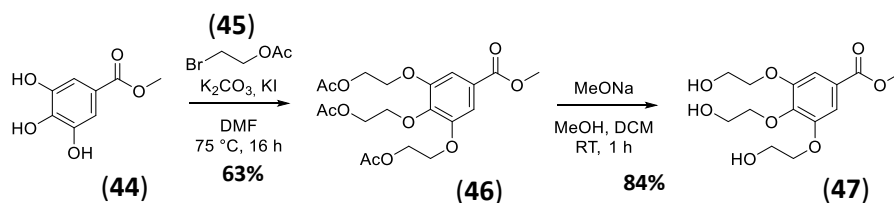


Figure 19: Synthèse de la plateforme dendritique (**47**) à partir du gallate de méthyle (**44**).

Le produit utilisé pour réagir avec le gallate de méthyle (**44**) et le bromoacétate d'éthyle (**45**) (Li *et al.*, 2006). Il permet la substitution nucléophile des phénols sur la position bromée afin d'obtenir le conjugué (**46**). Les groupements acétates ont ensuite été transestérifiés à l'aide d'une solution de méthanolate de sodium afin d'obtenir le triol correspondant (**47**) (figure 19).

b. Glycosylation des unités α -L-rhamnose

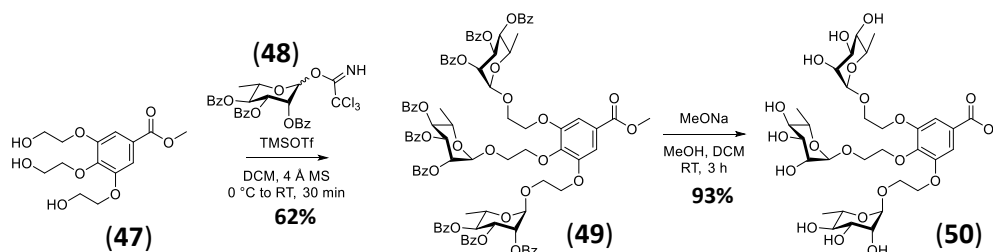


Figure 20: Synthèse du dendrimère de L-rhamnose intermédiaire (**50**) à partir du support (**47**).

Le trichloroacétimidate de L-rhamnose (**48**) a tout d'abord été préparé d'après la procédure classique utilisée au LASEVE, c'est à dire que les hydroxyles ont été benzoylés, ensuite l'hydroxyle anomérique a été bromé puis hydrolysé avec de l'eau afin d'y greffer le groupement trichloroacétimidate dans une réaction catalysée par un sel de césium (Gauthier *et al.*, 2006). Les fonctions alcools du composé (**47**) ont ensuite été engagées dans une réaction de glycosylation de Schmidt (Schmidt, 1986) avec le trichloroacétimidate (**48**) catalysée par un acide de Lewis (TMSOTf) afin d'obtenir le dendrimère de L-rhamnose (**49**). La stéréospécificité de la réaction (anomère en configuration α) est garantie par la participation du groupe benzoate en position 2 du sucre. Les fonctions alcools des L-rhamnoses ont ensuite pu être déprotégées par une réaction de transestérification impliquant du méthanolate de sodium afin d'obtenir le dendrimère (**50**) (figure 20).

c. Ajout de l'espaceur au « pied » du dendrimère

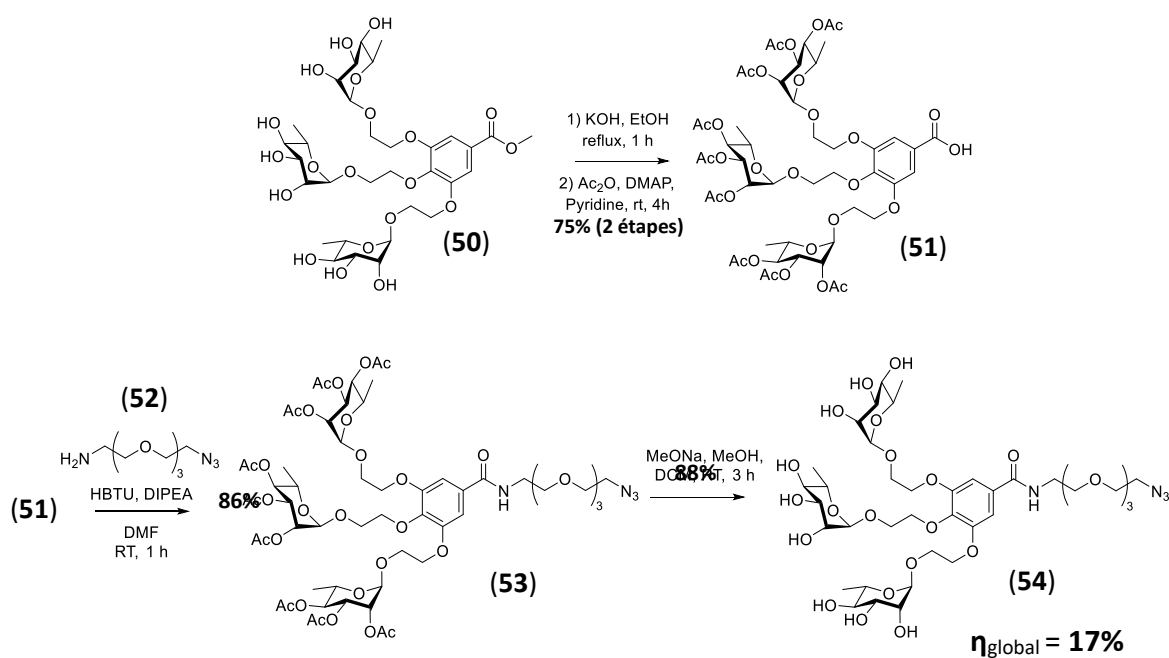


Figure 21: Ajout d'un espaceur au pied du dendrimère afin d'obtenir l'azide (54).

L'ester méthylique a d'abord été saponifié en conditions basiques afin de libérer l'acide carboxylique correspondant, puis le composé obtenu a été acétylé afin de protéger les fonctions alcools des parties glycosidiques et obtenir le composé (51). L'espaceur, initialement sous la forme d'une amine (52), a ensuite été condensé sur la fonction acide du dendrimère (51) dans des conditions de couplage peptidique (figure 21). Les acétates de l'azoture obtenu (53) ont ensuite été transestérifiés dans une solution de méthanolate de sodium pour produire le dendrimère (54) prêt à être couplé par une cycloaddition azoture-alcyne catalysée par le cuivre(I) afin de former un triazole disubstitué (Himo *et al.*, 2005 ; Rostovtsev, 2002). Ce type de réaction est aussi appelé réaction de « Click ». L'azoture obtenu peut également être condensé après avoir été réduit en amine (figure 22).

3.2.2 Essai préliminaire de couplage du dendron avec une sonde fluorescente

a. Couplage du dendrimère avec une sonde fluorescente

La sulforhodamine B est un bon fluorophore pour le développement d'une sonde fluorescente car celle-ci possède un caractère hydrophile. Cette propriété permet en théorie, lors des tests biologiques, d'éviter la pénétration passive de la membrane lipidique des cellules testées. En effet, ce zwitterion semble donc bien adapté pour observer des interactions entre le dendrimère et la membrane des cellules (Kang, 1998).

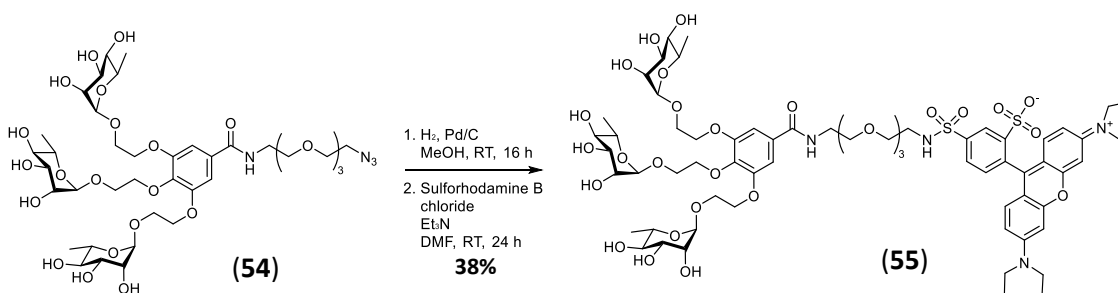


Figure 22: Synthèse d'une sonde fluorescente afin d'effectuer des études par imagerie.

La fonction azoture du dendrimère de L-rhamnose (**54**) est réduite en amine avec une réaction d'hydrogénation catalysée par du palladium supporté par du charbon. Ensuite, l'amine obtenu peut être engagée dans une réaction de substitution nucléophile sur le chlorure de sulforhodamine B afin d'obtenir la sonde fluorescente (**55**) (figure 22).

b. Premières images

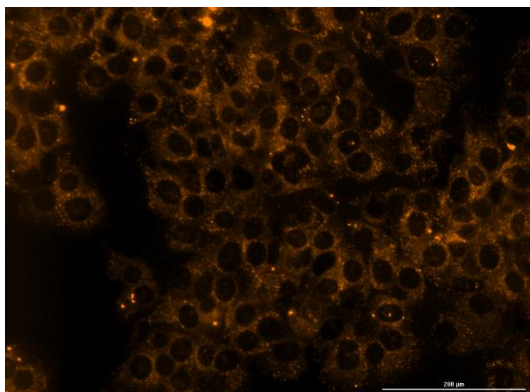


Figure 23: Images observées après incubation de la sonde fluorescente (55) avec les cellules PC-3 ($\lambda_{\text{absorption}} = 568 \text{ nm}$, traitement : PBS, lavage : H_2O)

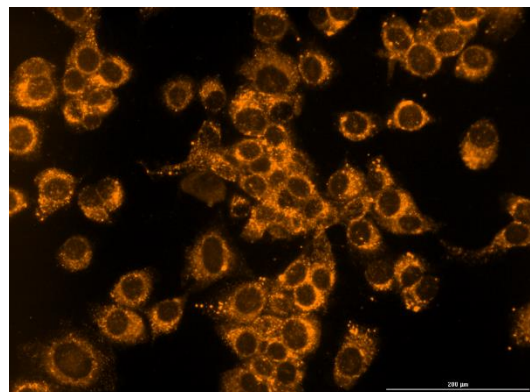


Figure 24: Images observées après incubation de la sulforhodamine B seule avec les cellules PC-3 ($\lambda_{\text{absorption}} = 568 \text{ nm}$, traitement : PBS, lavage : H_2O)

Les images ont été prises par Mouad Mihoub à l'UQAC, sous la direction de Jean Legault. La sulforhodamine B utilisée dans l'essai est caractérisée par une longueur d'onde d'excitation de 559 nm et émet à une longueur d'onde de 577 nm. Les premières images obtenues ne permettent pas, pour le moment, de mettre en évidence une interaction entre le dendrimère de L-rhamnose et la membrane des cellules PC-3 (figures 23 et 24). En effet, il semble que les colorations observées sur les cellules avec la sonde fluorescente (55) et la sulforhodamine B, sont sensiblement identiques. Il est probable qu'il s'agisse d'un phénomène de « bruit de fond » généré par une très faible quantité de fluorophore résiduel puisque ces images sont observées en maximisant les paramètres de contraste.

3.2.3 Discussion

Concernant l'hypothèse de la « rhamnose-binding lectin » (Wang *et al.*, 2011), de plus amples investigations sont donc nécessaires autour du dendrimère avant de pouvoir détecter la présence ou non de ce récepteur spécifique qui expliquerait l'activité si particulière des composés rhamnosylés. Pour se faire, une bonne approche consisterait à commencer par un réglage précis des paramètres du dendrimère en effectuant des tests sur des cellules dont la présence de cette lectine à leur surface a été démontrée, par exemple avec des cellules d'œufs de *Echinometra lucunter* (Carneiro *et al.*, 2015), jusqu'à observer l'interaction souhaitée puis la valider de manière empirique. Ensuite, il sera possible de reconnaître avec certitude « l'empreinte fluorescente » de

l'interaction entre les rhamnoses de la sonde fluorescente et un récepteur cellulaire. C'est après avoir accompli ce travail préliminaire qu'il sera possible de valider ou non la présence de cette interaction sur des lignées cellulaires cancéreuses.

Un modèle concernant la mise en place de tests pour l'approche cytotoxique pourrait être de le coupler sur la position 3 d'un triterpène, position sur laquelle une simple unité rhamnose permet souvent d'améliorer l'activité globale du composé. Cela pourrait être essayé sur des ursanes comme l'uvaol qui a montré que la présence de certains sucres comme le rhamnose, lui octroie une toxicité initialement absente sur l'aglycone seul. Les lupanes comme l'acide bétulinique, dont la sélectivité et l'activité sont également amplifiés par la présence du rhamnose sur la position 3, semblent également être de bons candidats.

D'autre part, nos résultats montrent que le rendement global de synthèse (huit étapes) du dendrimère de 17% est acceptable. Le schéma de synthèse utilisé pourrait être adapté à d'autres sucres et/ou paramètres dépendamment du besoin. Par exemple, il serait possible de synthétiser une base de dendrimère dont les branches sont des chaînes alkyl (Li *et al.*, 2006) ou encore des polyéthylène glycols (Chen *et al.*, 2005). Aussi, il serait envisageable de faire varier la longueur de l'espaceur au pied du dendrimère de la même manière, voire de ne pas utiliser d'espaceur si le substrat à greffer le permet.

4. PHARMACO-MODULATION DES FONCTIONS

HYDROXYLES DU L-RHAMNOSE

4.1 Structure générale des dérivés cibles

À travers ce travail visant à étudier l'impact des différents hydroxyles du L-rhamnose, trois nouveaux dérivés méthylés du rhamnoside d'acide bétulinique ont été synthétisés (figure 25). Aussi, pour disposer d'une référence d'activité lors des tests biologiques, nous avons synthétisé un quatrième composé, le rhamnoside d'acide bétulinique (22) dont la synthèse a été rapportée par l'équipe du laboratoire LASEVE en 2006 (Gauthier *et al.*, 2006). Ce point de comparaison permettra de déterminer l'impact de la méthylation pour chaque position hydroxyle du sucre.

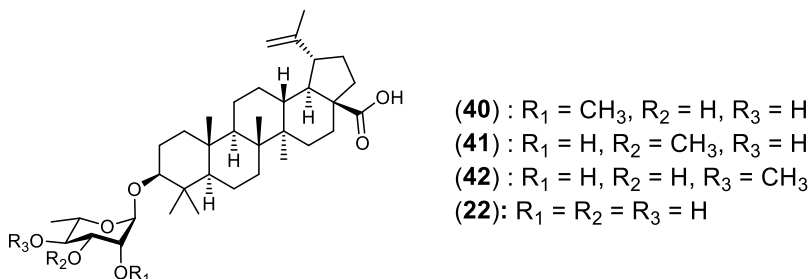


Figure 25: Structure générale des dérivés ciblés

4.2 Synthèse des dérivés méthylés du 3-O- α -L-rhamnopyranoside d'acide bétulinique

Les quatre composés ont tous été obtenus à partir d'un intermédiaire commun, le rhamnoside de benzylbétulinate (21) (figure 26). En effet, l'ester benzylique permet de protéger l'acide carboxylique initial qui est un site réactif qui peut générer des réactions parasites lors des différentes étapes de synthèse.

4.2.1 Synthèse du 3-O- α -L-rhamnopyranoside d'acide bétulinique (**22**) à partir de l'acide bétulinique (**20**)

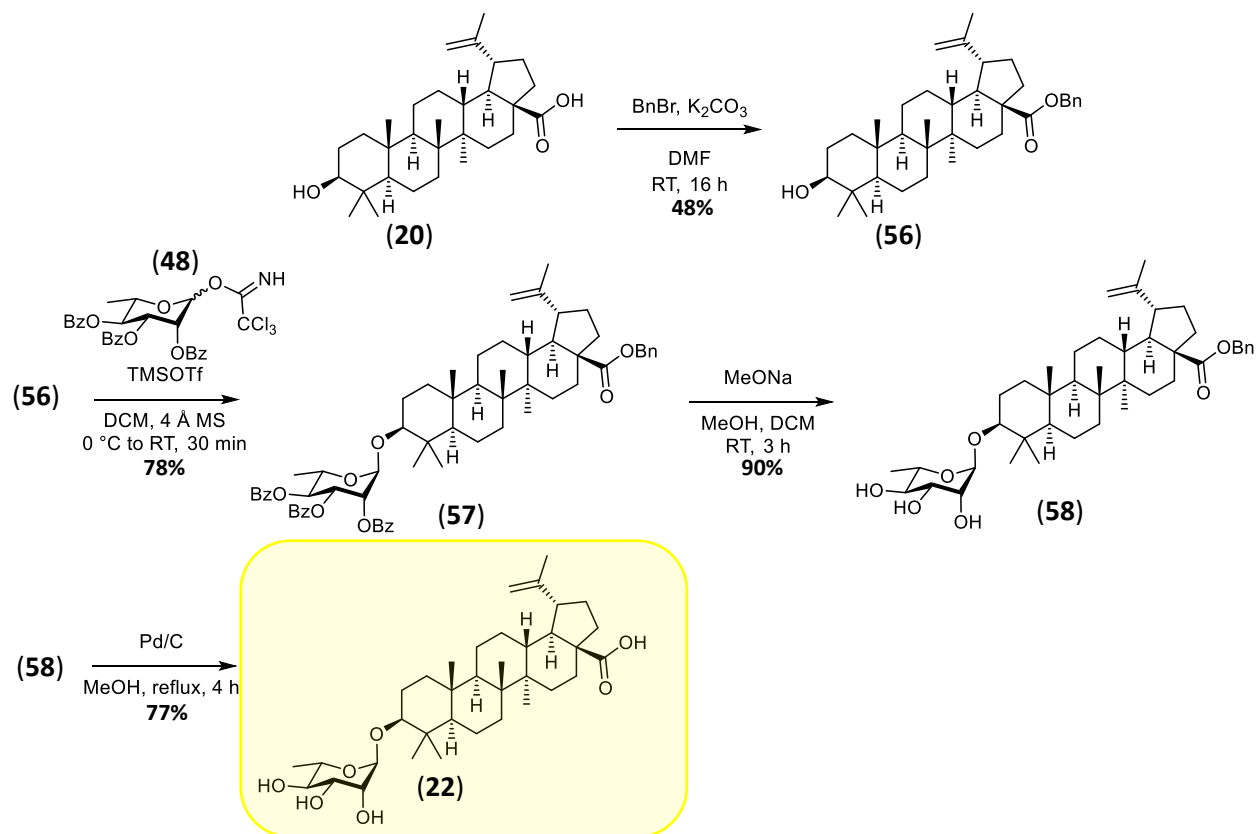
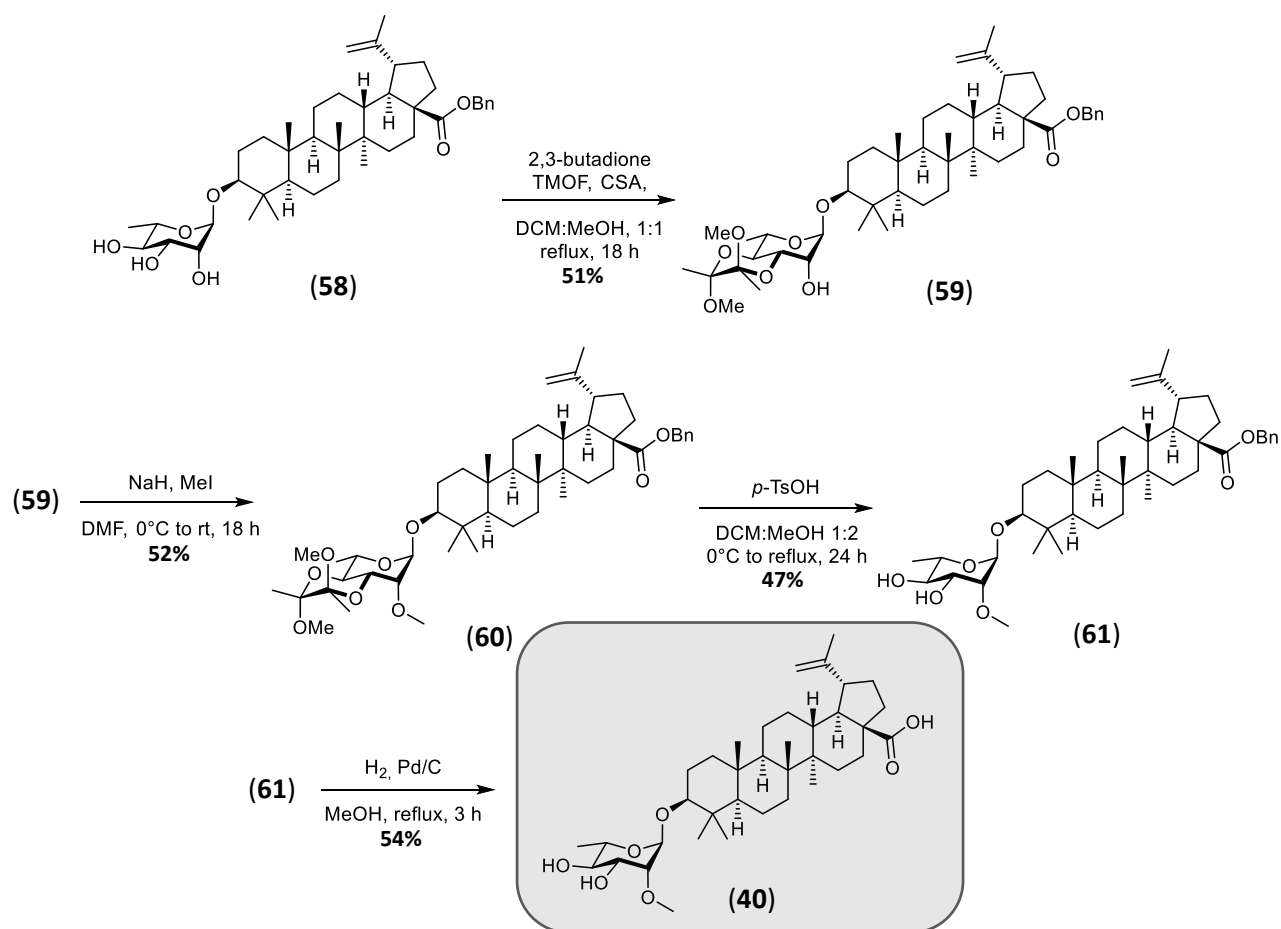


Figure 26: Synthèse du rhamnoside de bétulinate de benzyle intermédiaire (**58**) et du rhamnoside d'acide bétulinique (**22**) à partir de l'acide bétulinique commercial (**20**).

La fonction acide carboxylique du composé (**20**) a d'abord été protégée en la transformant en ester benzylique via une substitution nucléophile sur du bromure de benzyle en milieu basique afin d'obtenir (**56**) tel que décrit dans la littérature (Sun *et al.*, 2012). Ensuite, le trichloroacétimidate du L-rhamnose (**48**) a été glycosylé sur la fonction alcool du triterpène par une réaction de Schmidt (Schmidt, 1986). Enfin, les alcools protégés du composé obtenu (**57**) ont été libérés par une réaction de transestérification avec du méthanolate de sodium afin d'obtenir le précurseur (**58**). Le composé (**22**) a ensuite été obtenu par hydrogénolyse de la fonction benzylique (figure 26).

4.2.2 Synthèse du dérivé méthylé en position 2 du L-rhamnose (**40**)Figure 27: Synthèse du dérivé méthylé (**40**) à partir du rhamnoside (**58**).

Le rhamnoside de benzylbétulinate (**58**) a d'abord été engagé dans une réaction de protection des positions 3 et 4 du L-rhamnose. Pour ce faire, les alcools vicinaux se situant tous les deux sur le plan équatorial, la protection la plus adaptée a été celle d'un diacétal généré avec l'orthoformiate de triméthyle (TMOF) afin d'obtenir le dérivé protégé (**59**). L'hydroxyle en position 2 du L-rhamnose a ensuite été méthylé par une réaction de substitution nucléophile avec l'iodométhane (MeI) afin d'obtenir le composé (**60**) (Hattori *et al.*, 2018). Pour la déprotection du diacétal, les conditions classiques avec l'acide trifluoroacétique provoquent la dégradation du lien glycosidique. Cette réaction a donc été effectuée avec de l'acide *p*-toluènesulfonique. Enfin, l'acide

carboxylique du diol (**61**) a pu être déprotégé par une réaction d'hydrogénolyse catalysée par du palladium sur charbon (Pd/C) afin d'obtenir le composé méthylé et déprotégé (**40**) (figure **27**).

Les faibles rendements obtenus lors de cette synthèse peuvent provenir de la faible disponibilité de la position 2 lors de la méthylation à cause de l'encombrement généré par l'aglycone ainsi qu'à la forte dégradation du lien glycosidique lors des réactions impliquant le diacétal protecteur.

4.2.3 Synthèse du dérivé méthylé en position 3 du L-rhamnose (**41**)

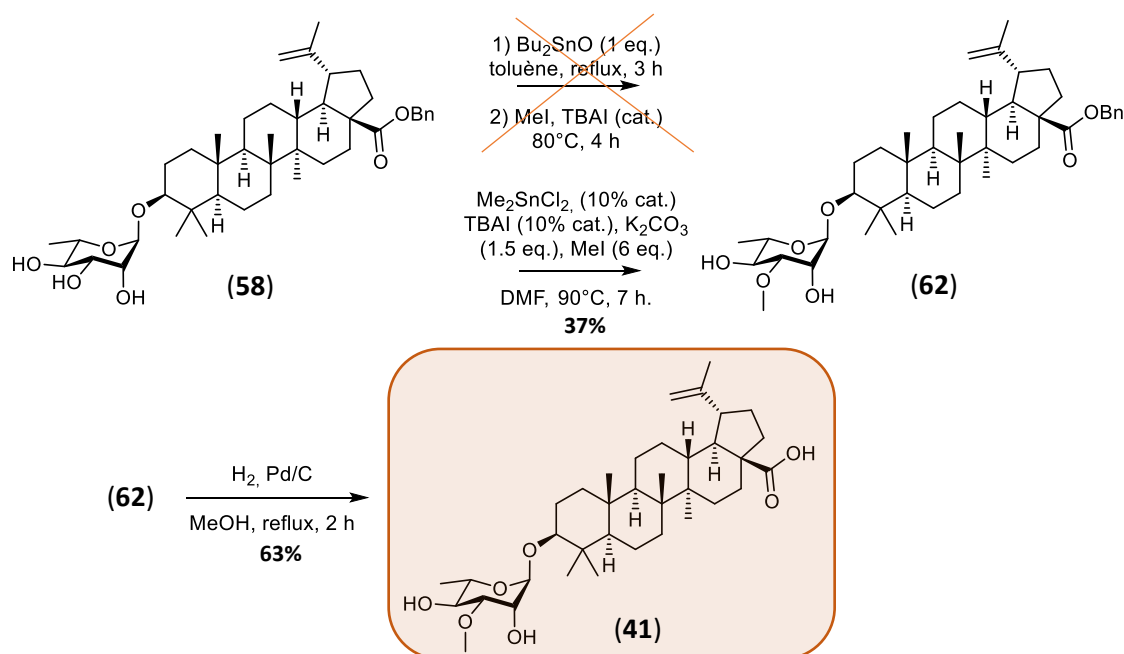


Figure 28: Synthèse du dérivé méthylé (**41**) à partir du rhamnoside (**58**).

Pour cette synthèse, les conditions classiques de méthylation de la position 3 consistent à utiliser un groupement à base d'étain se liant aux positions 2 et 3 du L-rhamnose. Ce groupement a la propriété de créer un équilibre avec la forme alcoolate en position 3 permettant ainsi d'engager le produit dans une réaction de substitution nucléophile avec l'iodométhane afin d'obtenir le dérivé méthylé correspondant (figure **28**).

Cette synthèse implique plusieurs inconvénients. Tout d'abord, elle fait usage d'un réactif à l'étain en quantités stœchiométriques, toxique et polluant lors de sa destruction. De plus, la réaction

s'effectue en deux étapes avec de grandes quantités d'iodométhane (50 à 100 équivalents par rapport à la quantité de produit à méthyler) nécessaires pour obtenir de bons rendements (Zheng *et al.*, 2017).

Aussi, les essais avec cette méthode ayant été infructueux, une nouvelle approche de méthylation de cette position est proposée (figure 29), inspirée d'un procédé d'allylation de cette même position, en une seule étape, impliquant un catalyseur à base d'étain (Saikam *et al.*, 2015) et une quantité moindre d'iodométhane (Xu *et al.*, 2016). L'optimisation de cette approche n'a pas été effectuée puisque les quantités obtenues lors du premier essai furent suffisantes pour la poursuite du projet.

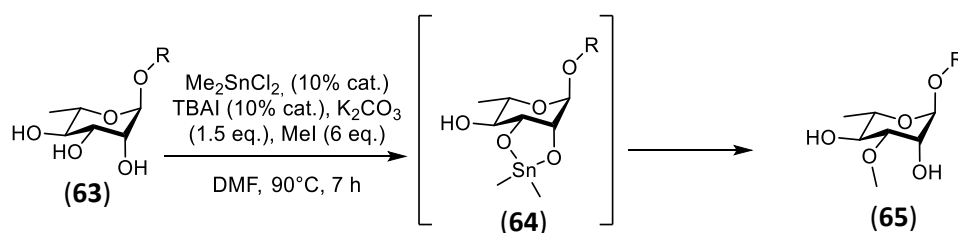
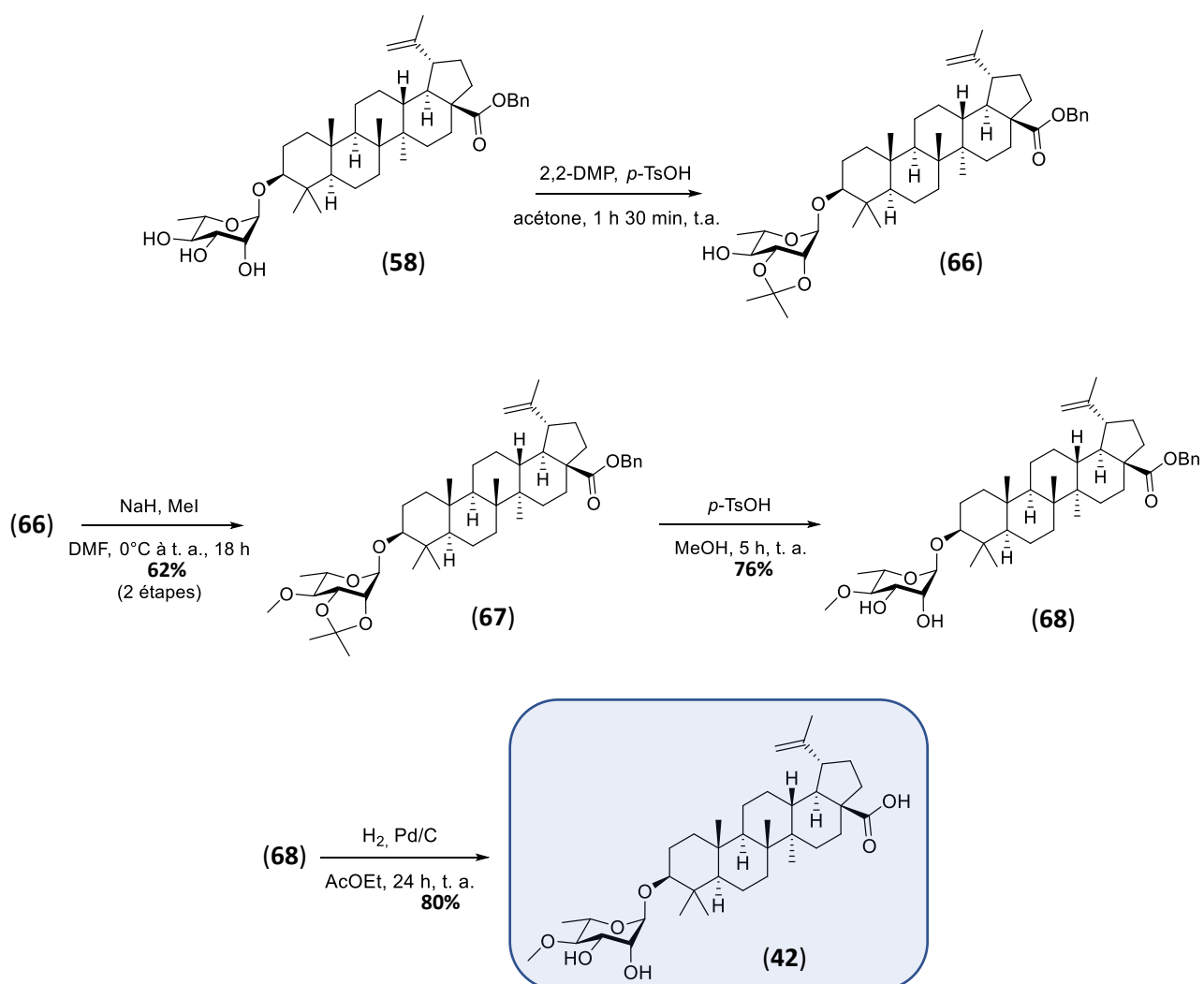


Figure 29: Schéma de réaction impliquant l'intermédiaire stannylène acétal (64).

4.2.4 Synthèse du dérivé méthylé en position 4 du L-rhamnose (**42**)Figure 30: Synthèse du dérivé méthylé (**42**) à partir du rhamnoside (**58**).

Afin de méthyler l'hydroxyle de la position 4, il est nécessaire de bloquer les positions 2 et 3 en y ajoutant un groupement acétal. Les deux alcools vicinaux concernés se trouvant en configuration « cis », un acétal adapté est l'isopropylidène. Il a été mis en place à partir du 2,2-diméthoxypropane (2,2-DMP) en milieu acide, ce qui produit l'acétal (**66**) correspondant, tel que décrit dans la littérature (Sylla *et al.*, 2019). La fonction hydroxyle de ce dernier a ensuite été méthyliée par une réaction de substitution nucléophile impliquant l'iodométhane pour obtenir l'acétal méthylé (**67**). Les alcools de celui-ci ont ensuite été déprotégés en milieu acide afin d'obtenir

le diol (**68**) dont l'ester benzylique a pu être déprotégé par une réaction d'hydrogénolyse catalysée par le palladium sur charbon (Pd/C). Ainsi, le dérivé méthylé (**42**) a été obtenu avec de bons rendements, soit 38% en quatre étapes (figure **30**).

4.3 Évaluation de l'activité cytotoxique des dérivés

Le test par la coloration de Hoechst est effectué après 24 h d'incubation des cellules avec les composés à diverses concentrations (Rago, Mitchen et Wilding, 1990).

Afin de réaliser les tests d'activité cytotoxique, une plaque 96 puits (Costar®, Corning Inc.) a étéensemencée avec les cellules (5×10^3 par puits) et traité avec une concentration croissante du composé dans le DMSO. Le colorant de Hoechst est introduit à la fin de l'incubation puis la fluorescence est mesurée avec un automate Fluoroskan Ascent FLTM plate reader utilisant la longueur d'onde d'excitation et d'émission de 350/461 nm.

Tableau 2: Résumé des IC_{50} mesurées lors des tests de cytotoxicité. Les valeurs sont obtenues en calculant la moyenne des IC_{50} obtenus lors du même test selon un modèle de triplicat, révélés après 24 h d'incubation par la coloration de Hoechst. (Détails Annexes XIII p. 145-146). A-549 = lignée d'adénocarcinome pulmonaire. DLD-1 = lignée d'adénocarcinome colorectal. WS-1 = lignée saine de cellules de peau

Composés	IC_{50} (μM)		
	A-549	DLD-1	WS-1
42 (4-meth)	2,5 \pm 0,2	4,3 \pm 0,5	21 \pm 1
41 (3-meth)	10 \pm 1	10 \pm 2	41 \pm 5
40 (2-meth)	4,2 \pm 0,4	5,4 \pm 0,6	22 \pm 2
22	3,3 \pm 0,3	2,5 \pm 0,2	9 \pm 1
Etoposide	4,1 \pm 0,5	1,3 \pm 0,1	5 \pm 1

Les courbes dose-effets ci-dessous ont été générées à l'aide de Microsoft Excel à partir des données obtenues lors des tests réalisés selon la procédure ci-dessus (voir Annexe XIII).

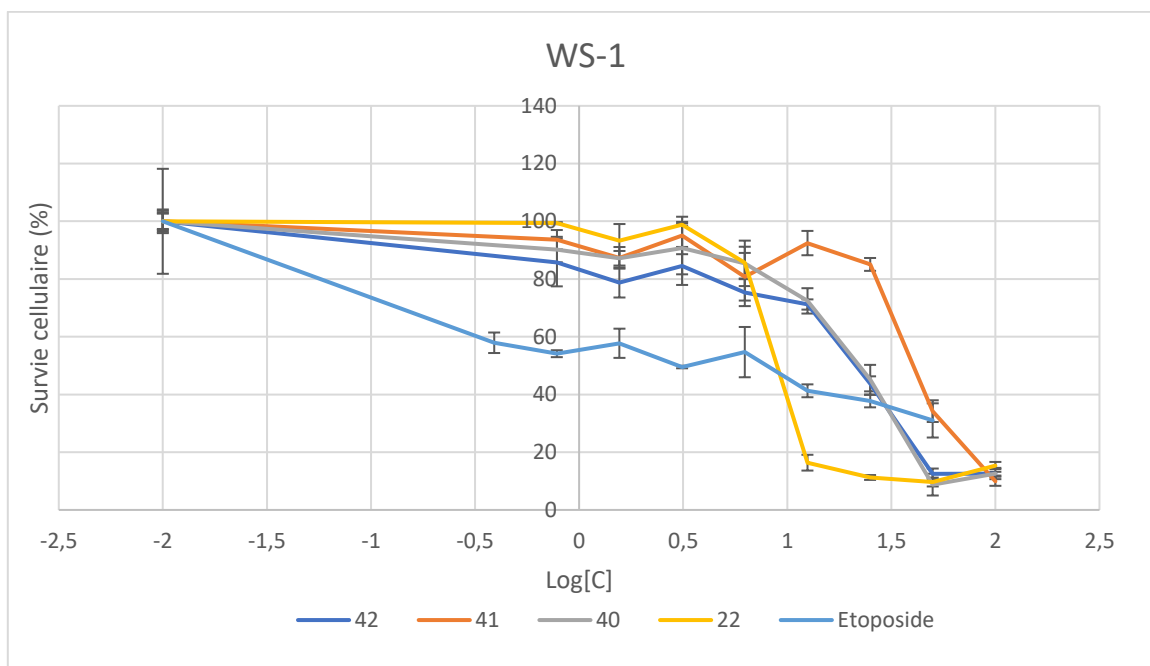


Figure 31: Courbes dose-réponse décrivant le profil de toxicité des composés testés sur des fibroblastes sains WS-1.

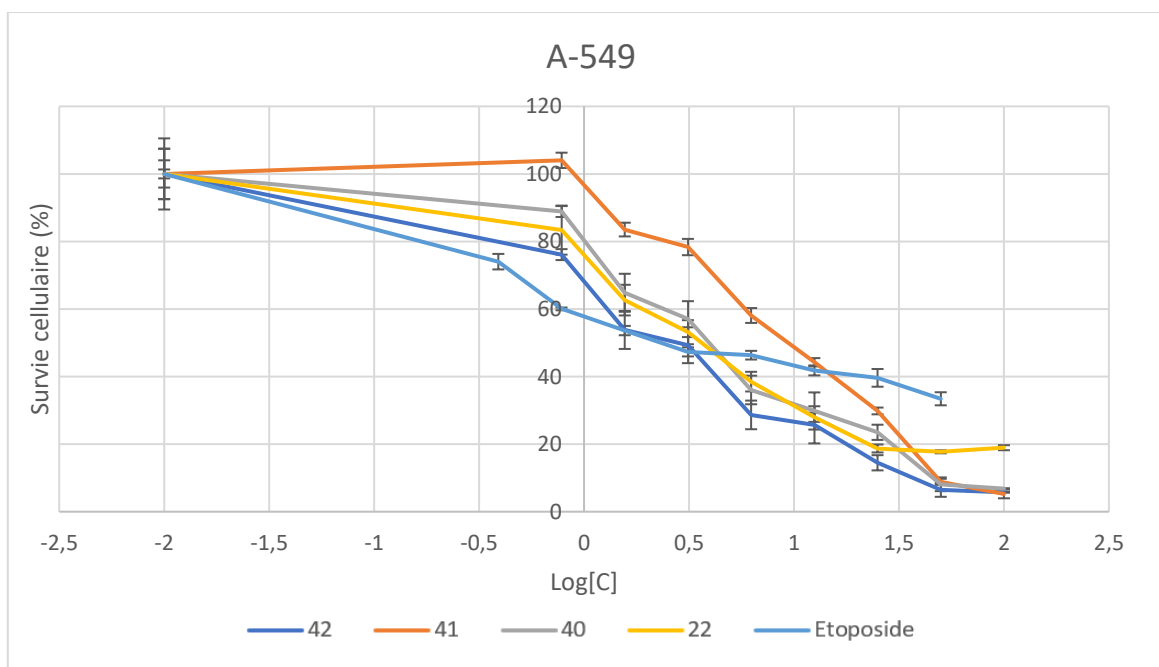


Figure 32: Courbes dose-effet décrivant le profil de toxicité des composés testés sur des cellules cancéreuses A-549.

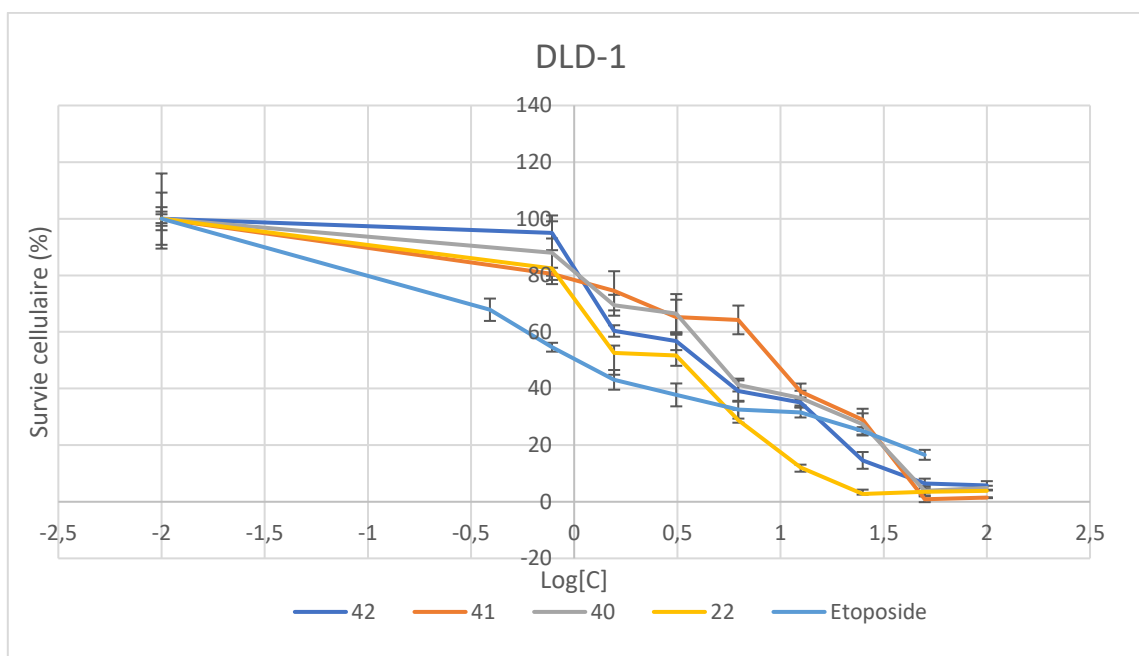


Figure 33: Courbes dose-effet décrivant le profil de toxicité des composés testés sur des cellules cancéreuses DLD-1.

Le premier fait saillant concernant ces résultats est la sélectivité obtenue. En effet, elle est globalement meilleure avec les dérivés méthylés (**40**), (**41**) et (**42**) qu'avec l'étoposide ou le rhamnoside parent (**22**), notamment sur la lignée A-549. D'après ces résultats préliminaires, les dérivés méthylés sur les positions 2 et 3 du L-rhamnose présentent une toxicité environ quatre fois plus importante sur les cellules cancéreuses A-549 et DLD-1 comparativement aux cellules saines WS-1 (tableau 2).

Le composé (**42**) méthylé sur la position 4 du sucre se présente comme le candidat le plus prometteur de l'étude, en particulier envers les cellules cancéreuses A-549. En effet, il montre la valeur d'IC₅₀ la plus faible sur les cellules A-549 (2,5 µM, tableau 2). Le composé (**42**) possède également une activité cytotoxique intéressante sur les cellules cancéreuses colorectales DLD-1 (IC₅₀ = 4,3 µM) ainsi qu'une toxicité relativement faible sur les cellules saines testées (IC₅₀ = 21 µM) en comparaison aux deux témoins positifs (IC₅₀ = 9 µM et 5 µM respectivement pour le rhamnoside

d'acide bétulinique (**22**) et l'étoposide). Cela lui confère, à première vue, le meilleur potentiel d'activité de l'étude. La plage de concentration présentant la meilleure sélectivité pour ce composé se trouve entre 6,25 μM et 12,5 μM ($0,8 \leq \log [C] \leq 1,1$) avec un taux de survie supérieur à 75% pour les cellules saines (figure **31**) alors qu'il est inférieur à 40% pour les cellules DLD-1 (figure **33**) et inférieur à 30% pour les cellules A-549 (figure **32**). La cytotoxicité sur les cellules saines augmente considérablement au-delà de cette plage et dépasse les 50% de mortalité à 25 μM ($\log [C] \approx 1,4$)

D'autre part, un composé particulièrement intéressant sur le plan du profil de toxicité est le dérivé (**41**) méthylé sur la position 3 du L-rhamnose. Il est globalement moins actif que tous les autres composés testés, cependant il présente une propriété intéressante puisqu'il est peu toxique envers les cellules saines ($\text{IC}_{50} = 41 \mu\text{M}$, tableau **2**), jusqu'à des concentrations pouvant atteindre 25 μM ($\log [C] \approx 1,4$, survie supérieure à 80%, figure **31**). À de telles concentrations, il possède déjà une activité cytotoxique envers les cellules cancéreuses A-549 et DLD-1 avec une survie inférieure à 40% (figure **32** et **33**). Ce composé possède donc une bonne sélectivité sur des plages de concentrations élevées, pouvant aller jusqu'à plus de 25 μM , contrairement au rhamnoside parent qui possède sa plage de sélectivité en dessous de 6,25 μM ($\log [C] \leq 0,8$, figure **31**).

Le dérivé (**40**) méthylé sur la position 2 du L-rhamnose, quant à lui, montre un profil de toxicité similaire à celui du composé (**42**), indiquant une bonne activité, néanmoins légèrement inférieure au composé méthylé en position 4 du rhamnose. Quant à la sélectivité du composé, elle semble comparable à celle du glycoside initial (**22**) mais s'étend sur une plus large plage de concentration, comparable à celle de son homologue (**42**) (figure **31**). Elle est comprise entre 6,25 μM et 12,5 μM avec une survie autour de 40% sur les cellules DLD-1 (figure **33**), inférieure à 40% sur les cellules A-549 (figure **32**) et supérieure à 75% sur les cellules saines (figure **31**).

4.4 Relation structure-activité

L'ajout d'un groupement méthylique sur une fonction hydroxyle du 3-O- α -L-rhamnoside d'acide bétulinique (**22**) permet, d'une manière générale, de diminuer sa toxicité envers les cellules saines WS-1, quelle que soit la position fonctionnalisée. Lorsque ce groupement est ajouté sur l'hydroxyle de la position 2 ou 4 du L-rhamnose, l'activité sur les cellules cancéreuses est sensiblement similaire à celle du composé parent (**22**). Ceci indique que ces deux positions semblent

impacter davantage la sélectivité que l'activité sur les cellules cancéreuses *in vitro*. Ce phénomène d'amplification de la sélectivité est particulièrement marqué pour le composé **(42)** méthylé sur la position 4 du L-rhamnose car il possède une meilleure toxicité sur les cellules cancéreuses comparativement à son homologue méthylé sur la position 2. Quant à la cytotoxicité sur les cellules saines, ces deux derniers possèdent sensiblement la même activité avec des IC_{50} de 21 μ M pour le composé **(40)** et 22 μ M pour le composé **(42)**.

Concernant l'hydroxyle en position 3 du L-rhamnose, celui-ci paraît avoir un impact plus important sur l'activité globale du composé **(41)**. En effet, la méthylation sur cette position engendre une diminution globale de l'activité du composé, autant sur les lignées cancéreuses que sur les cellules saines. Ce résultat a permis de conserver un facteur de sélectivité proche de celui du rhamnoside initial **(22)** mais ce phénomène est observé sur une plage de concentration plus élevée. En effet, le composé **(22)** présente une bonne sélectivité jusqu'à 3 μ M tandis que le composé **(41)** est peu toxique sur les cellules saines, donc sélectif jusqu'à 12,5 μ M.

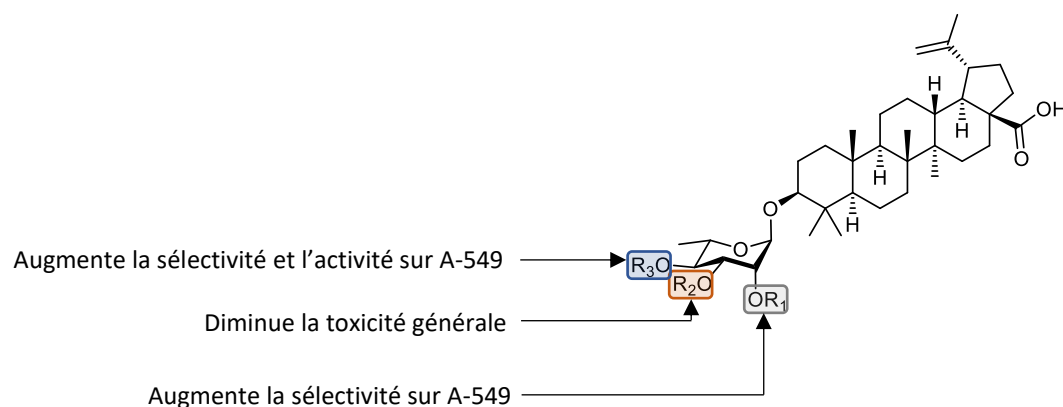


Figure 34: Bilan de l'impact des position méthylées sur l'activité du composé.

Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude concordent avec ceux obtenus concernant les dérivés partiellement acétylés du rhamnoside d'émodyne (Xing *et al.*, 2015). En effet, dans les deux études, le composé fonctionnalisé en position 4 du L-rhamnose montre la meilleure activité sur les cellules pulmonaires A-549 (tableau 2). Il pourrait donc être intéressant d'approfondir davantage cet axe pour confirmer ce résultat et aussi pour mieux comprendre les

mécanismes moléculaires impliqués dans la cytotoxicité et la sélectivité de ces composés. À terme, nos travaux pourraient permettre de développer de nouveaux traitements ciblés contre les adénocarcinomes pulmonaires.

Afin de confirmer la bonification de la cytotoxicité par la fonctionnalisation de la position 4 du L-rhamnose, il serait intéressant d'étudier l'activité de cette section sucre méthylée sur une plus grande variété d'aglycones. Par exemple, un aglycone particulièrement adapté pourrait être la podophyllotoxine puisque son dérivé glycosidique, l'étoposide, est déjà utilisé en clinique pour le traitement des tumeurs pulmonaires. Ces composés pourraient être de bons témoins positifs à des fins de comparaison. En effet, si les résultats d'un dérivé rhamnosylé fonctionnalisé sur la position 4, sont meilleurs que ceux obtenus avec l'étoposide sur le plan de l'activité et de la sélectivité, alors celui-ci pourrait devenir une nouvelle référence dans le traitement du cancer du poumon.

5. CONCLUSION GÉNÉRALE

5.1 Synthèse du dendrimère de L-rhamnose

Une voie de synthèse efficace a donc été développée pour donner accès à un dendrimère qui présente trois sucres et qui peut être greffé facilement sur divers types de support. Les interactions multivalentes étant des phénomènes souvent pertinents en glycochimie, cette approche pourrait s'adapter à d'autres sucres en fonction de l'objectif souhaité.

Malheureusement, aucun résultat à ce jour n'a permis de mettre en évidence la présence d'un récepteur spécifique au rhamnose à la surface des cellules cancéreuses. Il sera d'abord nécessaire d'utiliser des cellules qui sont connues pour posséder des récepteurs au rhamnose à la surface de leur membrane afin de démontrer l'efficacité du dendrimère pour reconnaître ceux-ci. En effet, il a été démontré que les œufs de concombre de mer et plusieurs autres espèces aquatiques disposent d'une lectine spécifique au rhamnose à la surface de certaines de leurs cellules (Carneiro *et al.*, 2015). Dans une étude future, il serait judicieux de développer un modèle cellulaire à partir d'organismes aquatiques pour réaliser cette étude préalable (Cyr et Dubé, 2017). Ce modèle permettra aussi d'optimiser l'affinité du dendrimère pour le récepteur au rhamnose.

Le principal apport de ce projet réside pour le moment à travers la synthèse d'une plateforme de multivalence dont les paramètres (longueur des « branches ») et les points de contacts (ici, les L-rhamnosés) sont adaptables au besoin, en fonction des applications souhaitées. Une étude concernant l'intérêt immunothérapeutique du dendrimère pourrait également être menée dans le futur. Dans un premier temps, le dendrimère pourrait être conjugué avec des céramides capables de se lier aux cellules cancéreuses EL4. La stimulation de la réaction immunitaire pourrait être une preuve de concept concernant l'usage de ce type de plateforme multivalente en immunothérapie.

5.2 Modulation autour des positions hydroxyles du 3-O- α -L-rhamnoside d'acide bétulinique

Dans le cadre de ce projet, nous avons synthétisé plusieurs dérivés méthylés sur les différentes positions « hydroxyles » d'un rhamnoside cytotoxique. Ceux-ci ont révélé des activités intéressantes et parfois meilleures que celle du rhamnoside de départ (**22**). En effet, une meilleure sélectivité a été constatée sur les cellules A-549 pour les trois dérivés testés sur des plages de concentrations globalement plus larges que celles du rhamnoside initial. Celui-ci devient hautement toxique pour les cellules saines à des concentrations élevées alors que les dérivés méthylés (**40**) et (**42**) montrent un taux de survie cellulaire supérieur pour des mêmes concentrations.

Aussi, le dérivé (**41**), méthylé sur la position 3 du L-rhamnose, montre une toxicité encore plus faible avec un taux de survie des cellules saines supérieure à 80% comparativement au rhamnoside initial (**22**) qui a tué plus de 85% des cellules saines à une même concentration. Malheureusement dans le cas de ce dérivé, il semble que la toxicité sur les cellules malignes A-549 et DLD-1 est également grandement diminuée, ce qui ne permet pas de conclure sur une amélioration de l'activité globale concernant ce composé. En revanche, il est intéressant de noter qu'il a été obtenu par la première réaction de méthylation du L-rhamnose sélective de la position 3, en une seule étape et avec une quantité catalytique d'étain.

Les résultats les plus intéressants et prometteurs de cette étude concernent le dérivé méthylé sur l'hydroxyle en position 4 du L-rhamnose. Ce composé a montré, lors de ces résultats préliminaires, une très bonne toxicité sur les cellules A-549 d'adénocarcinome pulmonaire, meilleure que l'activité des deux témoins positifs de l'étude. Ce résultat est en accord avec ceux obtenus concernant les rhamnosides d'émodine partiellement acétylés (Xing *et al.*, 2015). En effet, dans ces deux études, le rhamnoside fonctionnalisé sur la position 4 montre une amélioration significative de l'activité sur cette même lignée pulmonaire (A-549), obtenant chacun les meilleurs résultats de leur étude respective. De plus, le composé (**42**) synthétisé dans la présente étude semble présenter un très bon facteur de sélectivité qui sera à confirmer en effectuant des tests sur des lignées cellulaires saines provenant du poumon.

Ainsi, il est possible que le fragment 4-méthoxy- α -L-rhamnopyranose possède des propriétés de sélectivité et de ciblage contre cette lignée cellulaire. Ceci pourrait être vérifié en greffant ce fragment sur d'autres dérivés cytotoxiques tels que la podophyllotoxine afin de comparer l'activité du dérivé rhamnosylé avec celle de l'étoposide, son homologue de référence et celle de la podophyllotoxine, son parent.

6. PARTIE EXPÉRIMENTALE

6.1 Synthèse du dendrimère de α -L-rhamnose (54)

General informations

All starting materials and reagents were purchased from commercial sources and used as received without further purification. Unless otherwise noted, reactions were conducted using anhydrous commercial solvents under argon atmosphere. Anhydrous solvents, supplied over molecular sieves, were used as received. Reactions were monitored by thin-layer chromatography (TLC) with silica gel 60 Å F254 0.25 mm precoated aluminum foil plates and visualized under UV (254 nm). All flash chromatographic purifications were performed using 60 Å silica (SiO_2) (40-63 μm) or 60 Å C18 (17%) monomeric silica (C18 SiO_2) (40-63 μm). Optical rotations were determined at the sodium D line (590 nm) on a Rudolph Research Analytical Autopol IV automatic polarimeter. NMR spectra were recorded with a Bruker® Avance 400 spectrometer at 400 MHz for ^1H nucleus and 100 MHz for ^{13}C nucleus, using deuterated chloroform (CDCl_3) or deuterated methanol (CD_3OD) as the solvent. Chemical shifts were reported in ppm relative to the solvent residual peak (CDCl_3 : $\delta = 7.26$ ppm for ^1H and 77.16 ppm for ^{13}C ; CD_3OD : $\delta = 3.31$ ppm for ^1H and 49.00 ppm for ^{13}C) (Gottlieb, Kotlyar et Nudelman, 1997) and coupling constants J in Hertz (Hz). Multiplicities were reported using the following abbreviations: s, singlet; d, doublet, t, triplet; q, quartet; m, multiplet.

Synthesis of trichloroacetimidate (48)

To a cooled solution (ice-water bath) of commercial L-rhamnopyranose monohydrate (4.99 g, 27.4 mmol) in pyridine (30 mL) with DMAP (344 mg, 0.28 mmol) was slowly added BzCl (25.5 mL, 219 mmol) over 20 minutes. The reaction was performed overnight at room temperature and monitored by TLC (mid TLC hexanes:ethyl acetate 5:5). The reaction was quenched with methanol (10 mL), diluted with DCM (100 mL) and washed with cold aqueous H_2SO_4 3N (3 x 30 mL), saturated aqueous NaHCO_3 solution (3 x 20 mL) and brine (3 x 20 mL). The organic layer was dried with MgSO_4 and evaporated under reduced pressure. The crude benzoylated rhamnose derivative was

immediately used for the next step without further purification. A solution of HBr in HOAc (33%, 25 mL) was added at room temperature. After 4 h, the reaction was washed with saturated NaHCO₃ solution (3 x 10 mL) and brine (3 x 10 mL). The organic layer was dried with MgSO₄, filtered and evaporated under reduced pressure. The residue was taken up in acetone (75 mL), distilled water (3 mL) and Ag₂CO₃ (15.2 g, 55.1 mmol) was added. Hydrolysis was performed for 4 hours at room temperature then filtered through a Celite® bed. The filtrate was dried with MgSO₄, evaporated under reduced pressure and the crude residue was purified by silica gel flash chromatography with a gradient from 20% to 50% of ethyl acetate in hexanes as the eluent to afford the pure intermediate compound as a white solid (6.44 g, 13.5 mmol, 50%, 3 steps). R_f = 0.33 (SiO₂, hexanes/AcOEt 8:2).

The pure previous compound was dissolved in DCM (100 mL), CCl₃CN (2.7 mL, 27.0 mmol) and Cs₂CO₃ (344 mg, 1.35 mmol) were added and the reaction performed for 4 h at room temperature. The reaction was filtrated, evaporated under reduced pressure and the residue was purified by flash chromatography (hexanes/ethyl acetate, 9:1 to 8:2) to give **(48)** as a white foam (7.0 g, 11.3 mmol, 84%).

These products are already characterized in the literature (Gauthier *et al.*, 2006).

Synthesis of **(49)**

To a cooled solution of **(47)** (100 mg, 0.316 mmol) and **(48)** (648 g, 1.04 mmol) (ice/water bath) in anhydrous dichloromethane (3.2 mL) with 4 Å molecular sieve, under an argon atmosphere, were added trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate (34 µL, 0.19 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 1 h then quenched with 10 mL of a saturated aqueous NaHCO₃ and the molecular sieve was filtered off. The aqueous layer was then extracted with 3 x 20 mL CH₂Cl₂. The organic layers were dried with Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to give a white foam which was purified by silica gel flash chromatography with a gradient from 0% to 50% of ethyl acetate in hexanes as the eluent to afford the title compound **(49)** as a white solid (377.2 mg, 0.223 mmol, 71 %). R_f = 0.15 (SiO₂, hexanes/AcOEt 7:3).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8.11-8.05 (m, 4H), 8.04-7.93 (m, 8H), 7.83-7.76 (m, 6H), 7.60-7.50 (m, 3H), 7.52 (s, 2H), 7.49-7.31 (m, 18H), 7.23-7.15 (m, 6H), 5.85 (dd, J = 10.2, 3.4 Hz, 1H), 5.78-5.67 (m, 6H), 5.63 (t, J = 9.9 Hz, 1H), 5.20 (d, J = 1.2 Hz, 2H), 5.08 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 4.70-4.61 (m, 1H), 4.57-4.40 (m, 5H), 4.34-4.18 (m, 6H), 4.14-4.06 (m, 2H), 4.06-3.99 (m, 1H), 3.83 (s, 3H), 1.37 (d, J = 6.2 Hz, 6H), 1.30 (d, J = 6.2 Hz, 3H); **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ = 166.6, 165.9, 165.9, 165.5, 165.4, 165.3, 165.3, 152.5, 142.5, 130.0, 129.9, 129.8, 129.8, 129.7, 129.5, 129.4, 129.3, 128.6, 128.5, 128.3, 128.2, 109.6, 97.9, 97.8, 72.1, 72.0, 71.9, 70.7, 70.2, 70.1, 68.5, 66.9, 66.6, 52.2, 17.8, 17.7; $[\alpha]_D = -112.0$ (c = 0.045, CHCl₃)

NMR spectra available in the supporting information of the related article (Alsarraf *et al.*, 2020)

Synthesis of (50)

To a cooled solution of (**49**) (1.473 g, 0.87 mmol) (ice/water bath) in anhydrous CH₂Cl₂ (14.5 mL) and anhydrous methanol (29 mL) under argon atmosphere, Na(s) was added (62 mg, 2.70 mmol) and the mixture was stirred at room temperature for 16 h. The mixture was then neutralized with weakly acid Amberlite® resin, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by C18 reverse-phase silica gel flash chromatography with a gradient from 10% to 80% of methanol in water as the eluent to afford the title compound (**50**) as a white solid (609 mg, 0.81 mmol, 93%). R_f = 0.30 (C18 SiO₂, H₂O/MeOH 2:1).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ = 7.34 (s, 2H), 4.81 (d, J = 1.3 Hz, 2H), 4.77 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 4.32-4.26 (m, 2H), 4.26-4.21 (m, 4H), 4.05-3.97 (m, 2H), 3.93-3.90 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.87-3.77 (m, 5H), 3.76 (dd, J = 3.3, 1.5 Hz, 1H), 3.69-3.55 (m, 6H), 3.42-3.35 (m, 3H), 1.26 (d, J = 6.3 Hz, 6H), 1.24 (d, J = 6.4 Hz, 3H); **¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD)** δ = 168.0, 153.6, 143.6, 126.2, 109.9, 101.9, 101.7, 73.9, 73.1, 72.3, 72.1, 72.0, 69.9, 69.7, 68.2, 67.2, 52.8, 18.1; $[\alpha]_D = -37.0$ (c = 0.11, MeOH). HRMS (Bodley) m/z 753.2823 calculated for C₃₂H₄₉O₂₀ [M-H]⁻ found 753,2831.

NMR spectra available in the supporting information of the related article (Alsarraf *et al.*, 2020)

Synthesis of (51)

To a solution of (**51**) (609 mg, 0.81 mmol) in EtOH (16 mL), was added a solution of KOH (90.8 mg, 1.62 mmol) in water (1.6 mL) and the reaction mixture was stirred at reflux for 1 h. The reaction mixture was then neutralized with weakly acid Amberlite® resin, filtered and concentrated under reduced pressure to afford 666.4 mg of crude intermediate that was engaged in the next step without further purification. To a cooled solution (ice/water bath) of intermediate and 4-DMAP (28.9 mg, 0.24 mmol) in anhydrous pyridine (16 mL) under argon atmosphere, was added acetic anhydride (0.92 mL, 9.7 mmol). The reaction mixture was stirred 16 h room temperature. Ethyl acetate (60 mL) were then added. The solution was cooled to 0 °C and washed with 3 x 30 mL of aqueous HCl (10%), 3 x 30 mL of saturated aqueous NaHCO₃ and 30 mL of brine. The organic layer was dried on MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The crude mixture was purified by silica gel flash chromatography using a gradient from 0% to 6% of methanol in CH₂Cl₂ as the eluent to afford the title compound (**51**) as a white solid (681.1 mg, 75% over two steps). R_f = 0.41 (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH 96:4).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ= 7.36 (s, 2H), 5.24-5.17 (m, 4H), 5.07-4.99 (m, 3H), 4.97-4.92 (m, 2H), 4.83 (d, J = 1.0 Hz, 2H), 4.72 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 4.58-4.48 (m, 1H), 4.33-4.19 (m, 5H), 4.06-3.99 (m, 2H), 3.98-3.84 (m, 5H), 3.81-3.73 (m, 1H), 3.69-3.60 (m, 1H), 2.09 (s, 6H), 2.06 (s, 3H), 2.01 (s, 6H), 2.00 (s, 3H), 1.91 (s, 6H), 1.90 (s, 3H), 1.19 (d, J = 6.2 Hz, 3H), 1.11 (d, J = 6.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ = 170.9, 170.1, 170.0, 169.8, 152.2, 142.9, 124.2, 109.8, 97.3, 97.6, 71.6, 71.0, 70.9, 69.6, 69.3, 69.1, 68.1, 66.5, 66.2, 66.1, 20.9, 20.8, 20.8, 20.7, 17.5, 17.3; [α]_D = -56.7 (c = 0.22, CHCl₃).

NMR spectra available in the supporting information of the related article (Alsarraf *et al.*, 2020)

Synthesis of (**53**)

To a cooled solution of (**51**) (188 mg, 0.14 mmol) in anhydrous DMF (2.8 mL) (ice/water bath) under argon atmosphere, were added HBTU (64.5 mg, 0.17 mmol) and *N,N*-diisopropylethylamine (49 μL, 0.28 mmol). The mixture was then warmed to room temperature, the amine (**52**) (34 μL, 0.17 mmol) was added and the reaction mixture stirred at RT for 1 h and diluted with 15 mL of ethyl acetate : toluene (1:1). The mixture was washed with 2 x 10 mL of aqueous HCl (2%), 2 x 10 mL of saturated aqueous NaHCO₃ and 10 mL of brine. The organic layer was dried with Na₂SO₄ and concentrated

under reduced pressure. The crude mixture was purified by silica gel flash chromatography using a gradient from 0% to 5% of methanol in CH₂Cl₂ as the eluent to afford the title compound (**53**) as colourless oil (164.2 mg, 86%). R_f = 0.42 (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH 95:5).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 7.04 (s, 2H), 6.93 (t, J = 4.5 Hz, 1H), 5.22-5.16 (m, 4H), 5.05-4.89 (m, 5H), 4.82 (br s, 2H), 4.69 (br s, 1H), 4.45-4.37 (m, 1H), 4.29-4.14 (m, 5H), 4.03-3.78 (m, 7H), 3.77-3.68 (m, 2H), 3.66-3.47 (m, 14H), 3.30 (t, J = 5.0 Hz, 2H), 2.08 (s, 6H), 2.05 (s, 3H), 1.99 (s, 6H), 1.98 (s, 3H), 1.90 (s, 6H), 1.89 (s, 3H), 1.17 (d, J = 6.2 Hz, 6H), 1.10 (d, J = 6.2 Hz, 3H); **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ = 170.1, 170.0, 169.8, 167.1, 152.2, 141.3, 130.0, 107.8, 97.6, 97.5, 71.0, 70.6, 70.5, 70.2, 70.0, 69.6, 69.1, 68.5, 66.4, 66.1, 50.6, 39.9, 20.9, 20.8, 20.7, 17.4, 17.3; [α]_D = -50.3 (c = 0.39, CHCl₃).

NMR spectra available in the supporting information of the related article (Alsarraf *et al.*, 2020)

Synthesis of (**54**)

To a cooled solution of **10** (563 mg, 0.43 mmol) in CH₂Cl₂ (7.5 mL) and MeOH (21 mL) (ice/water bath) under argon atmosphere, Na(s) (33.4 mg, 1.45 mmol) was added. The reaction mixture was stirred at room temperature for 3 h and neutralized with weakly acid Amberlite[®] resin. Then resin was filtered off and the mixture was concentrated under reduced pressure. The crude mixture was purified C18 reverse-phase silica gel flash chromatography using a gradient from 10% to 70% methanol in water as the eluent to afford pure dendrimer (**54**) as colourless oil (357.7 mg, 88%). R_f = 0.5 (C18 SiO₂, H₂O/MeOH 1:1).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ = 7.19 (s, 2H), 4.81 (br s, 2H), 4.75 (br s, 1H), 4.36-4.16 (m, 6H), 4.06-3.97 (m, 2H), 3.96-3.74 (m, 7H), 3.72-3.51 (m, 20H), 3.42-3.32 (m, 5H), 1.34-1.18 (m, 9H); **¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD)** δ = 169.6, 153.7, 142.2, 130.7, 108.0, 101.8, 101.7, 73.9, 73.0, 72.3, 72.2, 72.1, 72.1, 71.6, 71.6, 71.5, 71.2, 71.1, 70.6, 69.9, 69.9, 69.7, 68.3, 67.1, 51.7, 41.0, 18.1; [α]_D = -34.9 (c = 0.29, MeOH)

NMR spectra available in the supporting information of the related article (Alsarraf *et al.*, 2020)

Synthesis of (55)

A solution of (54) (153.0 mg, 0.16 mmol) and palladium on activated charcoal (10 mg) in anhydrous methanol (1.0 mL) is stirred under H₂ atmosphere for 16 hours at room temperature. Then the reaction was stopped by filtrating Pd/C on C18 cartridge (1g) washed with methanol. The solvent was evaporated under reduced pressure to obtain the corresponding amine (142.8 mg) which was engaged in the next step without further purification. The amine (65.1 mg) is added to a cold solution of sulforhodamine B chloride (41.4 mg, 0.072 mmol) and triethylamine (9.9 μ L, 0.071 mmol) in DMF (1.0 mL). The reaction mixture is stirred at room temperature for 24 hours and the full reaction mixture (including solvents) is immediately purified by flash chromatography reverse phase (25 g, C18) with a gradient from 0% to 80% of methanol in water to obtain pure product (55) as a pink oil (42.0 mg, 0.029 mmol, 38%).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ = 8.68 (d, J = 1.7, 1H), 8.16-8.10 (dd, J = 1.7, J = 7.9, 1H), 7.51 (d, J = 7.9, 1H), 7.13 (s, 2H), 7.10 (d, J = 9.4, 2H), 7.02-6.94 (m, 2H), 6.88 (br s, 2H), 4.79 (br s, 2H), 4.75 (br s, 1H), 4.33-4.11 (m, 6H), 4.03-3.87 (m, 3H), 3.87-3.72 (m, 6H), 3.72-3.47 (m, 28H), 3.41-3.35 (m, 3H), 3.24-3.18 (m, 2H), 1.37-1.19 (m, 21H, all CH₃) ; **¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD)** δ = 169.35, 159.28, 157.76, 157.09, 153.68, 147.24, 144.07, 142.01, 135.39, 133.66, 132.49, 130.50, 129.37, 127.68, 115.24, 115.08, 107.78, 101.87, 101.74, 96.98, 73.97, 73.03, 72.30, 72.25, 72.17, 72.09, 71.52, 71.22, 71.17, 70.67, 70.47, 69.93, 69.85, 69.75, 68.32, 67.07, 46.83, 44.16, 40.94, 18.14, 12.91.

6.2 Synthèse des dérivés méthylés du rhamnoside de triterpène

General informations

All starting materials and reagents were purchased from commercial sources and used as received without further purification. Unless otherwise noted, reactions were conducted using anhydrous commercial solvents under argon atmosphere. Anhydrous solvents, supplied over molecular sieves, were used as received. Reactions were monitored by thin-layer chromatography (TLC) with silica gel 60 Å F254 0.25 mm precoated aluminum foil plates and visualized under UV (254

nm) or with an acid solution of cerium ammonium molybdate (CAM). All flash chromatographic purifications were performed using 60 Å silica (SiO₂) (40-63 μm) or 60 Å C18 (17%) monomeric silica (C18 SiO₂) (40-63 μm). Optical rotations were determined at the sodium D line (590 nm) on a Rudolph Research Analytical Autopol IV automatic polarimeter. NMR spectra were recorded with a Bruker® Avance 400 spectrometer at 400 MHz for ¹H nucleus and 100 MHz for ¹³C nucleus, using deuterated chloroform (CDCl₃), deuterated methanol (CD₃OD) or deuterated dimethyl sulfoxide (DMSO-d₆) as the solvent. Chemical shifts were reported in ppm relative to the solvent residual peak (CDCl₃: δ = 7.26 ppm for ¹H and 77.16 ppm for ¹³C; CD₃OD: δ = 3.31 ppm for ¹H and 49.00 ppm for ¹³C; DMSO-d₆: δ = 2.50 ppm for ¹H and 39.52 ppm for ¹³C) (Gottlieb, Kotlyar et Nudelman, 1997) and coupling constants J in Hertz (Hz). Multiplicities were reported using the following abbreviations: s, singlet; d, doublet, t, triplet; q, quartet; m, multiplet.

Synthesis of (48) : Described at p. 48-49

Synthesis of (56)

To a solution of commercial betulinic acid (**20**) (1.00 g, 2.19 mmol) and K₂CO₃ (0.500 g, 3.62 mmol) in anhydrous dimethylformamide (20.0 ml), benzyl bromide (0.300 mL, 2.52 mmol) was added at room temperature and the mixture was stirred for 18 h. Then TLC (Hex:AcOEt, 9 : 1) shows major spot of desired product (R_f = 0.30) and a full consumption of starting benzyl bromide. The mixture was then diluted in 80 mL of ethyl acetate : toluene (ratio 1 : 1) and treated with 2 x 40 mL of a saturated ammonium chloride solution (NH₄Cl), 2 x 40 mL of a saturated sodium carbonate solution (NaHCO₃) and 40 mL of brine before being dried on anhydrous sodium sulfate. Volatiles were then evaporated under reduced pressure. The crude product was purified by flash chromatography normal phase (40 g, SiO₂) using a gradient from 0% to 20% of ethyl acetate in hexanes to give pure product (**56**) as a white solid (572.2 mg, 1.04 mmol, 48%).

NMR data available in the related article (Sylla *et al.*, 2019)

Synthesis of (57)

To a cooled solution of (56) (401.0 mg, 0.73 mmol) and (48) (548.1 mg, 0.88 mmol) (ice/water bath) in anhydrous dichloromethane (15 mL) with 4 Å molecular sieve, under an argon atmosphere, was added TMSOTf (13.2 µL, 0.073 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 40 min, diluted in dichloromethane (15 mL) then quenched with 30 mL of a saturated aqueous NaHCO₃ solution and the molecular sieve was filtered off. The aqueous layer was then extracted with 3 x 30 mL CH₂Cl₂. The organic layers were dried with Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. Crude was purified by silica gel flash chromatography with a gradient from 0% to 20% of ethyl acetate in hexanes as the eluent to afford the compound (57) as a white solid (568.3 mg, 0.57 mmol, 78%). R_f = 0.40 (SiO₂, hexanes/AcOEt 9:1).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8.14-8.07 (m, 2H), 8.02-7.95 (m, 2H), 7.87-7.80 (m, 2H), 7.64-7.57 (m, 1H), 7.55-7.46 (m, 3H), 7.46-7.30 (m, 8H), 7.29-7.23 (m, 2H), 5.85-5.78 (dd, J = 3.3, J = 10.2, 1H), 5.71-5.64 (t, J = 10.0, 1H), 5.65-5.61 (m, 1H), 5.16 (d, J = 12.3, 1H), 5.09 (d, J = 12.3, 1H), 5.07 (d, J = 1.3, 1H), 4.73 (d, J = 1.9, 1H), 4.59 (m, 1H), 4.36-4.26 (m, 1H), 3.24-3.15 (m, 1H), 3.08-2.98 (dt, J = 4.6, J = 10.6, 1H), 2.34-2.25 (d, J = 12.3, 1H), 2.25-2.13 (dt, J = 3.3, J = 12.5, 1H), 1.95-1.75 (m, 4H), 1.73-1.69 (m, 1H), 1.63-1.48 (m, 3H), 1.46-1.21 (m, 10H), 1.33 (d, J = 6.3, 3H), 1.21-1.07 (m, 2H), 1.03-0.98 (m, 1H), 0.74-0.66 (m, 1H), 1.68, 1.04, 0.95, 0.92, 0.86, 0.77 (all s, 6 × CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ = 175.95, 165.99, 165.83, 165.72, 150.74, 136.63, 133.54, 133.40, 133.19, 130.03, 129.88, 129.81, 129.69, 129.50, 129.43, 128.70, 128.63, 128.54, 128.39, 128.20, 109.72, 99.87, 90.20, 72.12, 71.37, 70.34, 66.90, 65.87, 56.69, 55.68, 50.65, 49.59, 47.09, 42.54, 40.82, 39.30, 38.82, 38.33, 37.09, 34.42, 32.25, 30.72, 29.72, 28.40, 25.80, 25.67, 21.07, 19.50, 18.43, 17.72, 16.54, 16.34, 15.99, 14.82.

Synthesis of (58)

To a cooled solution of (57) (568.3 mg, 0.57 mmol) (ice/water bath) in anhydrous CH₂Cl₂ (14 mL) and anhydrous methanol (14 mL) under argon atmosphere, Na(s) was added (16.3 mg, 0.71 mmol) and the mixture was stirred at room temperature for 4 h. The mixture is then neutralized with weakly

acid Amberlite® resin, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by normal phase silica gel flash chromatography with a gradient from 0% to 10% of methanol in dichloromethane as the eluent to afford the title compound (**58**) as a white solid (609 mg, 0.51 mmol, 90 %). Rf = 0.20 (SiO₂, DCM/MeOH 95:5).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃ : CD₃OD, 1:2), data calibrated on CD₃OD signal, δ = 7.44-7.25 (m, 5H), 4.72 (d, 1H), 4.69 (br s, 1H), 4.56 (br s, 1H), 3.84 (br s, 1H), 3.78-3.62 (m, 2H), 3.41-3.31 (m, 1H), 3.10-2.92 (m, 2H), 2.25 (d, J = 12.2, 1H), 2.20-2.07 (dt, J = 2.9, J = 12.4, 1H), 1.94-1.79 (m, 2H), 1.79-1.53 (m, 5H), 1.48-1.19 (m, 11H), 1.23 (d, J = 6.3, 3H), 1.19-1.03 (m, 2H), 1.02-0.95 (m, 1H), 0.69-0.63 (m, 1H), 1.65, 0.93, 0.88, 0.79, 0.72, 0.71 (all s, 6 × CH₃) ; ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃ : CD₃OD, 1:2) δ = 176.89, 150.97, 136.99, 129.05, 128.94, 128.71, 110.11, 103.48, 89.82, 73.52, 72.01, 71.70, 69.01, 66.43, 57.24, 56.15, 51.18, 50.04, 47.71, 42.96, 41.26, 39.61, 38.92, 37.48, 31.11, 30.13, 28.41, 26.13, 19.58, 17.61, 16.56, 16.53, 16.25, 15.05. [α]_D = -18.8 (c = 0.030, CHCl₃)

Synthesis of (**22**)

A solution of (**58**) (43.1 mg, 0.062 mmol) and palladium on activated charcoal (3.5 mg) in anhydrous methanol (2.0 mL) is stirred under H₂ atmosphere with a slight reflux for 4 h. Then the reaction was stopped by cooling to room temperature and filtrating Pd/C on polar SiO₂ (1.5 g) washed with DCM : MeOH. The solvent was evaporated under reduced pressure. TLC (DCM : MeOH, 95 : 5) indicate Rf = 0.19 for the desired product which was purified by flash chromatography normal phase (4 g, SiO₂) with a gradient from 0% to 8% of methanol in dichloromethane to obtain pure product (**22**) as a white solid (29.2 mg, 0.048 mmol, 77%).

6.2.1 Global synthesis of 3-O-2-methoxy-α-L-rhamnopyranosylbetulinic Acid (**40**)

Synthesis of (**59**)

To a solution of (**58**) (150.0 mg, 0.216 mmol) in anhydrous dichloromethane (2.0 ml) and methanol (2.0 ml), 2,3-butadione (22.8 μ L, 0.26 mmol), trimethyl orthoformate (96.3 μ L, 0.88 mmol) and camphorsulfonic acid (3.2 mg, 0.014 mmol) was added at room temperature and the mixture was refluxed for 21 h. Then TLC (DCM : MeOH, 95 : 5) shows major spot of desired product (R_f = 0.80), good amount of remaining starting material (R_f = 0.20) and new spots around the desired product which look like degradation. The reaction was stopped using triethylamine (3.1 μ L, 0.022 mmol) after cooling the reaction mixture to room temperature. Volatiles were then evaporated under reduced pressure and the crude product was purified by flash chromatography normal phase (12 g, SiO₂) using a gradient from 0% to 2% of methanol in dichloromethane to give pure product (**59**) as a white solid (87.8 mg, 0.11 mmol, 50%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 7.39-7.27 (m, 5H, Ar), 5.13 (d, J = 12.3, 1H), 5.07 (d, J = 12.3, 1H), 4.79 (s, 1H), 4.71 (s, 1H), 4.58 (s, 1H), 3.97-3.89 (m, 3H), 3.68 (t, J = 9.9, 1H), 3.07-2.96 (m, 2H), 2.26 (d, J = 12.3, 1H), 2.16 (m, 1H), 1.95-1.80 (m, 2H), 1.78-1.67 (m, 1H), 1.65-1.52 (m, 3H), 1.47-1.32 (m, 7H), 1.32-1.28 (m, 1H), 1.27-1.14 (m, 8H), 1.10-0.95 (m, 2H), 0.89-0.86 (m, 1H), 0.63 (m, 1H), 3.25, 3.22, 1.66, 1.30, 1.28, 0.92, 0.85, 0.77, 0.73, 0.68 (all s, 10 \times CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ = 175.85, 150.61, 136.56, 128.55, 128.33, 128.12, 109.68, 102.67, 100.22, 99.82, 89.50, 70.26, 68.62, 68.47, 66.53, 65.79, 56.62, 55.54, 50.58, 49.53, 47.95, 47.72, 47.02, 42.45, 40.73, 39.11, 38.27, 37.02, 36.96, 32.20, 30.68, 28.26, 25.62, 20.96, 19.47, 18.37, 17.93, 17.79, 16.48, 16.35, 16.25, 15.90, 14.75; $[\alpha]_D$ = -78.5 (c = 0.14, CHCl₃). HRMS (Bodley) m/z 829.5225 calculated for C₄₉ H₇₄ Na O₉ [M+H]⁺ found 829.5227.

Synthesis of (**60**)

A solution of (**59**) (50.3 mg, 0.062 mmol) in anhydrous dimethylformamide (0.5 mL) was cooled at 0°C and NaH 60% (9.1 mg, 0.23 mmol) was added. The mixture was stirred at 0°C for 10 minutes and allowed to get back to room temperature before adding iodomethane (13.4 μ L, 0.22 mmol). The reaction was then stirred for 18 h. TLC (Hex : AcOEt, 75 : 25) showed the desired product (R_f = 0.68) as the main compound. The mixture was diluted with 8 mL of a solution of toluene : ethyl acetate (ratio 1 : 1) and treated with 2 \times 8 mL of a saturated ammonium chloride solution (NH₄Cl), 2 \times 8 mL

of a saturated sodium carbonate solution (NaHCO_3) and 8 mL of brine before being dried on anhydrous sodium sulfate. The crude was purified by flash chromatography normal phase (4 g, SiO_2) with a gradient from 0% to 7% of ethyl acetate in hexanes to obtain pure product (**60**) as a white solid (26 mg, 0.032 mmol, 52%)

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ = 7.40-7.28 (m, 5H, Ar), 5.15 (d, J = 12.3, 1H), 5.08 (d, J = 12.3, 1H), 4.82 (s, 1H), 4.72 (s, 1H), 4.59 (s, 1H), 3.98 (dd, J = 2.9, J = 10.3, 1H), 3.93-3.84 (m, 1H), 3.69 (t, J = 10.1, 1H), 3.48 (s, 3H, O- CH_3), 3.45 (s, 1H), 3.07-2.97 (m, 2H), 2.27 (d, J = 12.3, 1H), 2.21-2.12 (m, 1H), 1.94-1.79 (m, 2H), 1.78-1.69 (m, 1H), 1.65-1.53 (m, 3H), 1.49-1.33 (m, 6H), 1.33-1.28 (m, 2H), 1.26-1.19 (m, 7H), 1.11-0.96 (m, 2H), 0.86-0.83 (m, 1H), 0.65 (m, 1H), 3.26, 3.24, 1.67, 1.31, 1.29, 0.93, 0.87, 0.78, 0.74, 0.70 (all s, $10 \times \text{CH}_3$); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ = 175.93, 150.70, 136.62, 128.61, 128.38, 128.18, 109.72, 100.83, 99.91, 99.54, 89.66, 79.18, 68.97, 68.69, 67.04, 65.85, 59.04, 56.69, 55.62, 49.58, 47.87, 47.76, 47.07, 42.51, 40.79, 39.16, 38.33, 37.09, 37.03, 32.26, 29.70, 28.31, 25.67, 21.01, 19.52, 18.45, 18.03, 17.98, 16.66, 16.42, 16.29, 15.96, 14.81; $[\alpha]_D$ = -87.2 (c = 0.26, CHCl_3). HRMS (Bodley) m/z 843.5382 calculated for $\text{C}_{50}\text{H}_{76}\text{NaO}_9$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ found 843.5388.

Synthesis of (**61**)

To a solution of (**60**) (26 mg, 0.032 mmol) dissolved in dichloromethane (1.0 mL) and methanol (2.0 mL), p -TsOH (12.7 mg, 0.067 mmol) was added at room temperature and the reaction mixture was refluxed and stirred vigorously for 9 h. Then p -TsOH (4.2 mg, 0.022 mmol) was added again and the reaction was refluxed for two additional hours. TLC (DCM : MeOH, 95 : 5) showed the desired product as the main product (R_f = 0.45). The acid was neutralized with triethylamine (13.4 μL , 0.096 mmol) and volatiles were evaporated under reduced pressure. The product was purified by flash chromatography normal phase (4 g, SiO_2) using a gradient from 0% to 2% of methanol in dichloromethane to obtain pure product (**61**) as a white solid (10.4 mg, 0.015 mmol, 47%).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ = 7.45-7.29 (m, 5H, Ar), 5.15 (d, J = 12.3, 1H), 5.08 (d, J = 12.3, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.72 (s, 1H), 4.59 (s, 1H), 3.80-3.65 (m, 2H), 3.47 (s, 1H), 3.45 (s, 3H, O- CH_3), 3.39-3.30 (m, 2H), 3.09-2.96 (m, 2H), 2.38-2.24 (m, 2H), 2.22-2.10 (m, 1H), 1.94-1.79 (m, 2H), 1.78-1.71 (m, 1H),

1.64-1.53 (m, 3H), 1.47-1.30 (m, 6H), 1.30-1.17 (m, 9H), 1.12-0.96 (m, 2H), 0.86-0.83 (m, 1H), 0.65 (m, 1H), 1.67, 0.93, 0.88, 0.79, 0.74, 0.73 (all s, 6 × CH₃) ; ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ = 175.95, 150.72, 136.62, 128.63, 128.39, 128.20, 109.73, 98.81, 89.64, 80.68, 74.40, 71.80, 67.74, 65.87, 58.76, 56.69, 55.66, 50.68, 49.59, 47.07, 42.51, 40.80, 39.22, 38.82, 38.33, 37.09, 37.05, 34.42, 32.26, 30.73, 29.85, 29.70, 28.27, 25.67, 21.02, 19.52, 18.42, 17.51, 16.36, 16.29, 15.96, 14.80 ; [α]_D = -12.6 (c = 0.068, CHCl₃). HRMS (Bodley) m/z 707.4881 calculated for C₄₄ H₆₇ O₇ [M+H]⁺ found 707.4872.

Synthesis of (40)

A solution of (61) (19.5 mg, 0.028 mmol) and palladium on activated charcoal (4.2 mg) in anhydrous methanol (2.0 mL) was stirred under H₂ atmosphere with a slight reflux for 3 h. Then the reaction was stopped by cooling to room temperature and filtrating Pd/C on C18 cartridge (1 g) washed with methanol. The solvent was evaporated under reduced pressure. TLC (DCM : MeOH, 95 : 5) indicate R_f = 0.35 for the desired product which was purified by flash chromatography normal phase (4g, SiO₂) with a gradient from 0% to 25% of ethyl acetate in chloroform to obtain pure product (40) as a white solid (9.1 mg, 0.015 mmol, 54%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 4.89 (s, 1H), 4.74 (s, 1H), 4.61 (s, 1H), 3.82-3.68 (m, 2H), 3.47 (m, 1H), 3.46 (s, 3H, O-CH₃), 3.37 (d, J = 9.2, 1H), 3.11-3.04 (dd, J = 4.8, J = 11.6, 1H), 3.00 (dt, J = 4.6, J = 10.4, 1H), 2.27 (d, J = 12.4, 1H), 2.18 (dt, J = 3.3, J = 12.1, 1H), 2.03-1.91 (m, 2H), 1.78-1.72 (m, 1H), 1.67-1.57 (m, 3H), 1.54-1.45 (m, 3H), 1.45-1.38 (m, 3H), 1.38-1.33 (m, 3H), 1.29-1.23 (m, 5H), 1.22-1.14 (m, 2H), 1.09-1.00 (m, 1H), 0.88-0.86 (m, 1H), 0.69 (m, 1H), 1.69, 0.96, 0.92, 0.89, 0.82, 0.74 (all s, 6 × CH₃) ; ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ = 181.10, 150.54, 109.84, 98.83, 89.64, 80.70, 74.38, 71.84, 67.79, 58.77, 56.49, 55.68, 50.65, 49.44, 47.05, 42.57, 40.85, 39.25, 38.84, 38.54, 37.20, 37.10, 34.46, 30.73, 29.85, 28.30, 25.70, 25.65, 21.02, 19.54, 18.43, 17.52, 16.37, 16.29, 16.19, 14.83 ; [α] = -10.5 (c = 0.038, CHCl₃). HRMS (Bodley) m/z 615.4266 calculated for C₃₇ H₅₉ O₇ [M-H]⁻ found 615.4284.

6.2.2 Global synthesis of 3-O-3-methoxy- α -L-rhamnopyranosylbetulinic Acid (**41**)

Synthesis of (**62**)

A solution of (**58**) (73.1 mg, 0.105 mmol) in dry DMF (1.0 mL), containing dimethyltin dichloride (Me_2SnCl_2 , 5.1 mg, 0.023 mmol), tetrabutylammonium iodide (TBAI, 4.1 mg, 0.011 mmol), potassium carbonate (K_2CO_3 , 21.8 mg, 0.16 mmol) was prepared and stirred under argon atmosphere at room temperature. Iodomethane (MeI, 19.4 μL , 0.315 mmol) was added before allowing to be heated at 90°C with a condenser for 3 h. TLC (DCM : MeOH, 95 : 5) showed a partial reaction ($R_f = 0.40$). The reaction was cooled to room temperature, iodomethane was added again (19.4 μL , 0.315 mmol) and the reaction was allowed to be heated again (90°C, 4 h). The mixture was cooled to room temperature and diluted with 15 mL of toluene : ethyl acetate with a ratio 1 : 1 and treated with 2 x 13 mL of a saturated solution of ammonium chloride, 2 x 13 mL of a saturated sodium carbonate solution (NaHCO_3) and with a brine solution before being dried on anhydrous sodium sulfate. The solvent was evaporated under reduced pressure before purification by flash chromatography normal phase (4 g, SiO_2) using a gradient from 0% to 2% of MeOH in DCM. Pure product (**62**) was obtained as a white solid (27.5 mg, 0.039 mmol, 37%).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) $\delta = 5.40$ -5.28 (m, 5H, Ar), 5.14 (d, $J = 12.4$, 1H), 5.08 (d, $J = 12.4$, 1H), 4.86 (s, 1H), 4.72 (d, $J = 1.3$, 1H), 4.59 (s, 1H), 4.06 (s, 1H), 3.87-3.77 (m, 1H), 3.53-3.43 (m, 1H), 3.46 (s, 3H, O- CH_3), 3.41-3.35 (dd, $J = 3.0$, $J = 9.1$, 1H), 3.10-2.96 (m, 2H), 2.37-2.23 (m, 3H), 2.17 (dt, $J = 3.3$, $J = 11.8$, 1H), 1.95-1.80 (m, 2H), 1.80-1.71 (m, 1H), 1.66-1.53 (m, 3H), 1.48-1.15 (m, 12H), 1.27 (d, $J = 6.3$, 3H), 1.12-0.96 (m, 2H), 0.87-0.82 (m, 1H), 0.66 (m, 1H), 1.67, 0.93, 0.89, 0.80 (all s, 4 \times CH_3), 0.74 (s, 6H, 2 \times CH_3). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) $\delta = 175.94$, 150.68, 136.61, 128.60, 128.37, 128.17, 109.73, 102.08, 89.45, 81.59, 71.94, 67.72, 67.19, 65.85, 57.01, 56.68, 55.58, 50.63, 49.57, 47.07, 42.50, 40.78, 39.19, 38.32, 37.02, 32.24, 30.71, 29.69, 28.35, 25.64, 21.01, 19.50, 18.41, 17.61, 16.41, 16.29, 15.96, 14.79 ; $[\alpha]_D = -14.8$ ($c = 0.19$, CHCl_3). HRMS (Bodley) m/z 707.4881 calculated for $\text{C}_{44}\text{H}_{67}\text{O}_7$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ found 707.4882.

Synthesis of (41)

A solution of (62) (27.0 mg, 0.038 mmol) and palladium on activated charcoal (6.2 mg) in anhydrous methanol (2.0 mL) was stirred under H₂ atmosphere with a slight reflux for 2 h. Then the reaction was stopped by cooling to room temperature and filtrating Pd/C on C18 cartridge (1 g) washed with methanol. The solvent was evaporated under reduced pressure. TLC (DCM : MeOH, 95 : 5) indicate R_f = 0.35 for the desired product which was purified by flash chromatography normal phase (4 g, SiO₂) with a gradient from 0% to 50% of ethyl acetate in hexanes to obtain pure product (41) as a white solid (15.0 mg, 0.024 mmol, 63%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 12.08 (br s, 1H), 4.85 (d, J = 5.6, 1H), 4.74 (s, 1H), 4.68 (s, 1H), 4.60 (s, 1H), 4.56 (s, 1H), 3.83 (br s, 1H), 3.51 (m, 1H), 3.29 (s, 3H, O-CH₃), 3.27-3.21 (m, 1H), 3.07 (dd, J = 2.8, J = 9.3, 1H), 3.03-2.90 (m, 2H), 2.21 (t, J = 12.0, 1H), 2.14-2.05 (m, 1H), 1.85-1.75 (m, 2H), 1.61-1.49 (m, 3H), 1.47-1.20 (m, 12H), 1.19-1.13 (m, 2H), 1.09 (d, J = 6.2, 3H), 1.03-0.96 (m, 1H), 0.83-0.80 (m, 1H), 0.73 (m, 1H), 1.64, 0.93, 0.87, 0.86, 0.78, 0.70 (all s, 6 × CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ = 177.24, 150.31, 109.67, 102.85, 87.49, 80.85, 70.76, 68.56, 66.50, 56.28, 55.42, 54.67, 49.83, 48.54, 46.62, 42.02, 40.25, 38.66, 38.06, 37.58, 36.48, 36.34, 33.82, 31.70, 30.10, 29.20, 27.81, 25.09, 20.46, 18.96, 17.87, 17.78, 16.24, 15.94, 15.71, 14.37; [α]_D = -12.8 (c = 0.036, CHCl₃). HRMS (Bodley) m/z 615.4266 calculated for C₃₇ H₅₉ O₇ [M-H]⁻ found 615.4279.

6.2.3 Global synthesis of 3-O-4-methoxy-α-L-rhamnopyranosylbetulinic Acid (42)

Synthesis of (66)

To a solution of (58) (31.6 mg, 0.046 mmol) in acetone HPLC grade (1.0 mL) under argon atmosphere, p-TsOH (1.3 mg, 0.007 mmol) and 2,2-DMP (56.4 μL, 0.46 mmol) were added and the reaction mixture was stirred for 4 h. TLC (hexane : ethyl acetate, 75 : 25) showed full reaction with R_f = 0.45. The acid was neutralized with Et₃N (1.5 μL) and the solvent was evaporated under reduced pressure

before purification by flash chromatography normal phase using a gradient from 0% to 20% of ethyl acetate in hexane. Product (**66**) containing an unidentified impurity was obtained as a white solid (30.6 mg).

This product is already characterized in the related article (Sylla *et al.*, 2019).

Synthesis of (**67**)

To a cooled solution of (**64**) (225.4 mg, 0.31 mmol) in anhydrous DMF (1.6 mL) (ice/water bath) under argon atmosphere, sodium hydride 60% (25.8 mg, 0.64 mmol) was added and stirred for 10 minutes at 0°C before introducing iodomethane (38.3 μ L, 0.62 mmol). After 18 h of stirring, TLC (hexane : ethyl acetate, 75 : 25) showed a partial conversion ($R_f = 0.85$). The reaction mixture was cooled to add sodium hydride (22.3 mg, 0.56 mmol) and iodomethane (38.3 μ L, 0.62 mmol) with the same method than described previously. After 3 h of stirring at room temperature, the reaction was quenched using MeOH (63 μ L). Then 30 mL of a solution toluene : ethyl acetate with a ratio 1 : 1 was added and DMF was removed extracting with 2 x 30 mL of aqueous saturated solution of ammonium chloride (NH_4Cl), 2 x 30 mL of NaHCO_3 saturated solution and finally 30 mL of brine. The organic layer was dried with Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure. The obtained residue was purified by chromatography flash using a gradient from 0% to 10% of ethyl acetate in hexane to give pure methylated product (**67**) as a white solid (154.9 mg, 0.21 mmol, 62%, 2 steps).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) $\delta = 7.38\text{-}7.29$ (m, 5H, Ar), 5.14 (d, $J = 12.3$, 1H), 5.08 (d, $J = 12.3$, 1H), 4.97 (s, 1H), 4.72 (d, $J = 2.0$, 1H), 4.59 (s, 1H), 4.15-4.09 (dd, $J = 5.8$, $J = 12.7$, 1H), 4.11 (s, 1H), 3.77-3.69 (m, 1H), 3.53 (s, 3H, O- CH_3), 3.08 (dd, $J = 4.8$, $J = 11.4$, 1H), 3.01 (dt, $J = 4.5$, $J = 11.1$, 1H), 2.96 (dd, $J = 6.4$, $J = 9.9$, 1H), 2.27 (d, $J = 12.3$, 1H), 2.17 (dt, $J = 3.1$, $J = 12.3$, 1H), 1.94-1.80 (m, 2H), 1.73-1.63 (m, 3H), 1.63-1.57 (m, 2H), 1.48-1.42 (m, 1H), 1.42-1.38 (m, 2H), 1.35-1.28 (m, 4H), 1.27-1.14 (m, 4H), 1.23 (d, $J = 6.3$, 3H), 1.12-0.96 (m, 2H), 0.88-0.83 (m, 1H), 0.66 (m, 1H), 1.67, 1.54, 1.37, 0.93, 0.90, 0.79, 0.74, 0.73 (all s, 24H, 8 \times CH_3) ; $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) $\delta = 175.93$, 150.70, 136.62, 128.62, 128.37, 128.18, 109.72, 109.11, 99.65, 88.92, 83.89, 78.56, 76.42, 65.85, 64.66, 59.60, 56.69, 55.61, 50.65, 49.58, 47.08, 42.51, 40.79, 39.29, 38.33, 37.08, 37.01, 32.26, 28.40, 28.27, 26.61,

25.67, 19.51, 17.65, 16.39, 16.31, 15.96, 14.81 ; $[\alpha]_D = -14.8$ (c = 0.21, CHCl₃). HRMS (Bodley) m/z 747.5194 calculated for C₄₇H₇₁O₇ [M+H]⁺ found 747.5204.

Synthesis of (68)

To a solution of (67) (128.0 mg, 0.17 mmol) in anhydrous DCM (2 mL) and MeOH (4 mL), p-TsOH (33.1 mg, 0.17 mmol) was added and the mixture was stirred for 4 h 30 min. The acid was neutralized with Et₃N (26.7 μ L) and the solvent was evaporated under reduced pressure. TLC (CHCl₃ : MeOH, 95 : 5) showed the conversion (R_f = 0.40). The crude product was purified by flash chromatography normal phase using a gradient from 0% to 2% of MeOH in CHCl₃ to give pure product (68) as a white solid (91.7 mg, 0.13 mmol, 76%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 7.37-7.27 (m, 5H, Ar), 5.13 (d, J = 12.3, 1H), 5.07 (d, J = 12.3, 1H), 4.77 (s, 1H), 4.71 (s, 1H), 4.58 (s, 1H), 3.93 (s, 1H), 3.87-3.80 (m, 1H), 3.80-3.71 (m, 1H), 3.55 (s, 3H, O-CH₃), 3.10-2.96 (m, 3H), 2.79 (s, 2H), 2.26 (d, J = 12.4, 1H), 2.16 (dt, J = 3.3, J = 11.6, 1H), 1.93-1.79 (m, 2H), 1.76-1.68 (m, 1H), 1.64-1.52 (m, 3H), 1.47-1.13 (m, 12H), 1.27 (d, J = 6.3, 3H), 1.12-0.95 (m, 2H), 0.85-0.80 (m, 1H), 0.63 (m, 1H), 1.67, 0.92, 0.86, 0.77, 0.73, 0.70 (all s, 6 \times CH₃) ; ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ = 175.91, 150.63, 136.56, 128.57, 128.33, 128.14, 109.70, 102.01, 89.48, 83.72, 71.56, 71.50, 67.27, 65.81, 60.89, 56.63, 55.56, 50.59, 49.53, 47.02, 42.45, 40.73, 39.10, 38.72, 38.26, 37.02, 36.96, 34.35, 32.19, 30.67, 29.64, 28.25, 25.60, 25.52, 20.96, 19.46, 18.34, 17.91, 16.30, 16.22, 15.90, 14.75 ; $[\alpha]_D = -20.3$ (c = 0.35, CHCl₃). HRMS (Bodley) m/z 707.4881 calculated for C₄₄H₆₇O₇ [M+H]⁺ found 707.4877.

Synthesis of (42)

A cooled solution of (68) (91.7 mg, 0.13 mmol) in anhydrous ethyl acetate (2.6 mL) (ice/water bath) was bubbled under H₂ atmosphere and stirred for 30 minutes at 0°C. Then palladium on activated charcoal (10.8 mg) was allowed to be added. The mixture was alternately bubbled at 0°C each 2 h for the rest of the day before allowing to continue stirring under H₂ atmosphere without bubbling overnight. Next day, the reaction was stopped by filtrating Pd/C on C18 cartridge (1 g) and the solvent was evaporated under reduced pressure. TLC (CHCl₃ : MeOH, 95 : 5) indicate R_f = 0.35 for

the desired product which was purified by flash chromatography normal phase with a gradient from 0% to 2% of MeOH in CHCl₃ to obtain 39.8 mg of pure product (**42**) as a white solid. 35.0 mg of pure starting material (**65**) were collected too. (39.8 mg, 0.065 mmol, 50%, 80% of reacted product).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 4.79 (s, 1H), 4.73 (s, 1H), 4.60 (s, 1H), 3.95 (s, 1H), 3.88-3.81 (dd, J = 3.0, J = 9.1, 1H), 3.81-3.72 (m, 1H), 3.56 (s, 3H, O-CH₃), 3.10-2.94 (m, 3H), 2.26 (d, J = 12.2, 1H), 2.17 (dt, J = 3.1, J = 12.2, 1H), 2.02-1.89 (m, 2H), 1.79-1.71 (m, 1H), 1.65-1.55 (m, 3H), 1.53-1.37 (m, 5H), 1.21-1.13 (m, 3H), 1.12-0.99 (m, 2H), 0.86 (m, 1H), 0.66 (m, 1H), 1.68, 0.96, 0.91, 0.87, 0.80, 0.71 (all s, 6 \times CH₃); **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ = 181.67, 150.61, 109.80, 102.01, 89.60, 83.85, 71.62, 71.56, 67.32, 60.99, 56.52, 55.61, 50.58, 49.41, 47.06, 42.54, 40.81, 39.16, 38.76, 38.52, 37.05, 29.84, 28.30, 25.60, 20.99, 19.52, 18.37, 17.93, 16.33, 16.26, 16.17, 14.81; $[\alpha]_D = -33.9$ (c = 0.18, CHCl₃). HRMS (Bodley) m/z 615.4266 calculated for C₃₇ H₅₉ O₇ [M-H]⁻ found 615.4288.

RÉFÉRENCES

- Al-Warhi, Tarfah I., Hassan M. A. Al-Hazimi et Ayman El-Faham. 2012. «Recent development in peptide coupling reagents». *Journal of Saudi Chemical Society*, vol. 16, no 2, p. 97-116.
- Alsarraf, J., P. Gormand, J. Legault, M. Mihoub et A. Pichette. 2020. «Synthesis of a first-generation l-rhamnose dendron». *Tetrahedron Letters*, vol. 61, no 14.
- Antonysamy, Mary A., Mariana I. Nelson, Richard Walsh, Nadine C. Ottoson, Blaine Rathmann et William Grossman. 2013. «A Novel Mechanism for Recognition of a Small Molecule Carbohydrate Immunotherapeutic by Human Myeloid Cells: Potential for Modulation of Efficacy in The Clinic». *Frontiers in immunology*, vol. 4.
- Bah, C. S., E. F. Fang, T. B. Ng, S. Mros, M. McConnell et D. Bekhit Ael. 2011. «Purification and characterization of a rhamnose-binding chinook salmon roe lectin with antiproliferative activity toward tumor cells and nitric oxide-inducing activity toward murine macrophages». *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 59, no 10, p. 5720-5728.
- Bhat, M. A., A. Mujib, A. Junaid et Mahmooduzzafar. 2010. «In vitro regeneration of *Solanum nigrum* with enhanced solasodine production». *Biologia Plantarum*, vol. 54, no 4, p. 757-760.
- Biron-Pain, K., A. A. Grosset, F. Poirier, L. Gaboury et Y. St-Pierre. 2013. «Expression and functions of galectin-7 in human and murine melanomas». *PLoS ONE*, vol. 8, no 5, p. e63307.
- Bodley, A.; Liu, F. L.; Israel, M.; Seshadri, R.; Koseki, Y.; Giuliani, F. C.; Kirschenbaum, S.; Silber, R. and Potmesil, M. 1989. «DNA Topoisomerase II-mediated Interaction of Doxorubicin and Daunorubicin Congeners with DNA». *Cancer Research*, vol. 49, p. 5969-5978.
- Carlson, Coby B., Patricia Mowery, Robert M. Owen, Emily C. Dykhuizen et Laura L. Kiessling. 2007. «Selective Tumor Cell Targeting Using Low-affinity, Multivalent Interactions». *ACS Chemical Biology*, vol. 2, no 2, p. 119-127.

- Carneiro, R. F., C. S. Teixeira, A. A. de Melo, A. S. de Almeida, B. S. Cavada, O. V. de Sousa, B. A. da Rocha, C. S. Nagano et A. H. Sampaio. 2015. «L-Rhamnose-binding lectin from eggs of the *Echinometra lucunter*: Amino acid sequence and molecular modeling». *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 78, p. 180-188.
- Chabner, Bruce A. and Roberts Jr, Thomas G. . 2005. «Chemotherapy and the war on cancer.». *Nature*, vol. 5, no 1, p. 65-72.
- Chen, C. T., V. D. Pawar, Y. S. Munot, C. C. Chen et C. J. Hsu. 2005. «Diethylene glycol ether-linked 3,4,5-trihydroxybenzamides as triply branched dendritic anchors to CdSe/ZnS core/shell type nanoparticles: potential hydrophilic fluorescent probes». *Chemical Communications (Camb)*, no 19, p. 2483-2485.
- Cohen, Seymour S. . 1976. «Synthesis and the Lethality of Bleomycin in Bacteria». *Cancer Research*, vol. 36, no 8, p. 2768-2774.
- Cui, Changzhi, Xuesen Wen, Min Cui, Jian Gao, Bin Sun et Lou Hongxiang. 2012. «Synthesis of solasodine glycoside derivatives and evaluation of their cytotoxic effects on human cancer cells». *Drug Discoveries & Therapeutics*, vol. 6, no 1, p. 9-17.
- Cyr, Charley, et Sonia Dubé (2017). Compte rendu de l'examen régional par des pairs sur l'évaluation de la pêche au concombre de mer des eaux côtières du Québec. Secrétariat canadien de consultation scientifique (SCCS). Mont-Joli, QC., Pêches et Océans Canada: 8 p
- Das, M., C. Mohanty et SK. Sahoo. 2009. «Ligand-Based Targeted Therapy for Cancer Tissue». *Expert opinion on drug delivery*, vol. 6, no 3, p. 285-304.
- Daste, A., C. Chakiba, C. Domblides, M. Gross-Goupil, A. Quivy, A. Ravaud et P. Soubeyran. 2016. «Targeted therapy and elderly people: A review». *European Journal of Cancer*, vol. 69, p. 199-215.

- Deng, C., B. Pan et O. A. O'Connor. 2013. «Brentuximab vedotin». *Clinical Cancer Research*, vol. 19, no 1, p. 22-27.
- Deniaud, D., K. Julienne et S. G. Gouin. 2011. «Insights in the rational design of synthetic multivalent glycoconjugates as lectin ligands». *Organic and Biomolecular Chemistry*, vol. 9, no 4, p. 966-979.
- Donehower, R. C.; Rowinsky E. K.; Grochow L. B.; Longnecker S. M. and Ettinger D. S. 1987. «Phase I trial of taxol in patients with advanced cancer.». *Cancer Treatments Reports*, vol. 71, no 12, p. 1171-1177.
- Farber, S., Diamond, L. K., Mercer, R. D., Sylvester, R. F. and Wolff, J. A. . 1948. «Temporary remissions in acute leukemia in children produced by folic acid antagonist, 4-aminopteroyl-glutamic acid.». *The New England Journal of Medicine*, vol. 738, p. 787–793.
- Fasting, C., C. A. Schalley, M. Weber, O. Seitz, S. Hecht, B. Kokschi, J. Dervedde, C. Graf, E. W. Knapp et R. Haag. 2012. «Multivalency as a chemical organization and action principle». *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 51, no 42, p. 10472-10498.
- Forde, P. M., R. J. Kelly et J. R. Brahmer. 2014. «New strategies in lung cancer: translating immunotherapy into clinical practice». *Clinical Cancer Research*, vol. 20, no 5, p. 1067-1073.
- Fujita, M., G. Kohanbash, W. Fellows-Mayle, R. L. Hamilton, Y. Komohara, S. A. Decker, J. R. Ohlfest et H. Okada. 2011. «COX-2 blockade suppresses gliomagenesis by inhibiting myeloid-derived suppressor cells». *Cancer Research*, vol. 71, no 7, p. 2664-2674.
- Gauthier, C., J. Legault, K. Girard-Lalancette, V. Mshvildadze et A. Pichette. 2009a. «Haemolytic activity, cytotoxicity and membrane cell permeabilization of semi-synthetic and natural lupane- and oleanane-type saponins». *Bioorganic & Medical Chemistry*, vol. 17, no 5, p. 2002-2008.
- Gauthier, C., J. Legault, M. Lebrun, P. Dufour et A. Pichette. 2006. «Glycosidation of lupane-type triterpenoids as potent in vitro cytotoxic agents». *Bioorganic & Medical Chemistry*, p. 6713-6725.

- Gauthier, Charles, Jean Legault, Serge Lavoie, Simon Rondeau, Samuel Tremblay et André Pichette. 2009b. «Synthesis and Cytotoxicity of Bidesmosidic Betulin and Betulinic Acid Saponins». *Journal of Natural Products*, vol. 72, no 1, p. 72-81.
- Gottlieb, Hugo E., Vadim Kotlyar et Abraham Nudelman. 1997. «NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities». *Journal of Organic Chemistry*, vol. 62, no 21, p. 7512-7515.
- Hattori, H., E. Kaufmann, H. Miyatake-Ondozabal, R. Berg et K. Gademann. 2018. «Total Synthesis of Tiacumicin A. Total Synthesis, Relay Synthesis, and Degradation Studies of Fidaxomicin (Tiacumicin B, Lipiarmycin A3)». *Journal of Organic Chemistry*, vol. 83, no 13, p. 7180-7205.
- Herailh, Christopher. 2019. «Hémisynthèse de Glycosides d'Uvaol». Saguenay, Université du Québec à Chicoutimi, 331 p.
- Himo, Fahmi, Timothy Lovell, Robert Hilgraf, Vsevolod V. Rostovtsev, Louis Noodleman, K. Barry Sharpless et Valery V. Fokin. 2005. «Copper(I)-Catalyzed Synthesis of Azoles. DFT Study Predicts Unprecedented Reactivity and Intermediates.». *Journal of American Chemical Society*, vol. 127, p. 210-216.
- Ikeda, Tsuyoshi, Hidetsugu Tsumagari, Takehiko Honbu et Toshihiro Nohara. 2003. «Cytotoxic Activity of Steroidal Glycosides from Solanum Plants». *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 26, no 8, p. 1198-1201.
- Jost, Gilles. 2017. «Synthèse de Dérivés Glycosidiques de Type Ursane et Evaluation de Leur Cytotoxicité». Saguenay, Université du Québec à Chicoutimi, 184 p.
- Kadam, R. U., M. Bergmann, M. Hurley, D. Garg, M. Cacciarini, M. A. Swiderska, C. Nativi, M. Sattler, A. R. Smyth, P. Williams, M. Camara, A. Stocker, T. Darbre et J. L. Reymond. 2011. «A glycopeptide dendrimer inhibitor of the galactose-specific lectin LecA and of Pseudomonas aeruginosa biofilms». *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 50, no 45, p. 10631-10635.

- Kang, Hee Chol (1998). Conjugates of sulforhodamine fluorophores with enhanced fluorescence. Inc. Molecular Probes. USA
- Karmakar, P., K. Lee, S. Sarkar, K. A. Wall et S. J. Suheck. 2016. «Synthesis of a Liposomal MUC1 Glycopeptide-Based Immunotherapeutic and Evaluation of the Effect of I-Rhamnose Targeting on Cellular Immune Responses». *Bioconjugate Chemistry*, vol. 27, no 1, p. 110-120.
- Kaskiw, M. J., M. L. Tassotto, M. Mok, S. L. Tokar, R. Pycko, J. Th'ng et Z. H. Jiang. 2009. «Structural analogues of diosgenyl saponins: synthesis and anticancer activity». *Bioorganic & Medical Chemistry*, p. 7670-7679.
- Katz, J., J. E. Janik et A. Younes. 2011. «Brentuximab Vedotin (SGN-35)». *Clinical Cancer Research*, vol. 17, no 20, p. 6428-6436.
- Kim, M. K., C. O. Sung, I. G. Do, H. K. Jeon, T. J. Song, H. S. Park, Y. Y. Lee, B. G. Kim, J. W. Lee et D. S. Bae. 2011. «Overexpression of Galectin-3 and its clinical significance in ovarian carcinoma». *International Journal of Clinical Oncology*, vol. 16, no 4, p. 352-358.
- Kolomiets, E., M. A. Swiderska, R. U. Kadam, E. M. Johansson, K. E. Jaeger, T. Darbre et J. L. Reymond. 2009. «Glycopeptide dendrimers with high affinity for the fucose-binding lectin LecB from *Pseudomonas aeruginosa*». *Chemistry Europe*, vol. 4, no 4, p. 562-569.
- Kulkarni, R. N.; Baskaran, K. and Jhang , T. 2016. «Breeding medicinal plant, periwinkle [*Catharanthus roseus* (L) G. Don]: a review». *Plant Genetic Resources*, vol. 14, no 4, p. 283-302.
- Kumar, P., A. S. Bhadauria, A. K. Singh et S. Saha. 2018. «Betulinic acid as apoptosis activator: Molecular mechanisms, mathematical modeling and chemical modifications». *Life Sciences*, vol. 209, p. 24-33.
- Kuo, P. L., J. Y. Hung, S. K. Huang, S. H. Chou, D. E. Cheng, Y. J. Jong, C. H. Hung, C. J. Yang, Y. M. Tsai, Y. L. Hsu et M. S. Huang. 2011. «Lung cancer-derived galectin-1 mediates dendritic cell

energy through inhibitor of DNA binding 3/IL-10 signaling pathway». *Journal of Immunology*, p. 1521-1530.

Labib, R. M., R. Srivedavyasari, F. S. Youssef et S. A. Ross. 2018. «Secondary metabolites isolated from *Pinus roxburghii* and interpretation of their cannabinoid and opioid binding properties by virtual screening and in vitro studies». *Saudi Pharmaceutical Journal*, vol. 26, no 3, p. 437-444.

Labrie, M., M. Vladoiu, B. G. Leclerc, A. A. Grosset, L. Gaboury, J. Stagg et Y. St-Pierre. 2015. «A Mutation in the Carbohydrate Recognition Domain Drives a Phenotypic Switch in the Role of Galectin-7 in Prostate Cancer». *PLoS ONE*, vol. 10, no 7 p. e0131307.

Smith L., S. Bryan, P. De, R. Rahal, A. Shaw, D. Turner, H. K. Weir, R. Woods. 2018. *Comité consultatif des statistiques canadiennes sur le cancer* (Toronto, ON).

Lee, Yung-Kuo, Tsung-Hsien Lin, Chuan-Fa Chang et Yu-Li Lo. 2013. «Galectin-3 Silencing Inhibits Epirubicin-Induced ATP Binding Cassette Transporters and Activates the Mitochondrial Apoptosis Pathway via β -Catenin/GSK-3 β Modulation in Colorectal Carcinoma». *PLoS ONE*, vol. 8, no 11.

Li, M. H., W. L. Yang, J. Qian, C. C. Wang et S. K. Fu. 2006. «Synthesis of polymerizable amphiphiles with critical packing parameters systematically varied». *Polymers for Advanced Technologies*, vol. 17, p. 562-570.

Liu, H., J. X. Liao, Y. Hu, Y. H. Tu et J. S. Sun. 2016. «A Highly Efficient Approach To Construct (epi)-Podophyllotoxin-4-O-glycosidic Linkages as well as Its Application in Concise Syntheses of Etoposide and Teniposide». *Organic Letters*, vol. 18, no 6, p. 1294-1297.

Liu, W. Y., S. S. Liou, T. Y. Hong et I. M. Liu. 2017. «Protective Effects of Hesperidin (Citrus Flavonone) on High Glucose Induced Oxidative Stress and Apoptosis in a Cellular Model for Diabetic Retinopathy». *Nutrients*, vol. 9, no 12.

- Liu, X., I. Jutooru, P. Lei, K. Kim, S. O. Lee, L. K. Brents, P. L. Prather et S. Safe. 2012. «Betulinic acid targets YY1 and ErbB2 through cannabinoid receptor-dependent disruption of microRNA-27a:ZBTB10 in breast cancer». *Molecular Cancer Therapeutics*, vol. 11, no 7, p. 1421-1431.
- Long, D. E., P. Karmakar, K. A. Wall et S. J. Sucheck. 2014. «Synthesis of alpha-L-rhamnosyl ceramide and evaluation of its binding with anti-rhamnose antibodies». *Bioorganic & Medical Chemistry*, vol. 22, no 19, p. 5279-5289.
- Longley, D. B., D. P. Harkin et P. G. Johnston. 2003. «5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies». *Nature Reviews Cancer*, vol. 3, p. 330-338.
- Lown, J. W. 1993. «Discovery and development of anthracycline antitumour antibiotics». *Chemical Society Reviews*, vol. 22, no 3, p. 1-47.
- Lv, L., L. Zheng, D. Dong, L. Xu, L. Yin, Y. Xu, Y. Qi, X. Han et J. Peng. 2013. «Dioscin, a natural steroid saponin, induces apoptosis and DNA damage through reactive oxygen species: a potential new drug for treatment of glioblastoma multiforme». *Food and Chemical Toxicology*, vol. 59, p. 657-669.
- Marques, J. V., K. W. Kim, C. Lee, M. A. Costa, G. D. May, J. A. Crow, L. B. Davin et N. G. Lewis. 2013. «Next generation sequencing in predicting gene function in podophyllotoxin biosynthesis». *Journal of Biological Chemistry*, vol. 288, no 1, p. 466-479.
- Masson, Jean-Yves. 1997. «Reparation de l'ADN apurinique/aprimidinique ou endommage par la bleomycine chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*». Thèse. Québec, Université Laval.
- Matthews, David J., et Mary E. Gerritsen. 2010. «Targeting protein kinases for cancer therapy». Hoboken, New Jersey, John Wiley & Sons, Inc.
- MedlinePlus. 2019. «Cyclophosphamide». En ligne. <<https://medlineplus.gov/druginfo/meds/a682080.html>>. Consulté le 13/05/2019.

- Mihoub, M., A. Pichette, B. Sylla, C. Gauthier et J. Legault. 2018. «Bidesmosidic betulin saponin bearing L-rhamnopyranoside moieties induces apoptosis and inhibition of lung cancer cells growth in vitro and in vivo». *PLoS ONE*, vol. 13, no 3, p. e0193386.
- Mintzer, M. A., E. L. Dane, G. A. O'Toole et M. W. Grinstaff. 2012. «Exploiting dendrimer multivalency to combat emerging and re-emerging infectious diseases». *Molecular Pharmaceutics*, vol. 9, no 3, p. 342-354.
- Nakamura, Takanori, Chieko Komori, Yun-yun Lee, Fumio Hashimoto, Shoji Yahara, Toshihiro Nohara et Akio Ejima. 1996. «Cytotoxic Activities of Solanum Steroidal Glycosides». *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 19, no 4, p. 564-566.
- National Cancer Institute, NCI. 2012. «Lomustine». En ligne. <<https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/drugs/lomustine>>. Consulté le 13/05/2019.
- Okamoto, M., S. Tsutsui, S. Tasumi, H. Suetake, K. Kikuchi et Y. Suzuki. 2005. «Tandem repeat L-rhamnose-binding lectin from the skin mucus of ponyfish, *Leiognathus nuchalis*». *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 333, no 2, p. 463-469.
- Oyelaran, O., L. M. McShane, L. Dodd et J. C. Gildersleeve. 2009. «Profiling human serum antibodies with a carbohydrate antigen microarray». *Journal of Proteome Research*, vol. 8, no 9, p. 4301-4310.
- Peng, F., P. Peng, F. Xu et R. C. Sun. 2012. «Fractional purification and bioconversion of hemicelluloses». *Biotechnology Advances*, vol. 30, no 4, p. 879-903.
- Qiu, L., X. Gong, Q. Wang, J. Li, H. Hu, Q. Wu, J. Zhang et Z. Guo. 2012. «Combining synthetic carbohydrate vaccines with cancer cell glycoengineering for effective cancer immunotherapy». *Cancer Immunology, Immunotherapy*, vol. 61, no 11, p. 2045-2054.
- Rago, Randall, Jacque Mitchen et George Wilding. 1990. «DNA Fluorometric Assay in 96-Well Tissue Culture Plates Using Hoechst 33258 after Cell Lysis by Freezing in Distilled Water». *Analytical Biochemistry*, vol. 191, p. 31-34.

- Ravulapati, S., C. Leung, N. Poddar et Y. Tu. 2017. «Immunotherapy in Squamous Cell Skin Carcinoma: A Game Changer?». *American Journal of Medicine*, vol. 130, no 5, p. e207-e208.
- Rosenberg, Barnett (1999). *Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug*, VHCA, Verlag Helvetica Chimica Acta, Zürich (Switzerland)
- Rostovtsev, V.V.; Green, L.G.; Fokin, V.V.; Sharpless, K.B. 2002. «A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective "Ligation" of Azides and Terminal Alkynes.». *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 41, no 14, p. 2596-2599.
- Saeed, M. E. M., N. Mahmoud, Y. Sugimoto, T. Efferth et H. Abdel-Aziz. 2018. «Betulinic Acid Exerts Cytotoxic Activity Against Multidrug-Resistant Tumor Cells via Targeting Autocrine Motility Factor Receptor (AMFR)». *Frontiers in Pharmacology*, vol. 9, no 481.
- Saikam, Varma, Saidulu Dara, Mahipal Yadav, Parvinder Pal Singh et Ram A. Vishwakarma. 2015. «Dimethyltin Dichloride Catalyzed Regioselective Alkylation of cis-1,2-Diols at Room Temperature». *Journal of Organic Chemistry*, vol. 80, no 24, p. 11916-11925.
- Salimi-Jeda, Ali, Soad Ghabeshi, Zeinab Gol Mohammad pour, Ehsan Ollah Jazaeri, Mehrdad Araiinejad, Farzaneh Sheikholeslami, Mohsen Abdoli, Mahdi Edalat et Asghar Abdoli. 2022. «Autophagy Modulation and Cancer Combination Therapy: A Smart Approach in Cancer Therapy». *Cancer Treatment and Research Communications*, vol. 30.
- Sarkar, S.; Lombardo, S. A.; Herner, D. N.; Talan, R. S.; Wall K. A. and Suheck S. J. 2010. «Synthesis of a Single-Molecule L-Rhamnose-Containing Three-Component Vaccine and Evaluation of Antigenicity in the Presence of Anti-L-Rhamnose Antibodies». *Journal of American Chemical Society*, vol. 132, p. 17236–17246.
- Schmidt, Richard R. 1986. «New Methods for the Synthesis of Glycosides and Oligosaccharides - Are There Alternatives to the Koenigs-Knorr Method?». *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 25, no 3, p. 212-235.

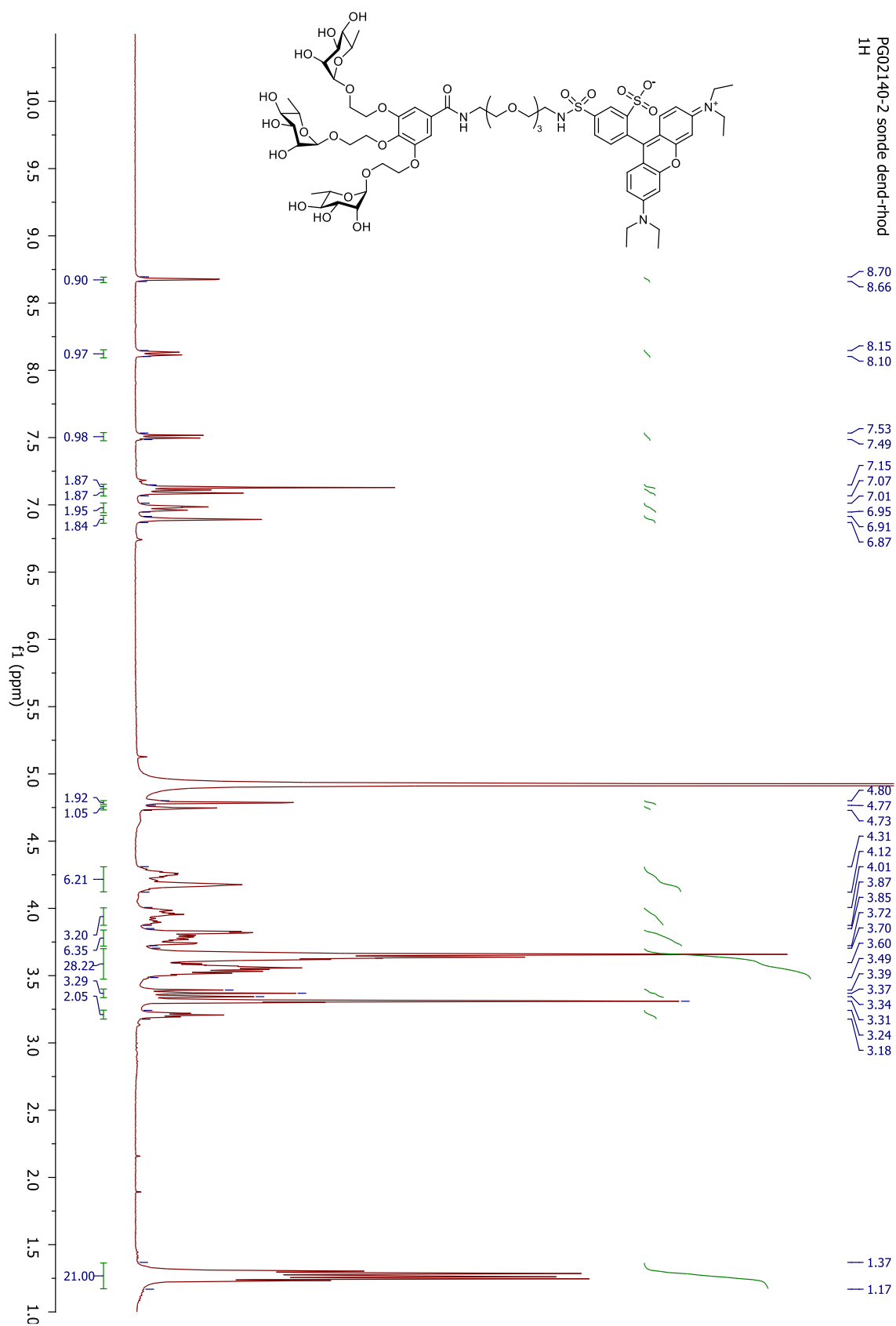
- Senter, P. D., et E. L. Sievers. 2012. «The discovery and development of brentuximab vedotin for use in relapsed Hodgkin lymphoma and systemic anaplastic large cell lymphoma». *Nature Biotechnology*, vol. 30, no 7, p. 631-637.
- Shaw, A. T., D. W. Kim, K. Nakagawa, T. Seto, L. Crino, M. J. Ahn, T. De Pas, B. Besse, B. J. Solomon, F. Blackhall, Y. L. Wu, M. Thomas, K. J. O'Byrne, D. Moro-Sibilot, D. R. Camidge, T. Mok, V. Hirsh, G. J. Riely, S. Iyer, V. Tassell, A. Polli, K. D. Wilner et P. A. Janne. 2013. «Crizotinib versus chemotherapy in advanced ALK-positive lung cancer». *New England Journal of Medicine*, vol. 368, no 25, p. 2385-2394.
- Song, Gaopeng, Hongchun Liu, Wei Zhang, Meiyu Geng et Yingxia Li. 2010. «Synthesis and biological evaluation of cytotoxic activity of novel anthracene l-rhamnopyranosides». *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, vol. 18, no 14, p. 5183-5193.
- Sun, Fei, Peiqing Zhu, Hequan Yao, Xiaoming Wu et Jinyi Xu. 2012. «A Partial Synthesis of 23-Hydroxybetulonic Acid and 23-Hydroxybetulinic Acid Starting from Betulinic Acid». *Journal of Chemical Research*, vol. 36, no 5, p. 254-257.
- Sun, L., Y. Zhao, H. Yuan, X. Li, A. Cheng et H. Lou. 2011. «Solamargine, a steroidal alkaloid glycoside, induces oncosis in human K562 leukemia and squamous cell carcinoma KB cells». *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, vol. 67, no 4, p. 813-821.
- Sylla, Balla, Serge Lavoie, Jean Legault, Charles Gauthier et André Pichette. 2019. «Synthesis, cytotoxicity and anti-inflammatory activity of rhamnose-containing ursolic and betulinic acid saponins». *RSC Advances*, vol. 9, no 68, p. 39743-39757.
- Tateno, H., Y. Shibata, Y. Nagahama, T. Hirai, M. Saneyoshi, T. Ogawa, K. Muramoto et H. Kamiya. 2002. «Tissue-specific expression of rhamnose-binding lectins in the steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*)». *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, vol. 66, no 6, p. 1427-1430.
- Vergote, I., et C. P. Leamon. 2015. «Vintafolide: a novel targeted therapy for the treatment of folate receptor expressing tumors». *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, vol. 7, no 4, p. 206-218.

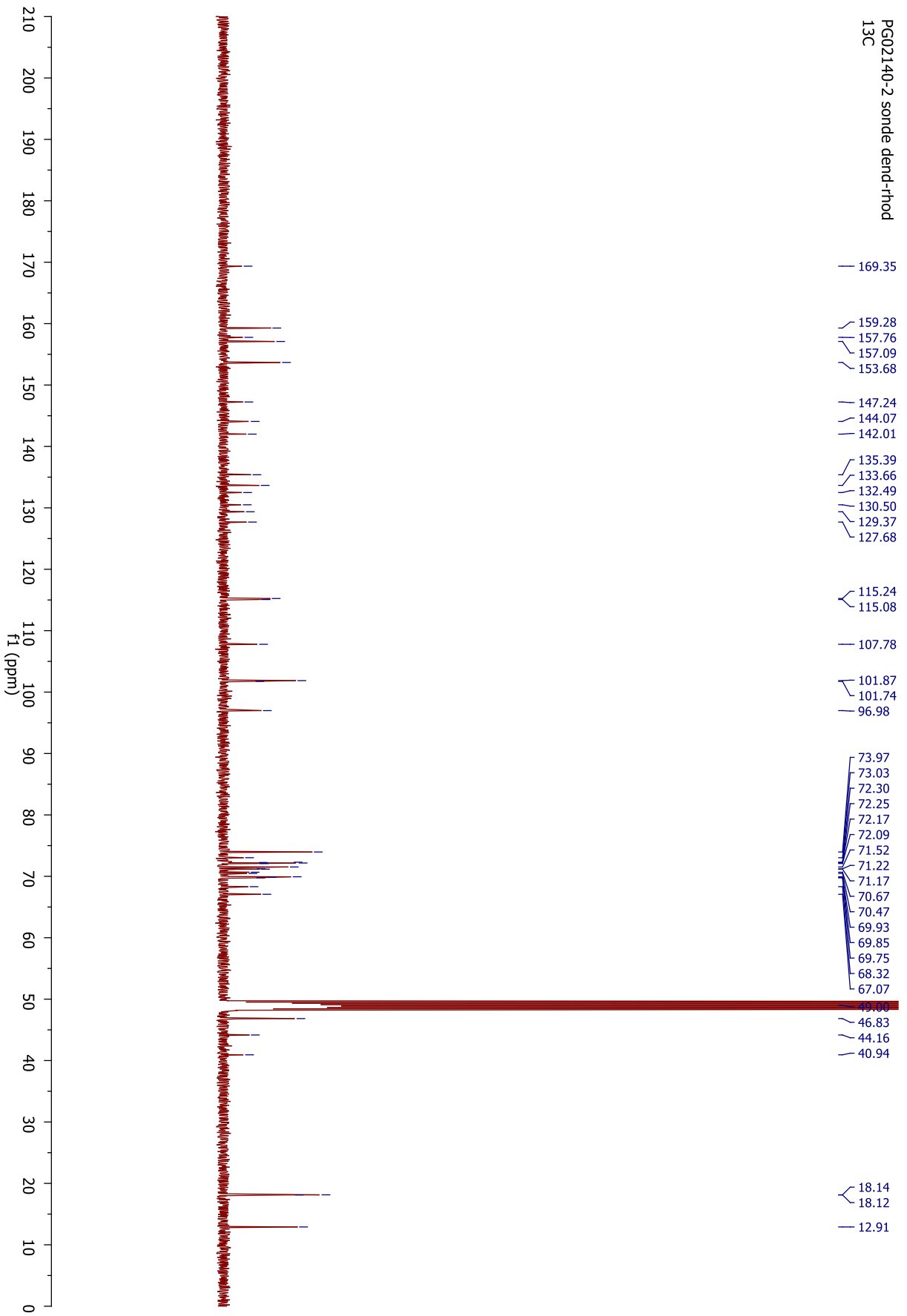
- Vidal. 2013a. «Bléomycine». En ligne. <<https://www.vidal.fr/substances/6692/bleomycine/>>. Consulté le 22/05/2019.
- 2013b. «Doxorubicine». En ligne. <<https://www.vidal.fr/substances/6769/doxorubicine/>>. Consulté le 15/05/2019.
- 2013c. «Irinotecan». En ligne. <<https://www.vidal.fr/substances/12311/irinotecan/>>. Consulté le 14/05/2019.
- 2013d. «Vinblastine». En ligne. <<https://www.vidal.fr/substances/6901/vinblastine/>>. Consulté le 15/05/2019.
- 2013e. «Vincristine». En ligne. <<https://www.vidal.fr/substances/6902/vincristine/>>. Consulté le 15/05/2019.
- 2015. «Topotécane». En ligne. <<https://www.vidal.fr/substances/17464/topotecane/>>. Consulté le 14/05/2019.
- 2017a. «Nivolumab». En ligne. <<https://www.vidal.fr/substances/24410/nivolumab/>>. Consulté le 20/05/2019.
- 2017b. «Pembrolizumab». En ligne. <<https://www.vidal.fr/substances/24415/pembrolizumab/>>. Consulté le 20/05/2019.
- 2022. «Tarceva». En ligne. <<https://www.vidal.fr/medicaments/gammes/tarceva-26865.html>>.
- Wall, M. E. and Wani, M. C. 1995. «Camptothecin and Taxol: Discovery to Clinical - Thirteenth Bruce F. Cain Memorial Award Lecture». *Cancer Research*, vol. 55, p. 753-760.

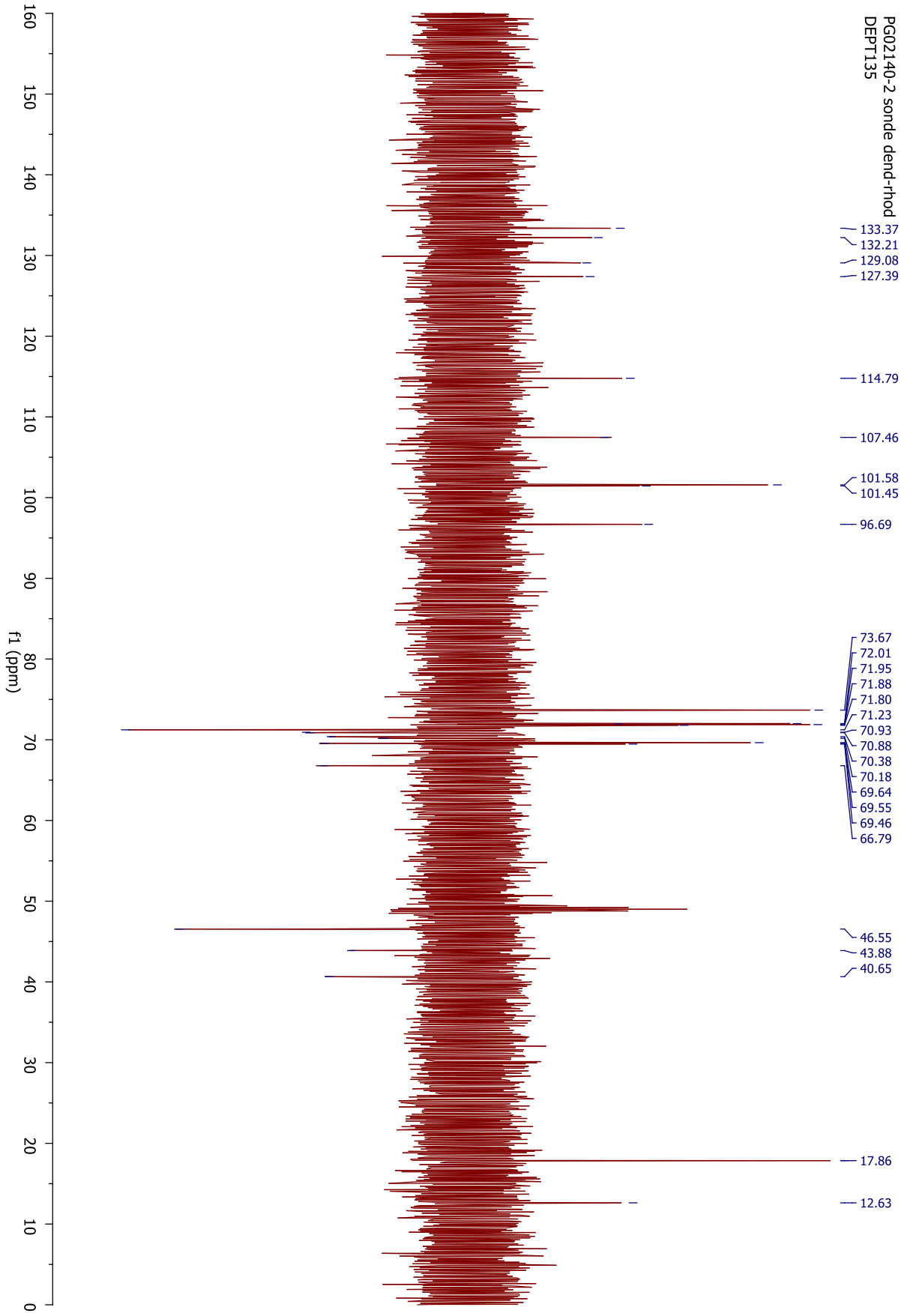
- Wang, S. L., B. Cai, C. B. Cui, H. W. LIU, C. F. Wu et X. S. Yao. 2004. «Diosgenin-3-O-alpha-L-rhamnopyranosyl-(1 --> 4)-beta-D-glucopyranoside obtained as a new anticancer agent from *Dioscorea futschauensis* induces apoptosis on human colon carcinoma HCT-15 cells via mitochondria-controlled apoptotic pathway.». *Journal of Asian Natural Products Research*, vol. 6, no 2, p. 115-125.
- Wang, Y., J. Gao, G. Gu, G. Li, C. Cui, B. Sun et H. Lou. 2011. «In situ RBL receptor visualization and its mediated anticancer activity for solasodine rhamnosides». *European Journal of Chemical Biology*, vol. 12, no 16, p. 2418-2420.
- Wang, Y., Y. Zhang et B. Yu. 2007. «The cytotoxicity of saponins correlates with their cellular internalization». *Chemistry Europe*, vol. 2, no 3, p. 288-291.
- Wicken, A. J.; Ayres, A.; Campbell, L. K. AND Knox, K. W. 1983. «Effect of Growth Conditions on Production of Rhamnose Containing Cell Wall and Capsular Polysaccharides by Strains». *Journal of Bacteriology*, vol. 153, no 1, p. 84-92.
- Wong, K and Henderson I. C. 1994. «Management of Metastatic Breast Cancer». *World Journal of Surgery*, vol. 18, p. 98-111.
- Wu, Chyuan-Chuan , Tsai-Kun Li, Lynn Farh, Li-Ying Lin, Te-Sheng Lin, Yu-Jen Yu, Tien-Jui Yen, Chia-Wang Chiang et Nei-Li Chan. 2011. «Structural Basis of Type II Topoisomerase Inhibition by the Anticancer Drug Etoposide». *Science*, vol. 333, no 6041, p. 459-462.
- Xing, J. Y., G. P. Song, J. P. Deng, L. Z. Jiang, P. Xiong, B. J. Yang et S. S. Liu. 2015. «Antitumor Effects and Mechanism of Novel Emodin Rhamnoside Derivatives against Human Cancer Cells In Vitro». *PLoS ONE*, vol. 10, no 12, p. e0144781.
- Xu, Hengfu, Bo Ren, Wei Zhao, Xiaoting Xin, Yuchao Lu, Yuxin Pei, Hai Dong et Zhichao Pei. 2016. «Regioselective mono and multiple alkylation of diols and polyols catalyzed by organotin and its applications on the synthesis of value-added carbohydrate intermediates». *Tetrahedron*, vol. 72, no 24, p. 3490-3499.

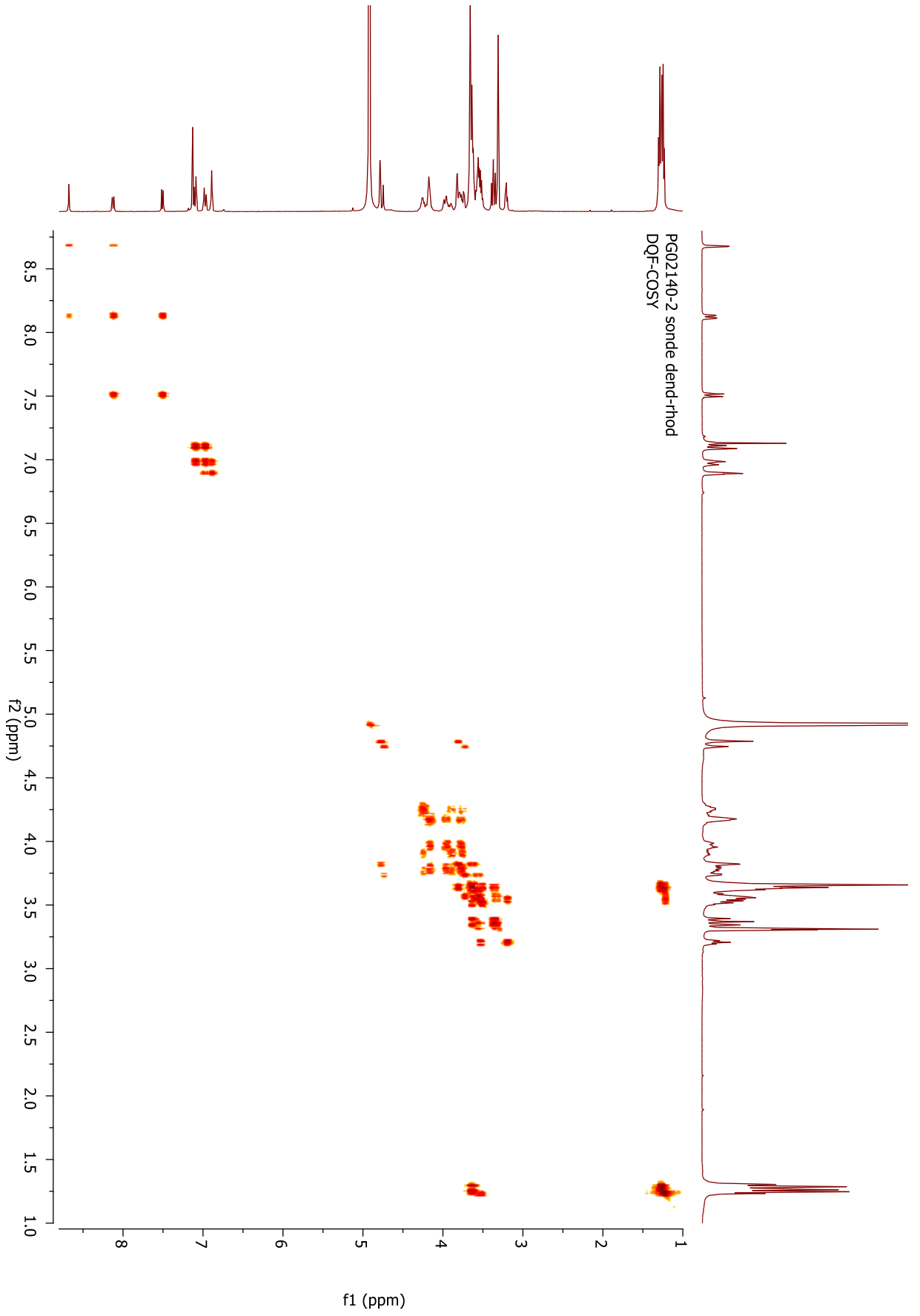
- Yau, T., X. Dan, C. C. Ng et T. B. Ng. 2015. «Lectins with potential for anti-cancer therapy». *Molecules*, vol. 20, no 3, p. 3791-3810.
- Yoon, J. A., B. G. Kim, W. J. Lee, Y. Lim, Y. Chong et J. H. Ahn. 2012. «Production of a novel quercetin glycoside through metabolic engineering of *Escherichia coli*». *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 78, no 12, p. 4256-4262.
- Yu, Z., R. Paul, C. Bhattacharya, T. C. Bozeman, M. J. Rishel et S. M. Hecht. 2015. «Structural features facilitating tumor cell targeting and internalization by bleomycin and its disaccharide». *Biochemistry*, vol. 54, no 19, p. 3100-3109.
- Yu, Z., R. M. Schmaltz, T. C. Bozeman, R. Paul, M. J. Rishel, K. S. Tsosie et S. M. Hecht. 2013. «Selective tumor cell targeting by the disaccharide moiety of bleomycin». *Journal of American Chemical Society*, vol. 135, no 8, p. 2883-2886.
- Zhang, Hao , Xi Liang, Chao Duan, Caigang Liu et Zuwei Zhao. 2014. «Galectin-3 as a Marker and Potential Therapeutic Target in Breast Cancer». *PLoS ONE*, vol. 9, no 9.
- Zheng, R. B., S. A. F. Jegouzo, M. Joe, Y. Bai, H. A. Tran, K. Shen, J. Saupe, L. Xia, M. F. Ahmed, Y. H. Liu, P. S. Patil, A. Tripathi, S. C. Hung, M. E. Taylor, T. L. Lowary et K. Drickamer. 2017. «Insights into Interactions of Mycobacteria with the Host Innate Immune System from a Novel Array of Synthetic Mycobacterial Glycans». *ACS Chemical Biology*, vol. 12, no 12, p. 2990-3002.
- Zi, C. T., D. Yang, F. W. Dong, G. T. Li, Y. Li, Z. T. Ding, J. Zhou, Z. H. Jiang et J. M. Hu. 2015. «Synthesis and antitumor activity of novel per-butyrylated glycosides of podophyllotoxin and its derivatives». *Bioorganic & Medical Chemistry*, vol. 23, no 7, p. 1437-1446.

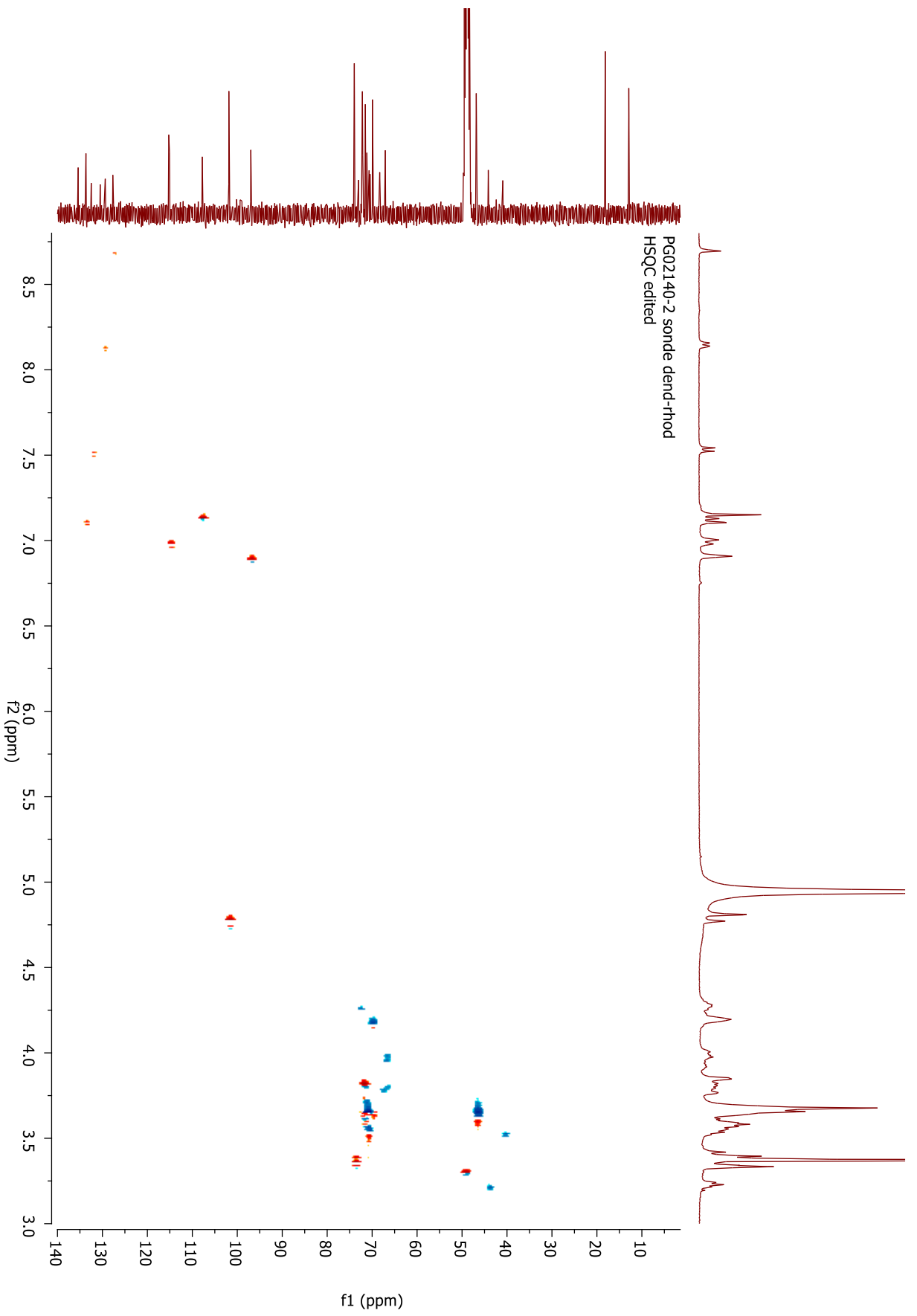
ANNEXES

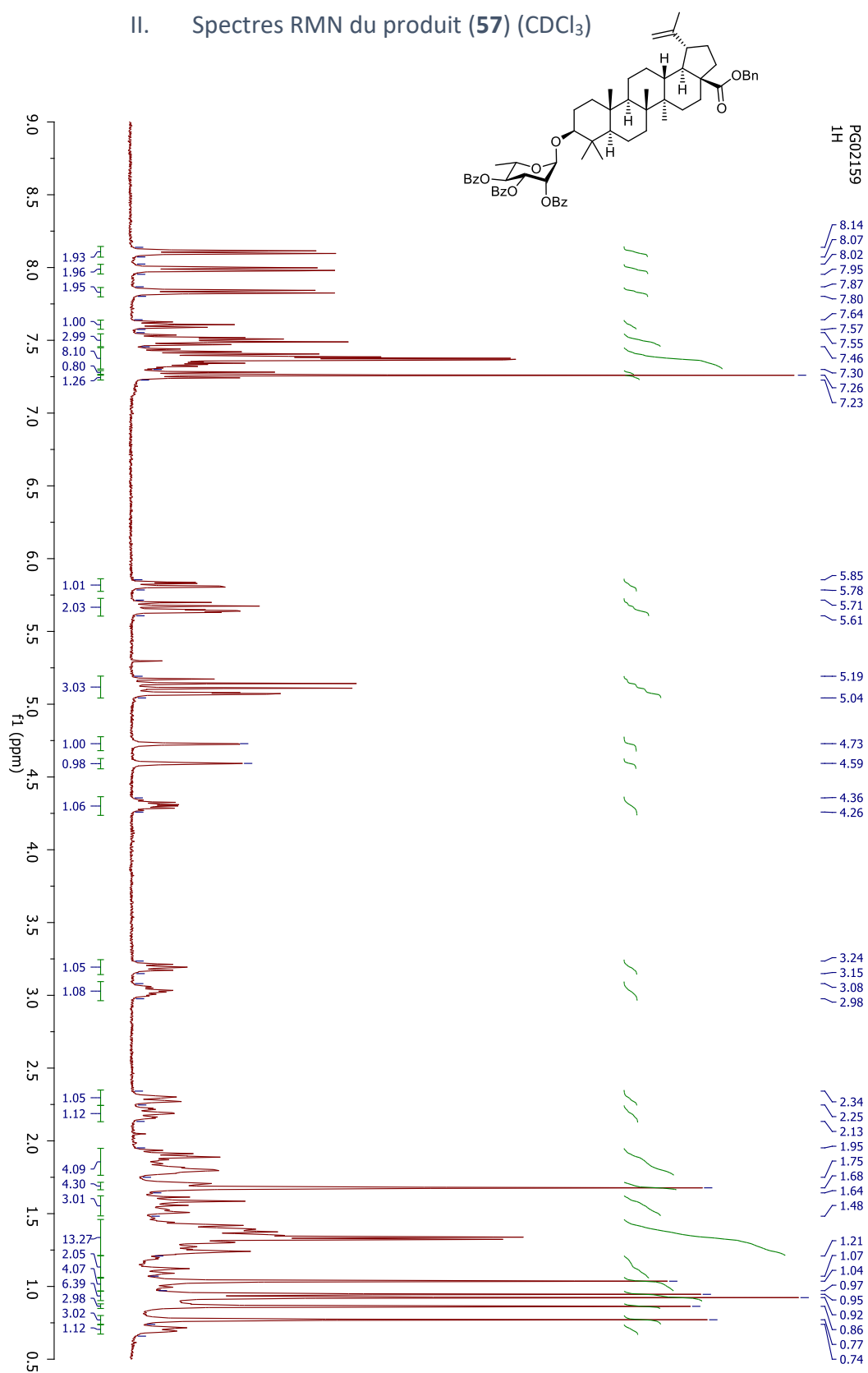
I. Spectres RMN du produit (55) (CD₃OD)

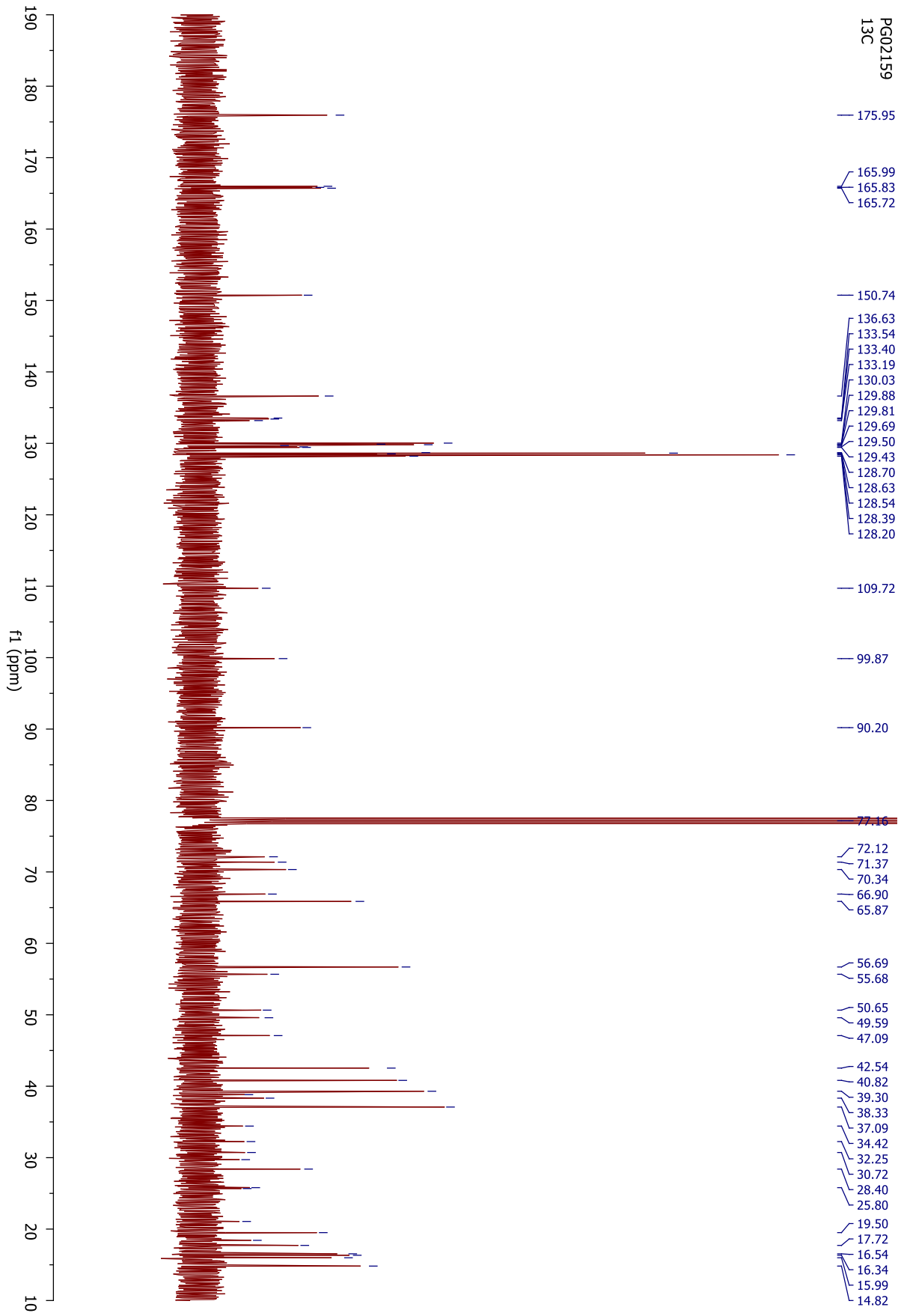


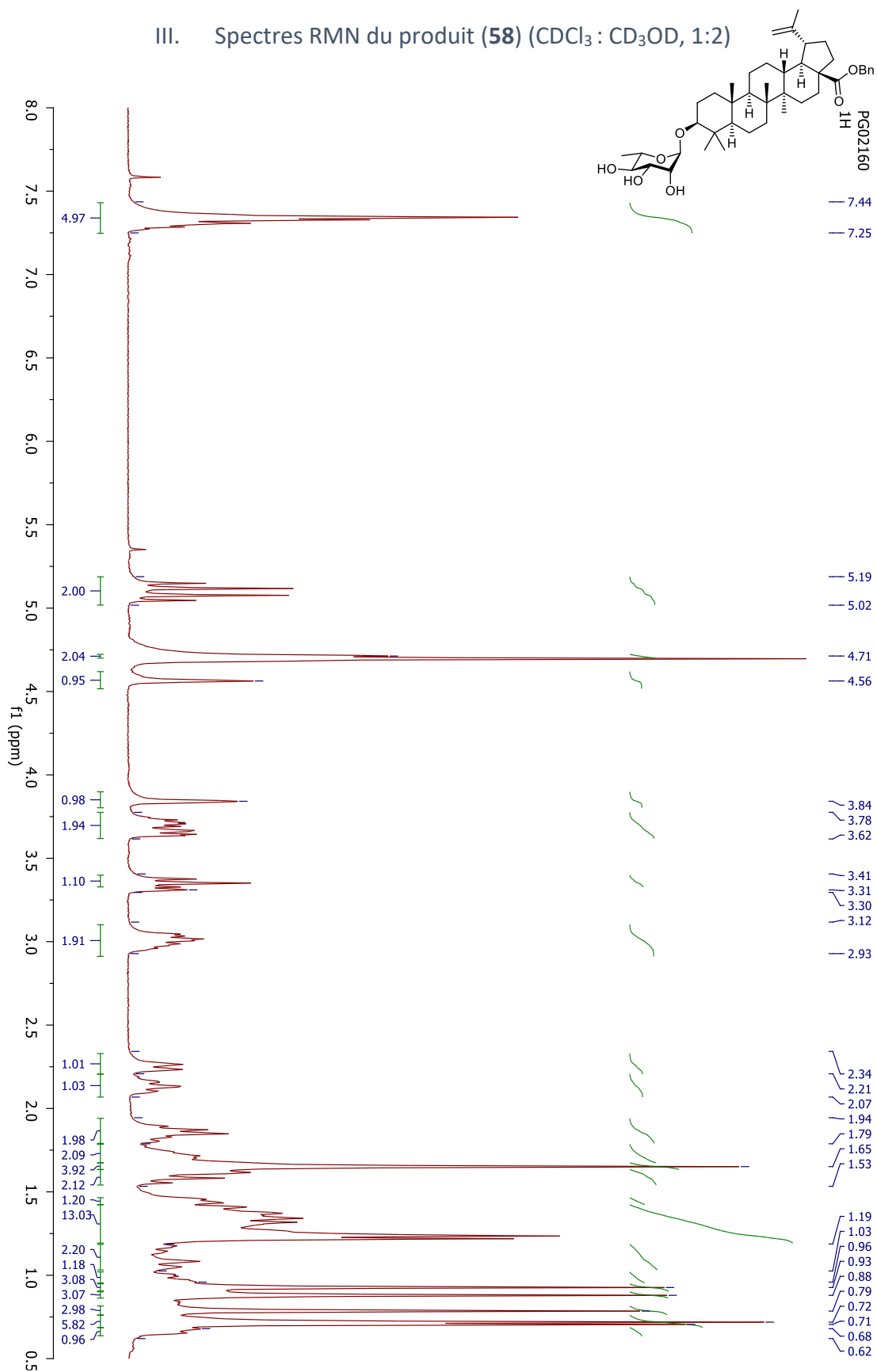


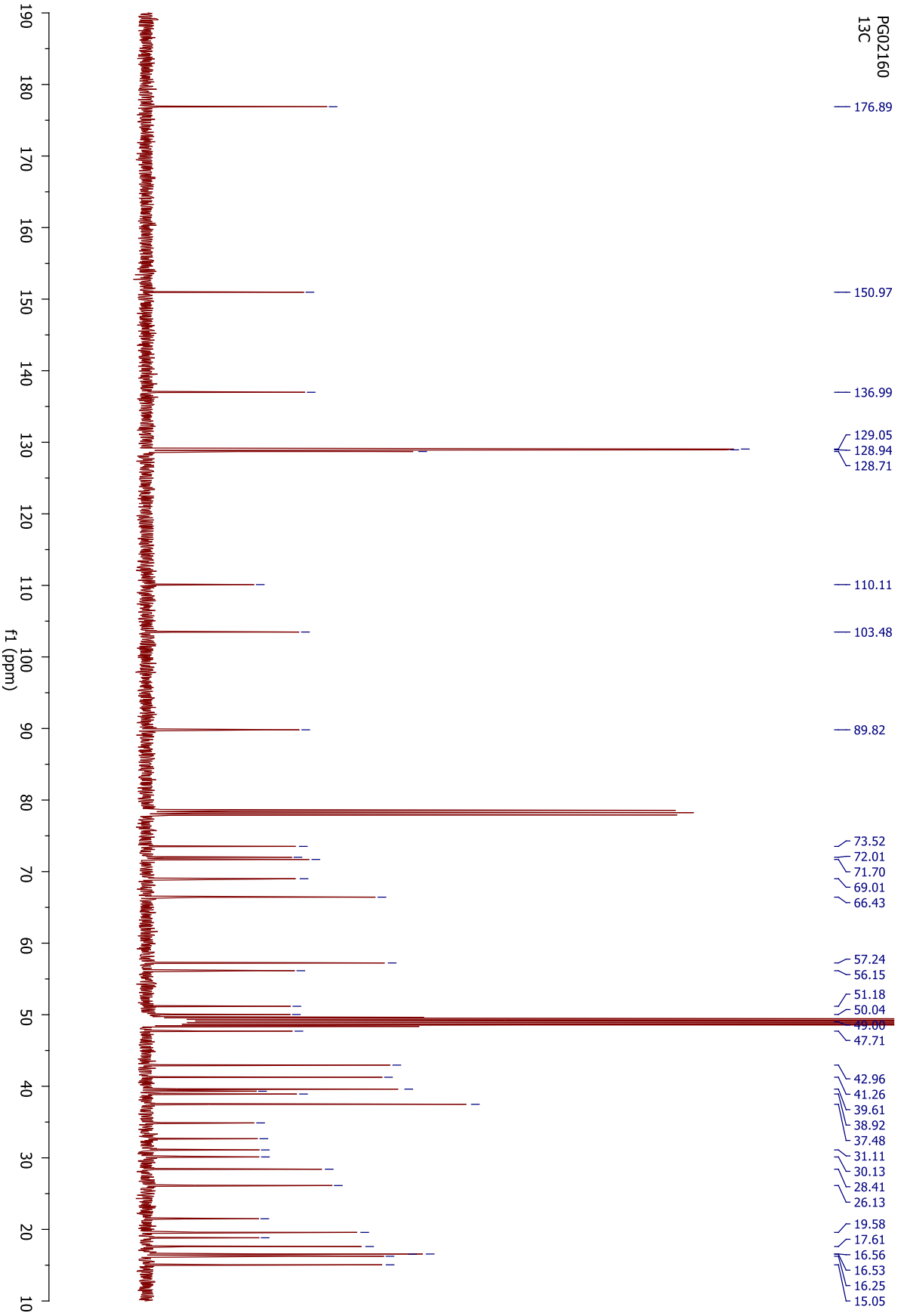


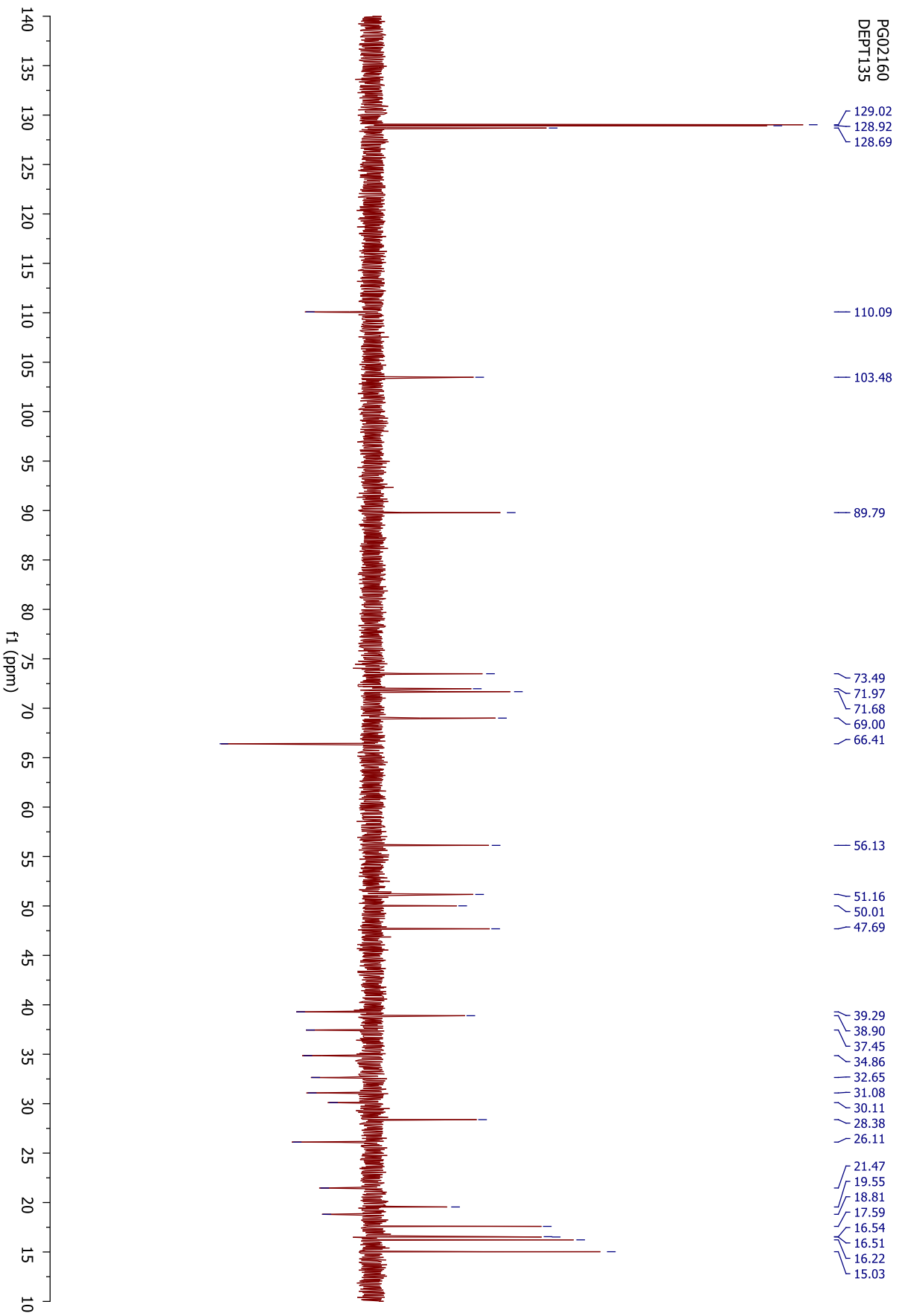


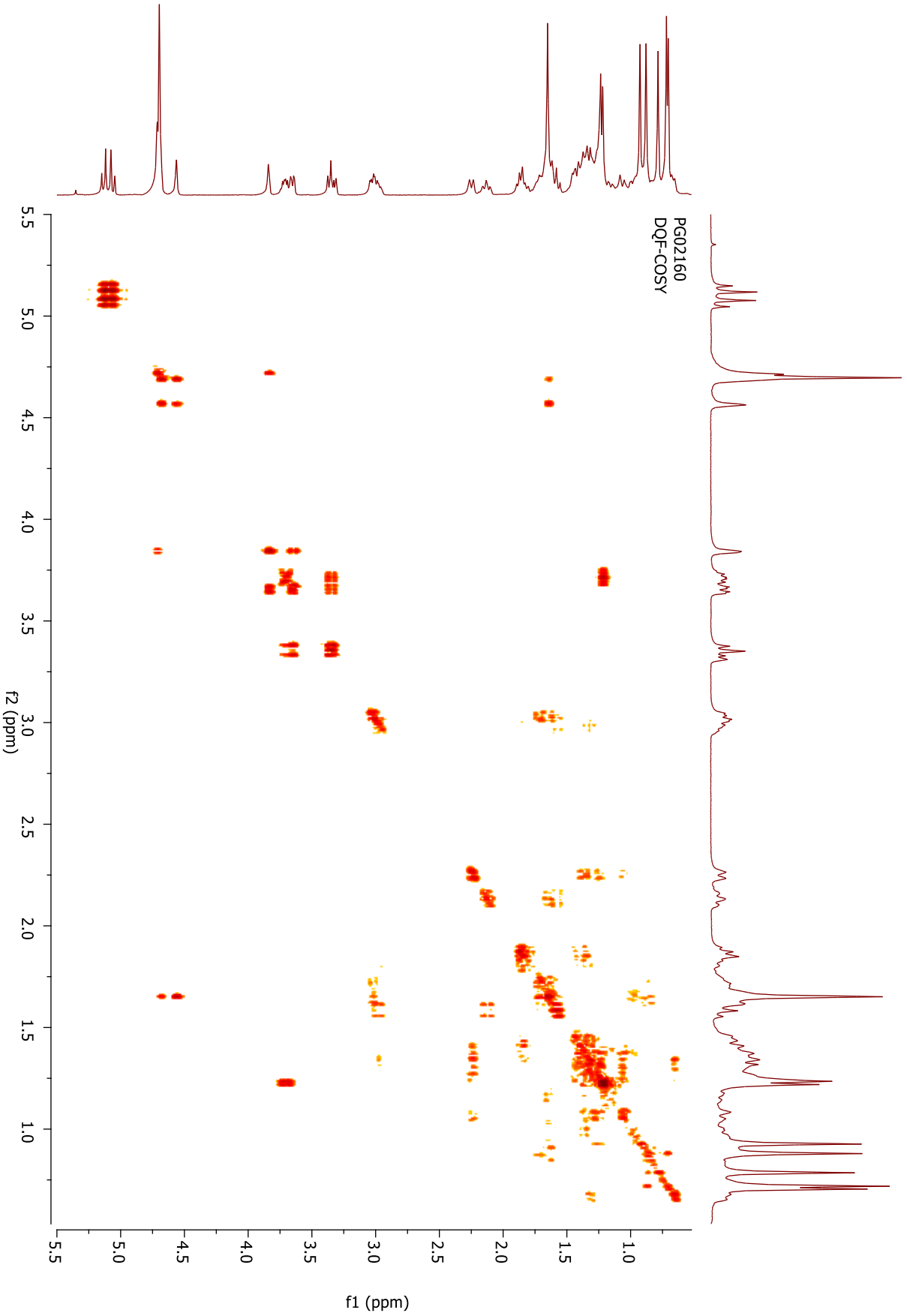
II. Spectres RMN du produit (57) (CDCl₃)

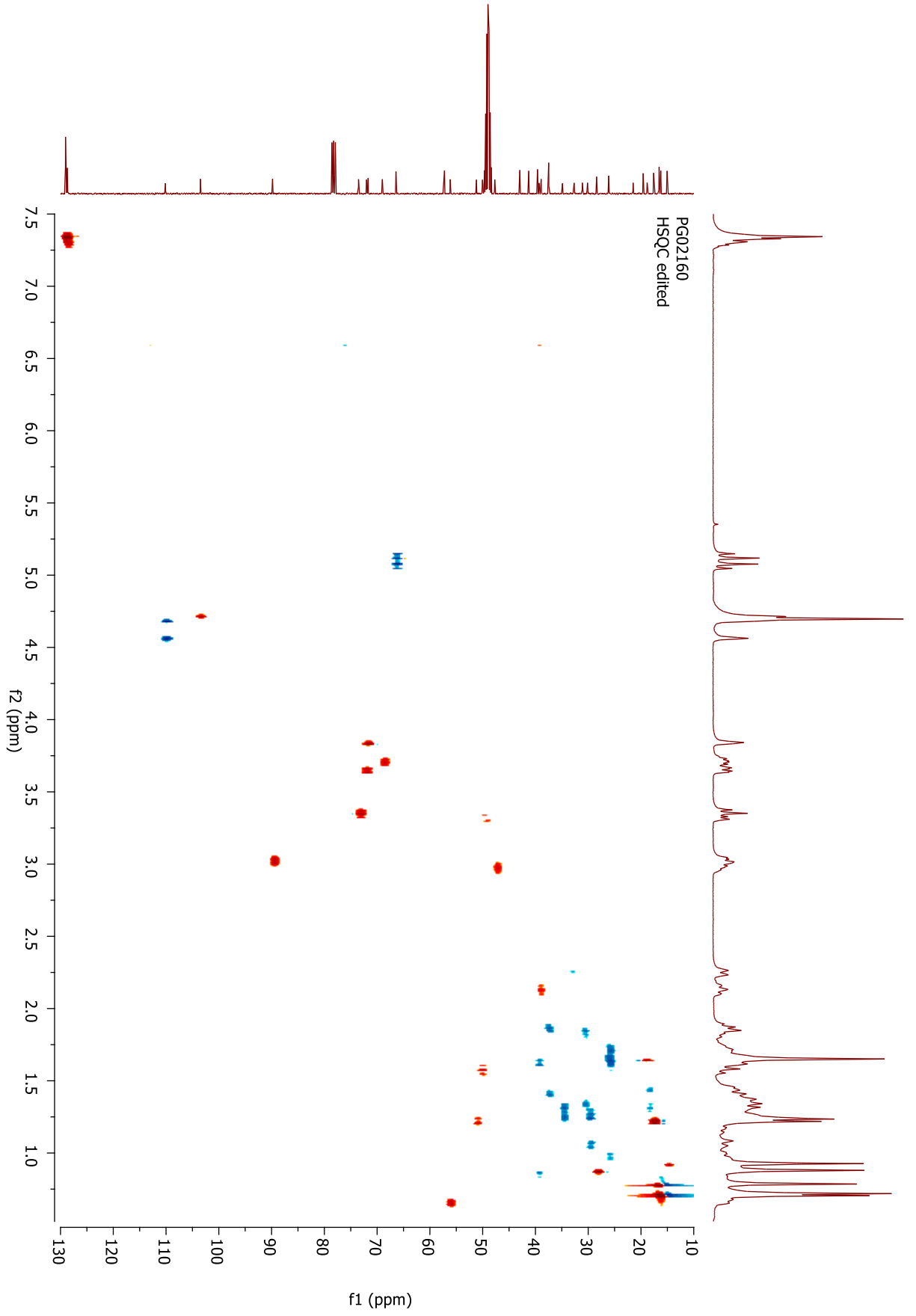


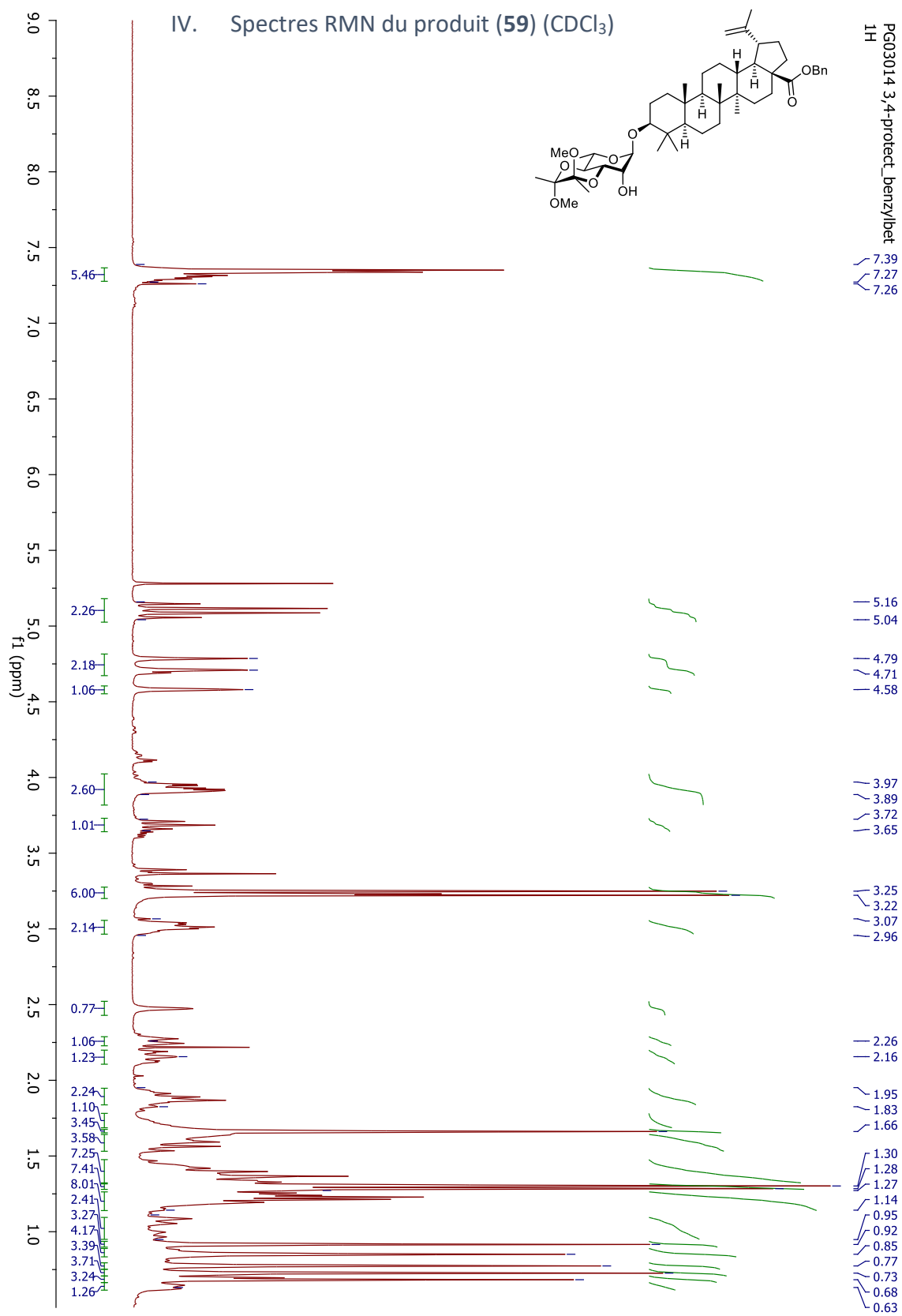
III. Spectres RMN du produit (58) (CDCl₃ : CD₃OD, 1:2)

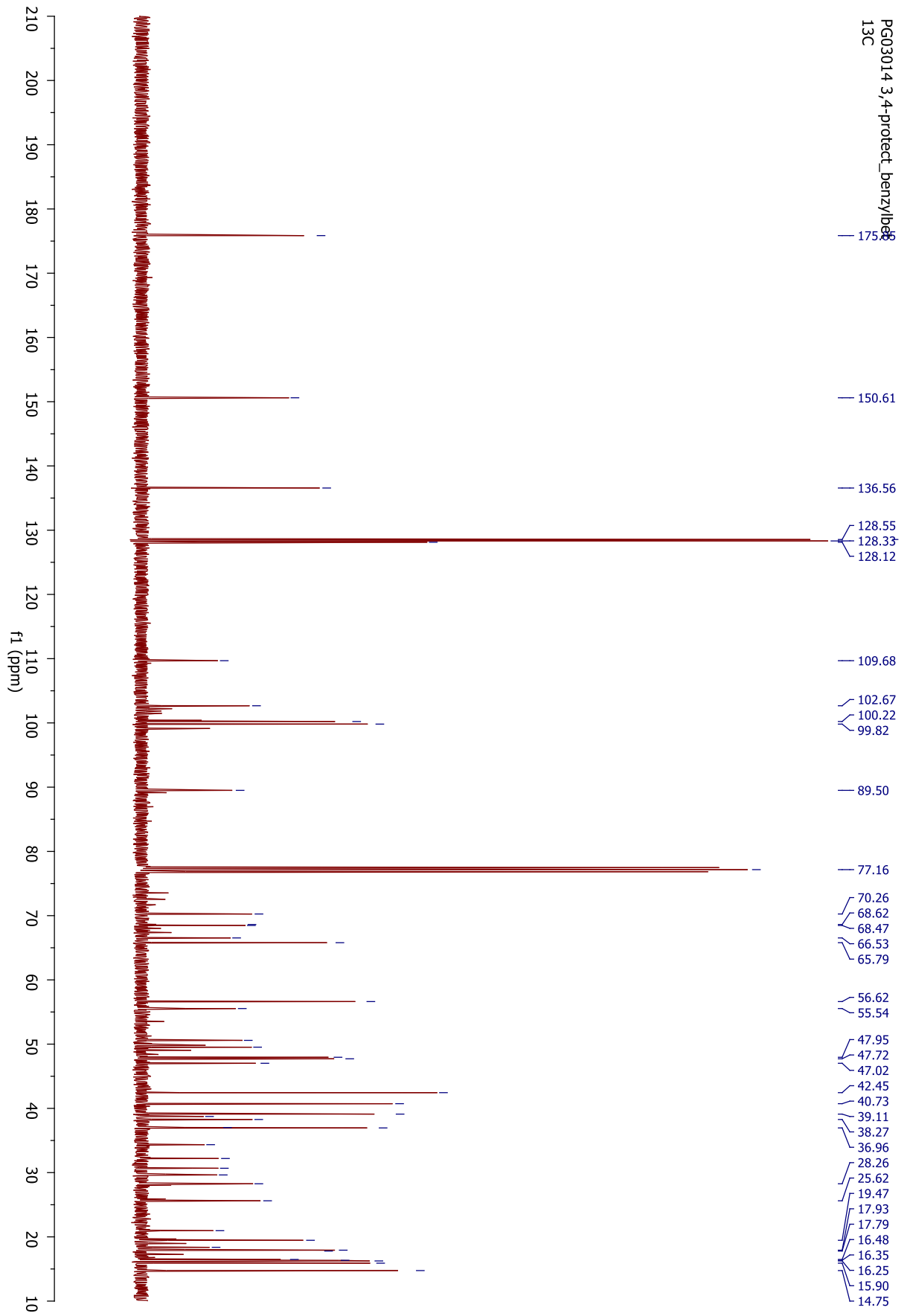


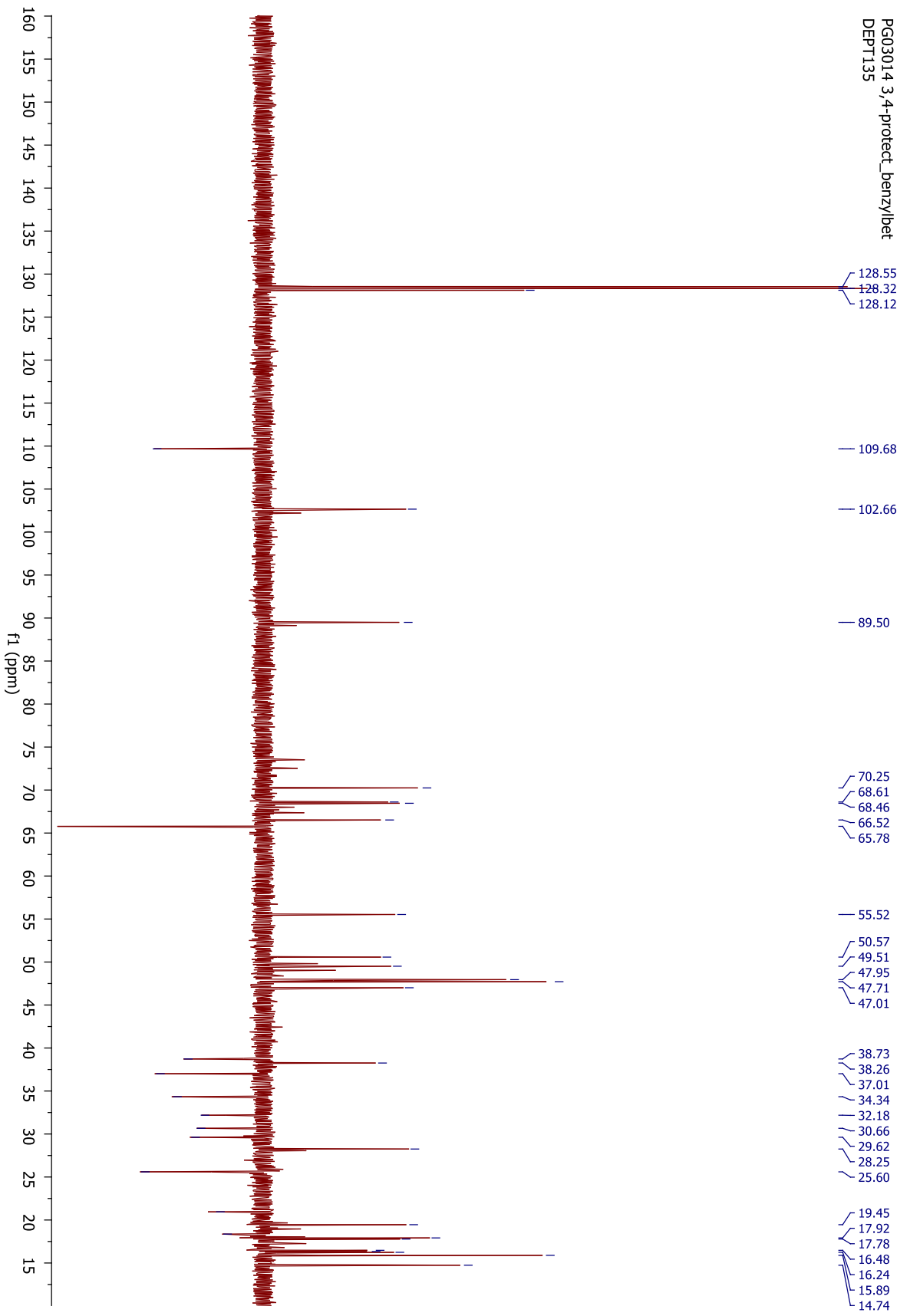


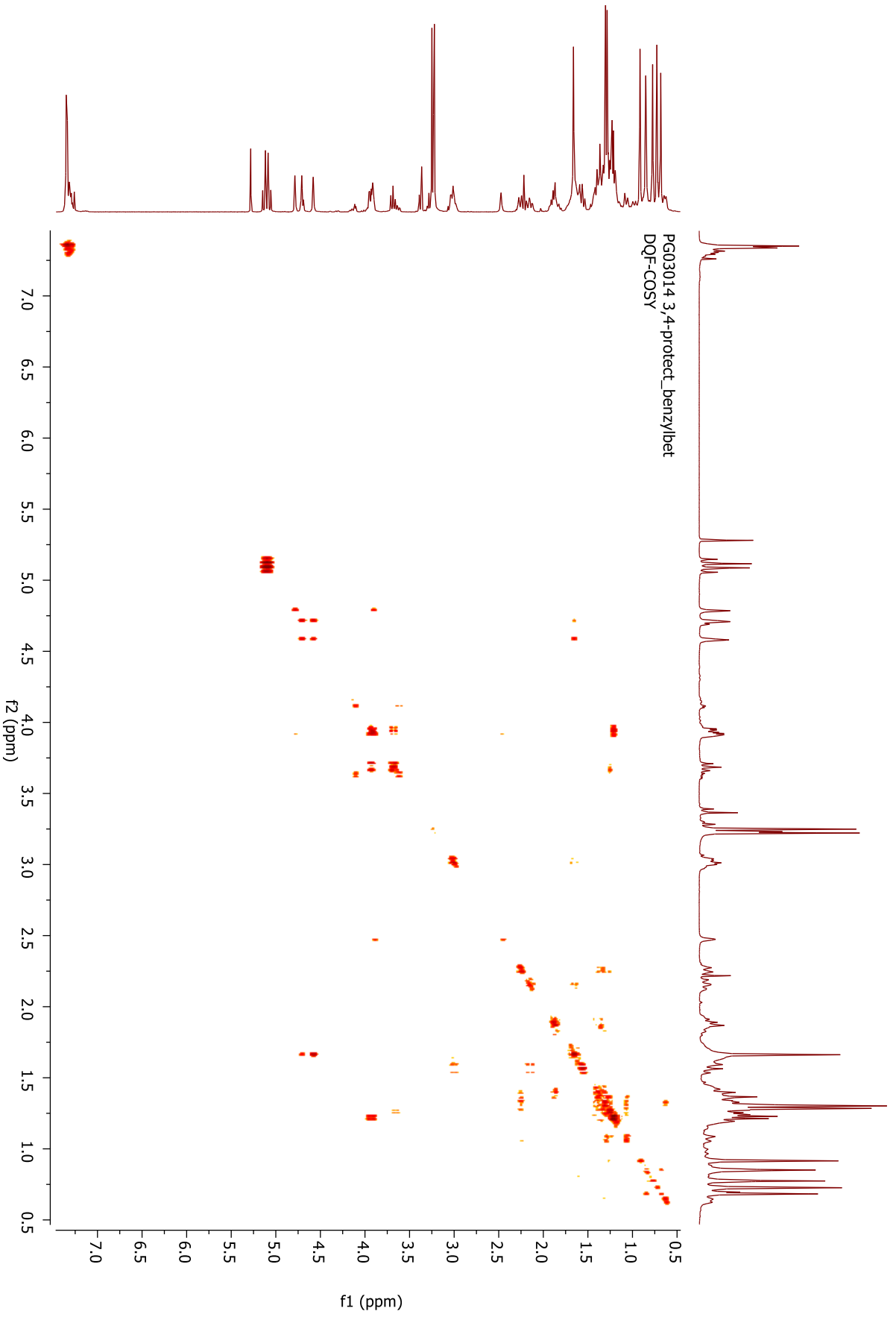


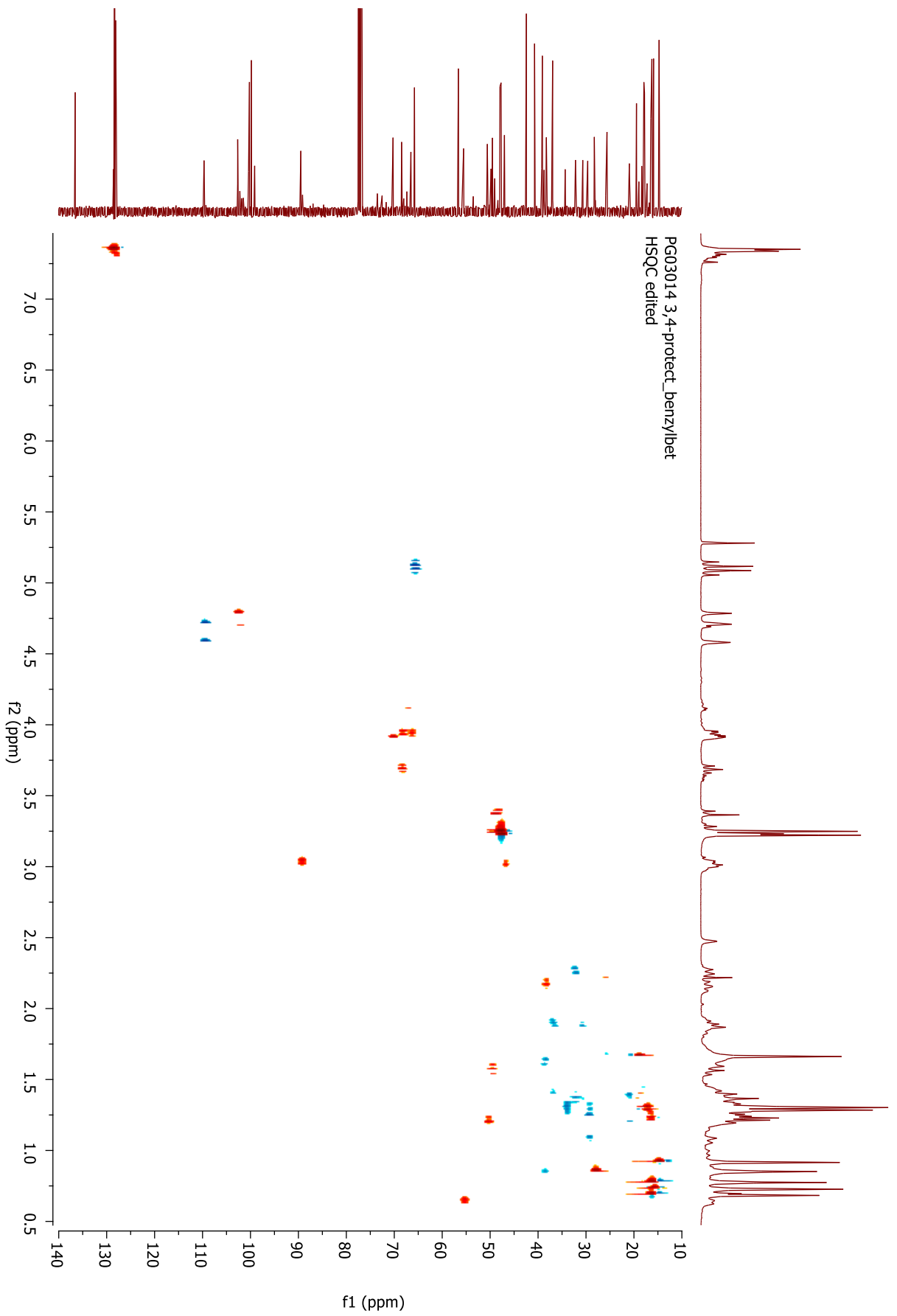


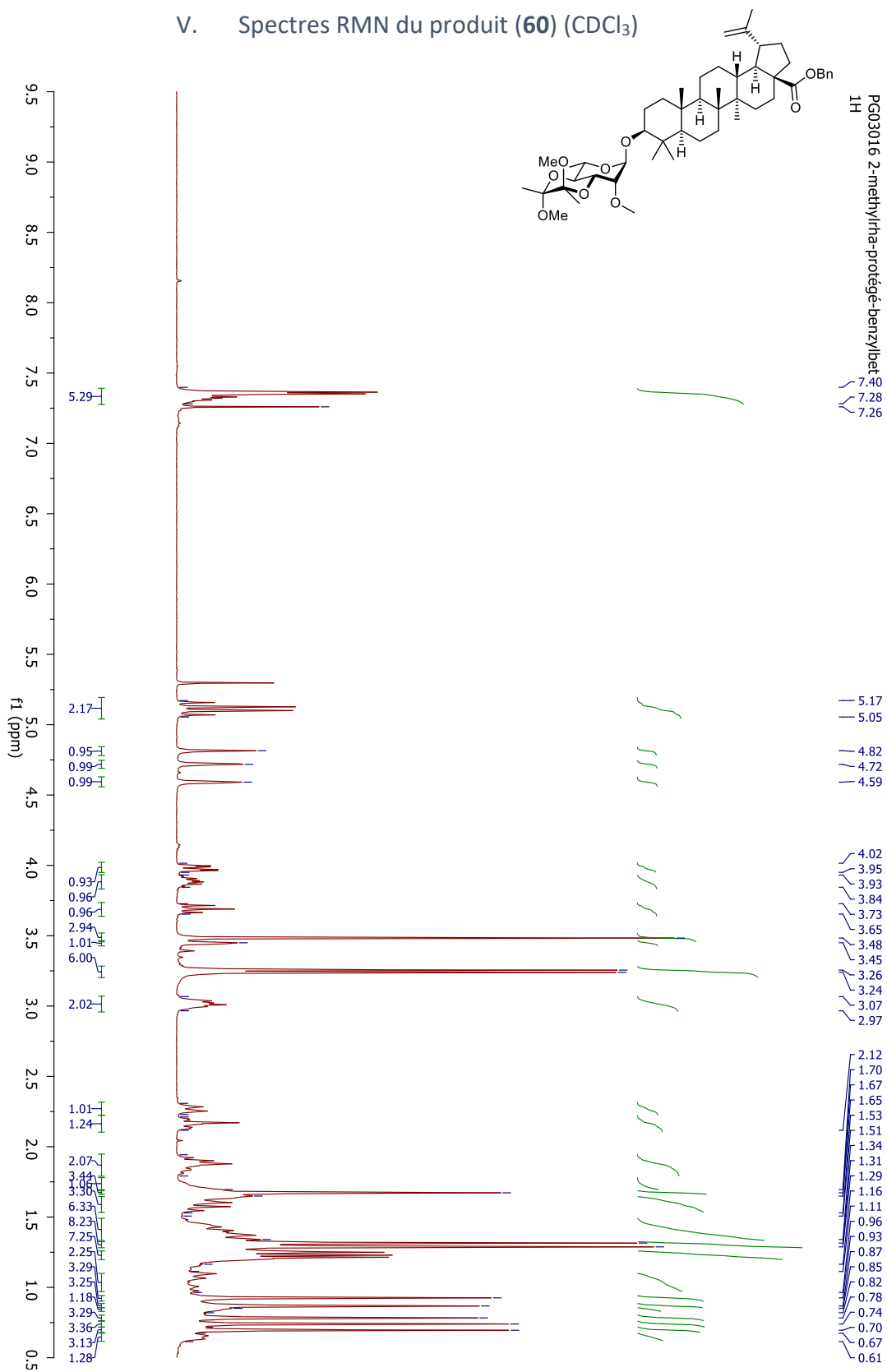


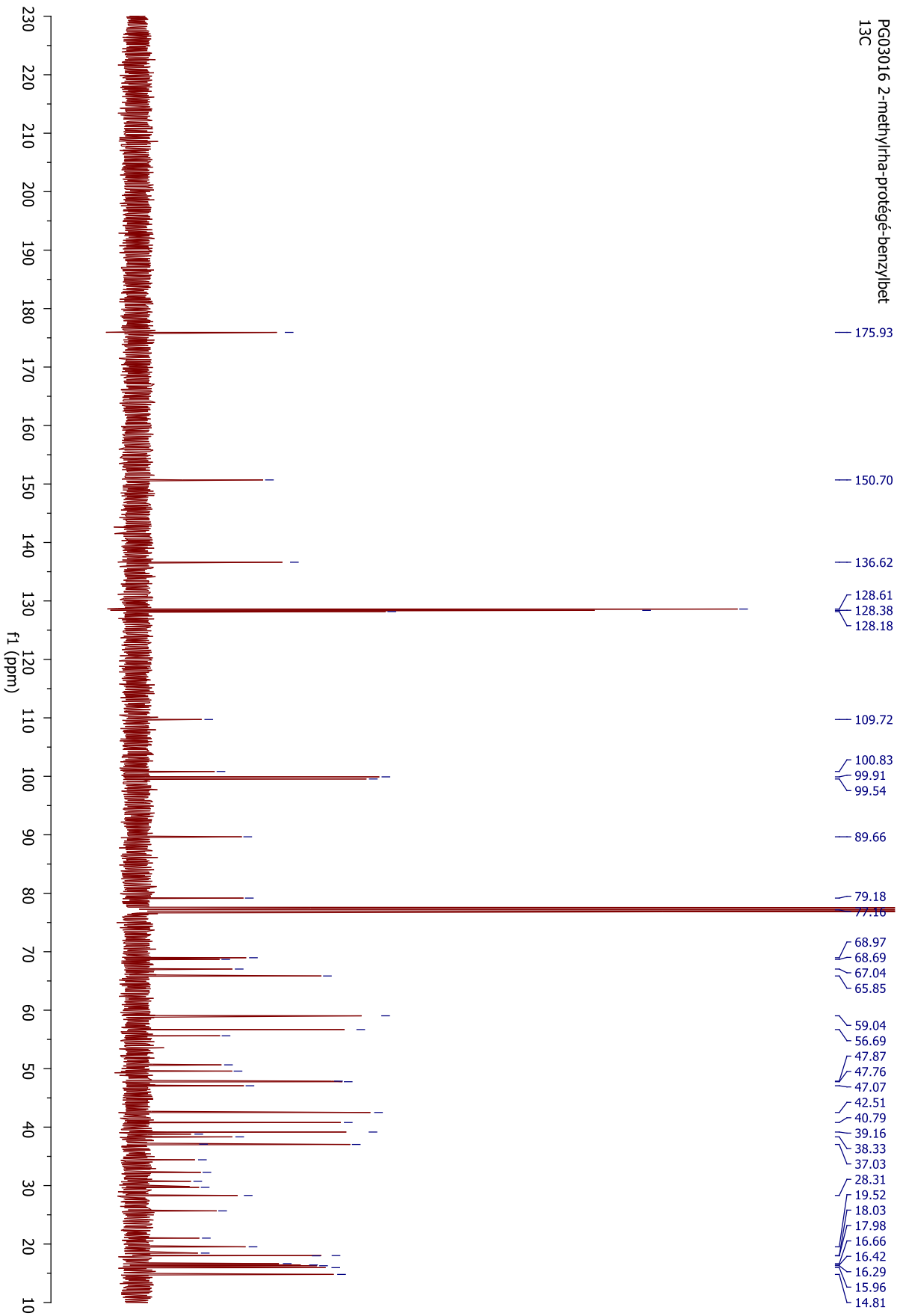


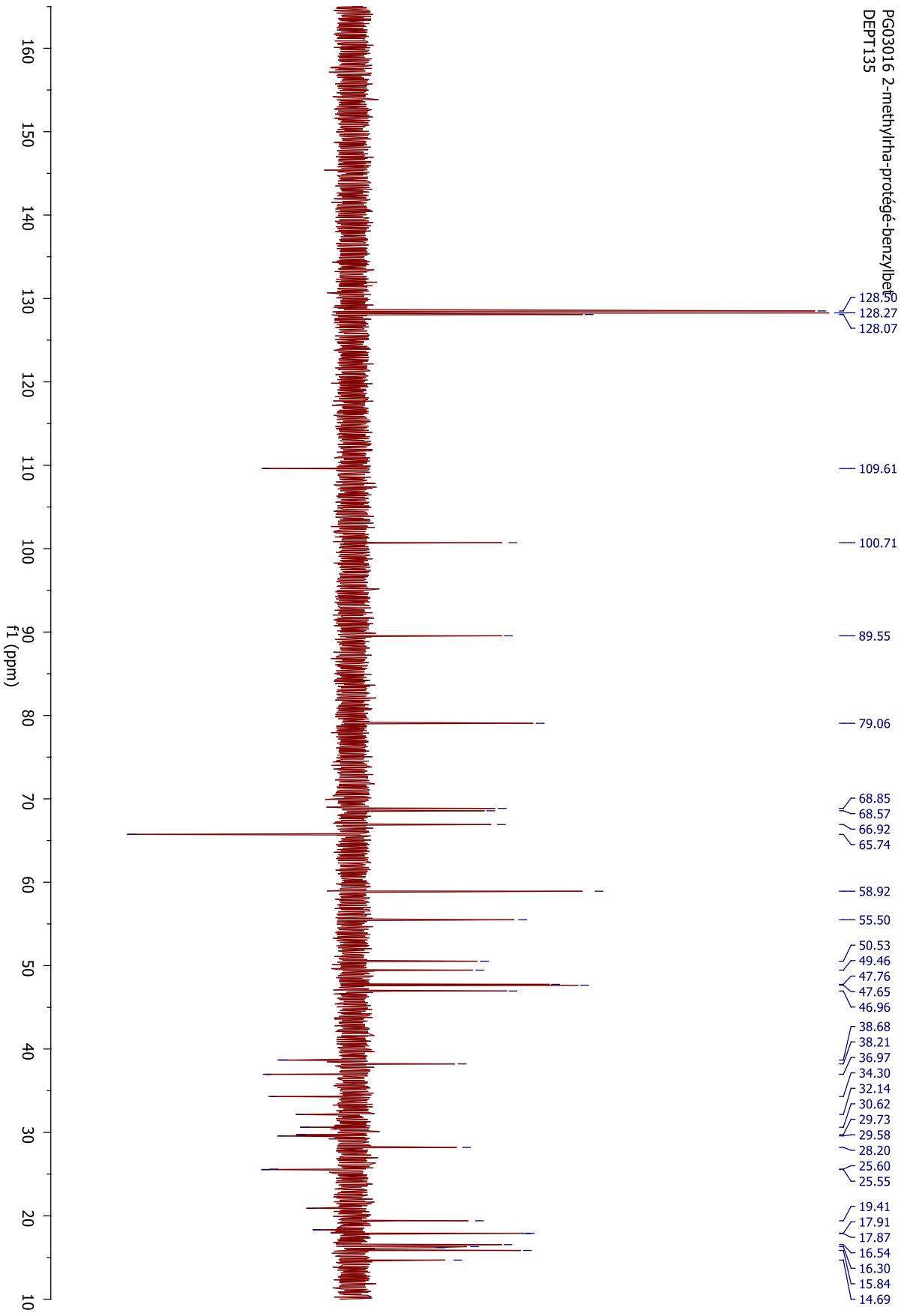
PG03014 3,4-protect_benzylbet
DEPT135

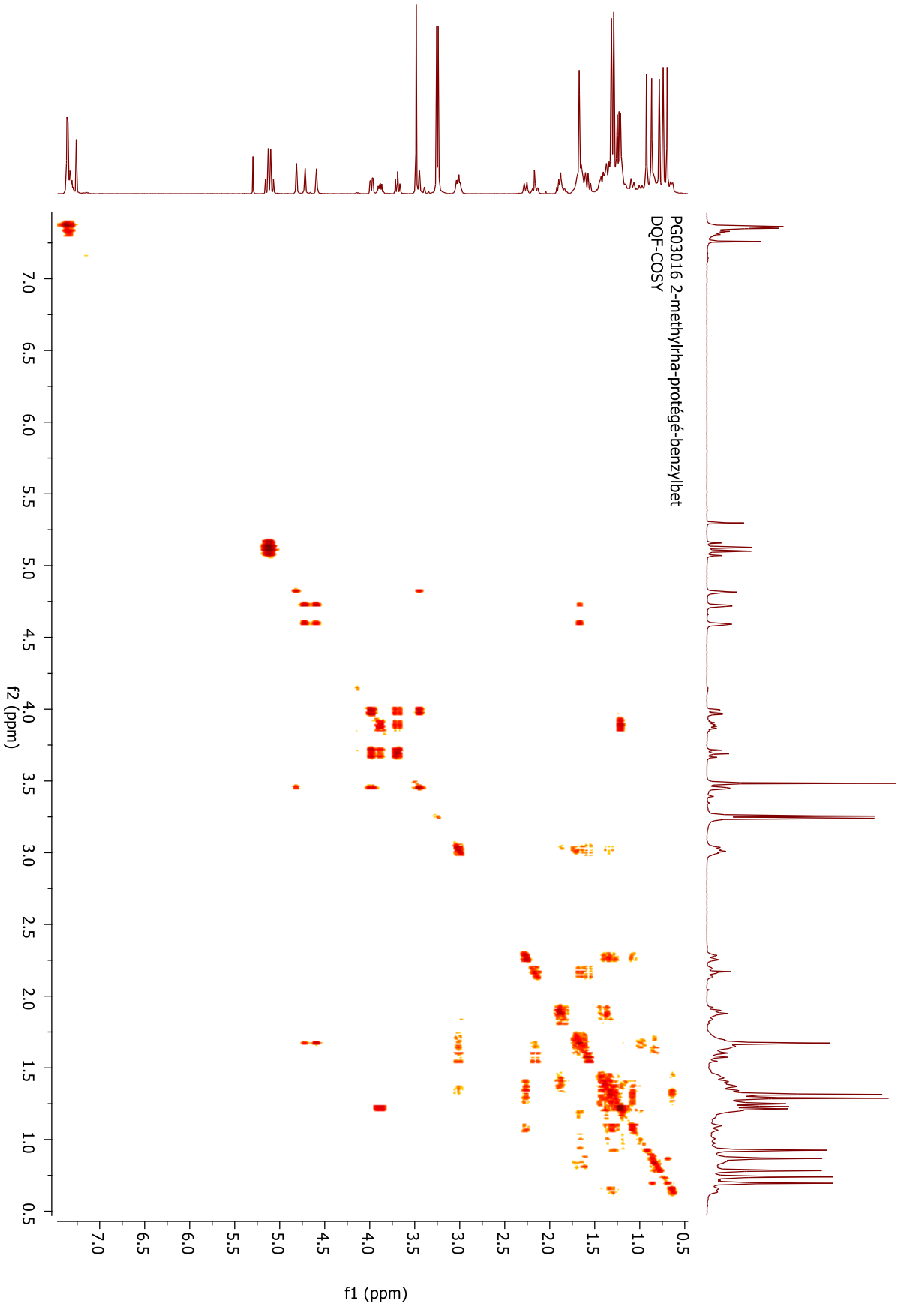


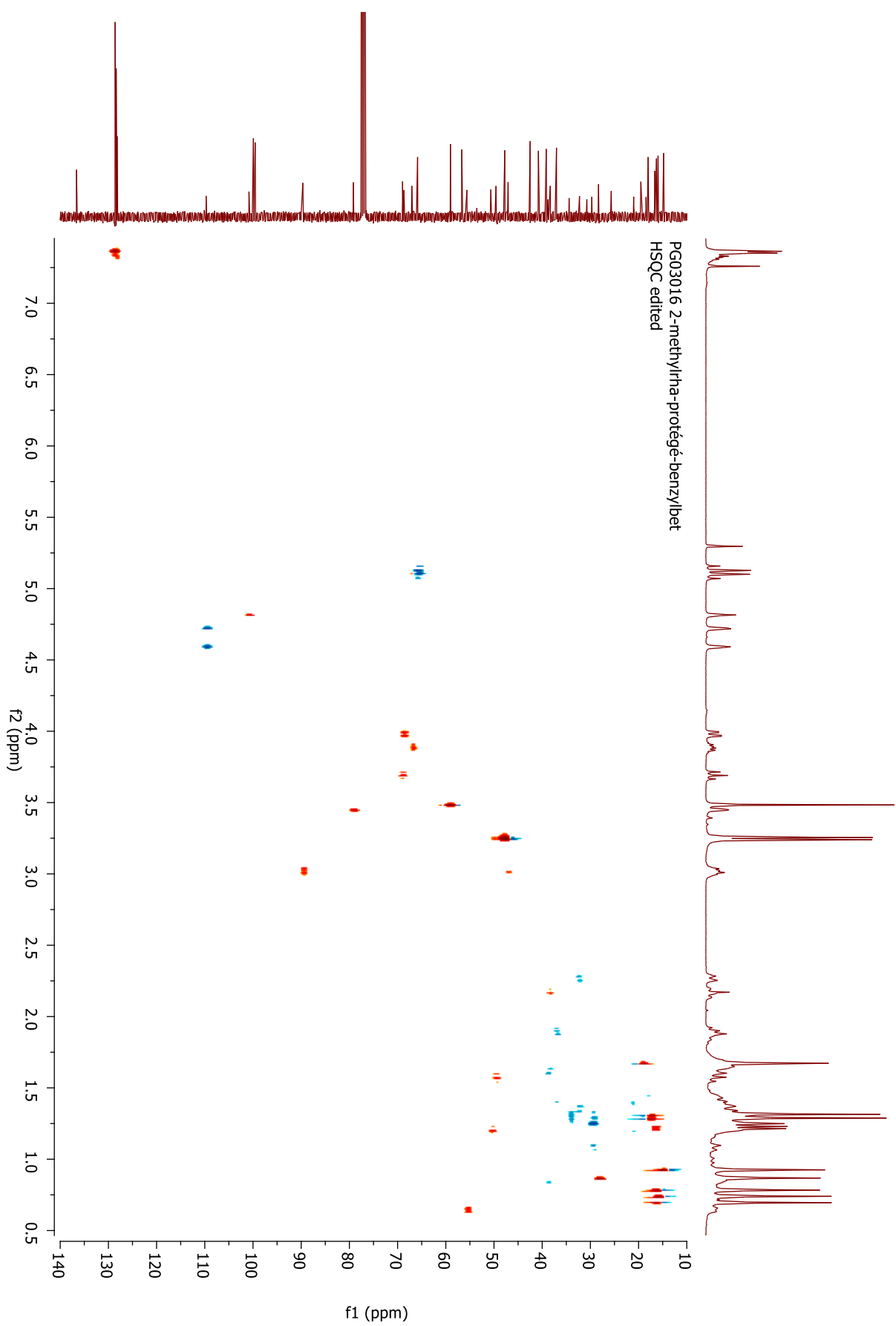


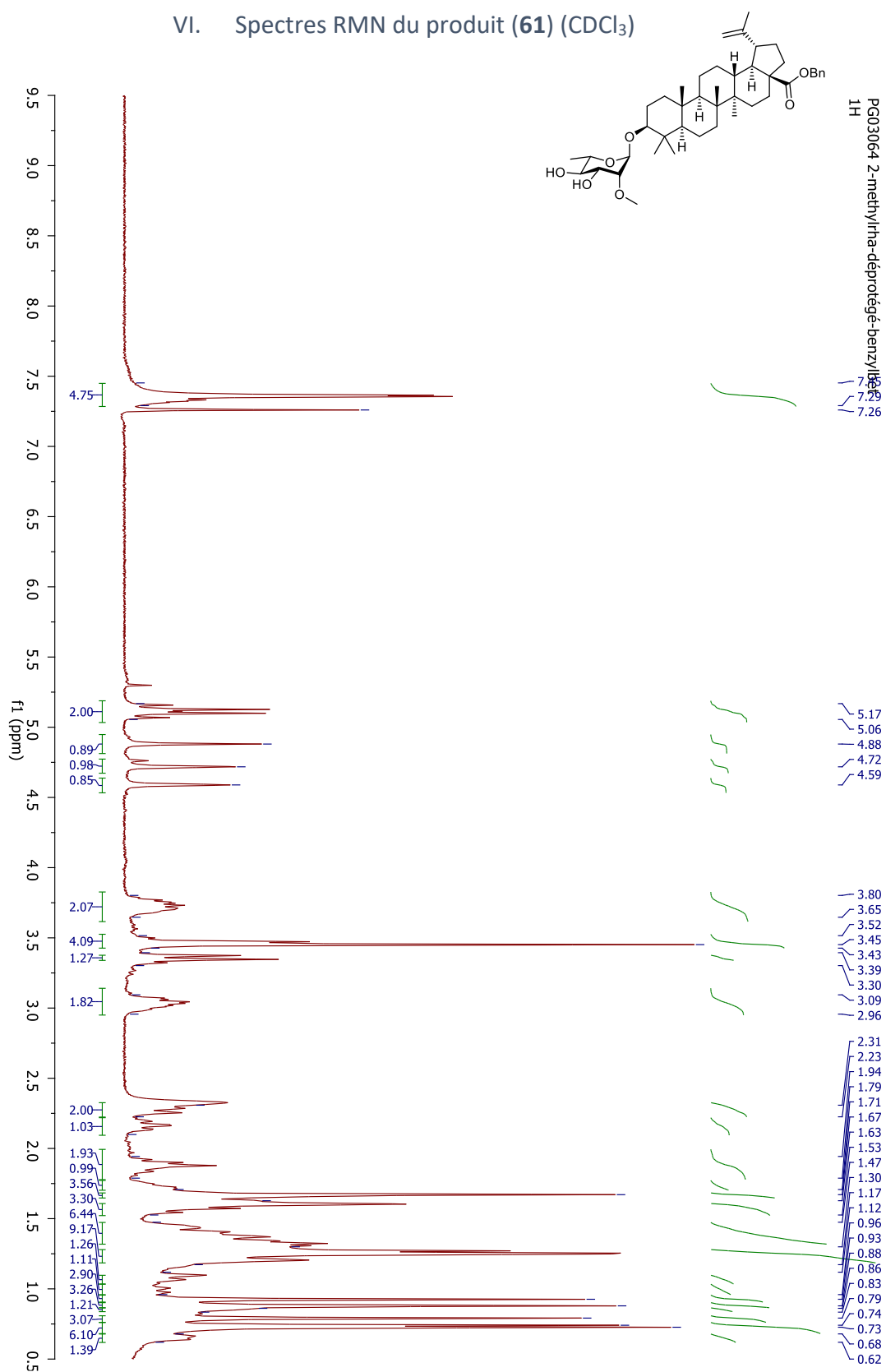
V. Spectres RMN du produit (60) (CDCl₃)

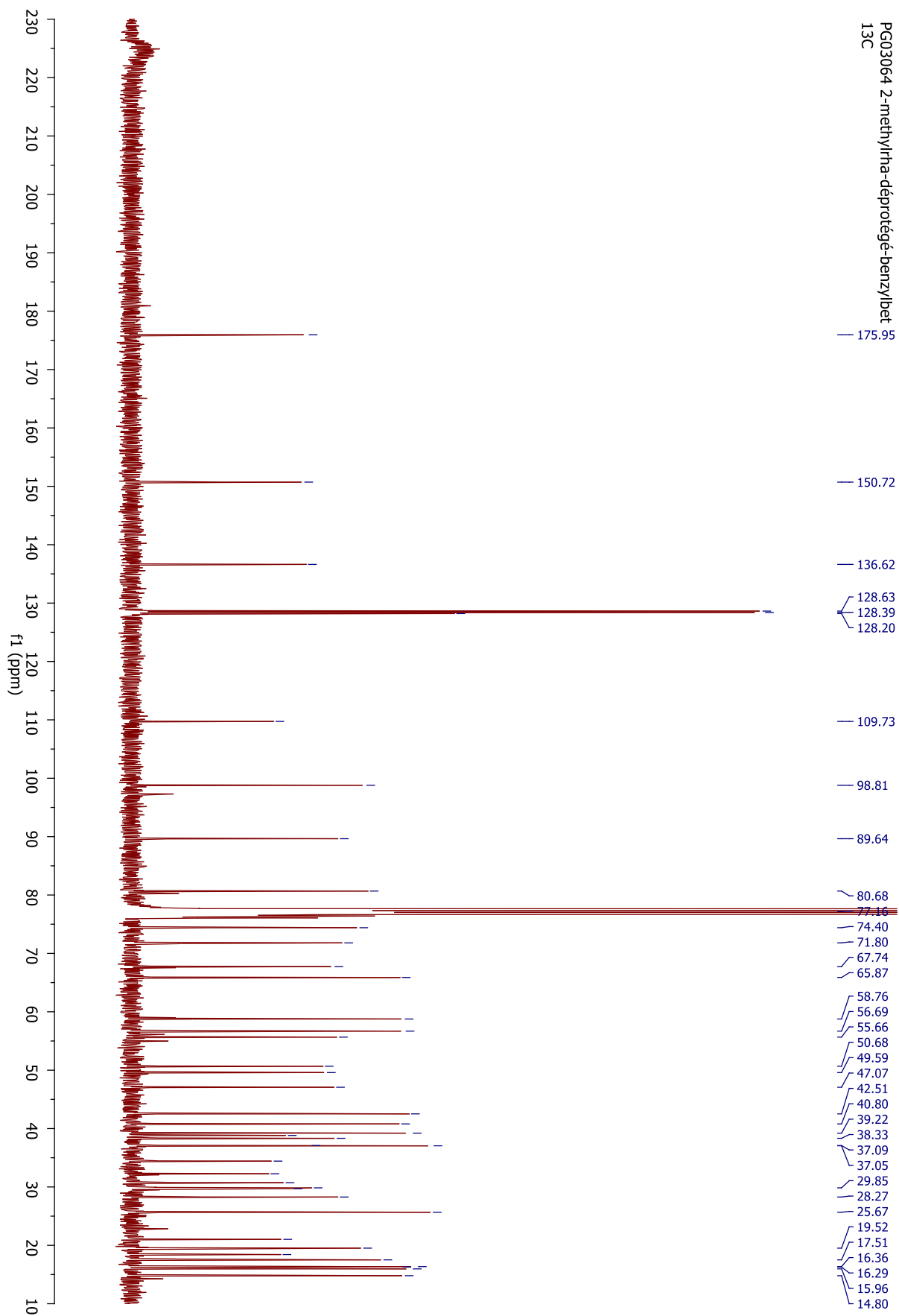
PG03016-2-methylrha-protégé-benzylbet
13C

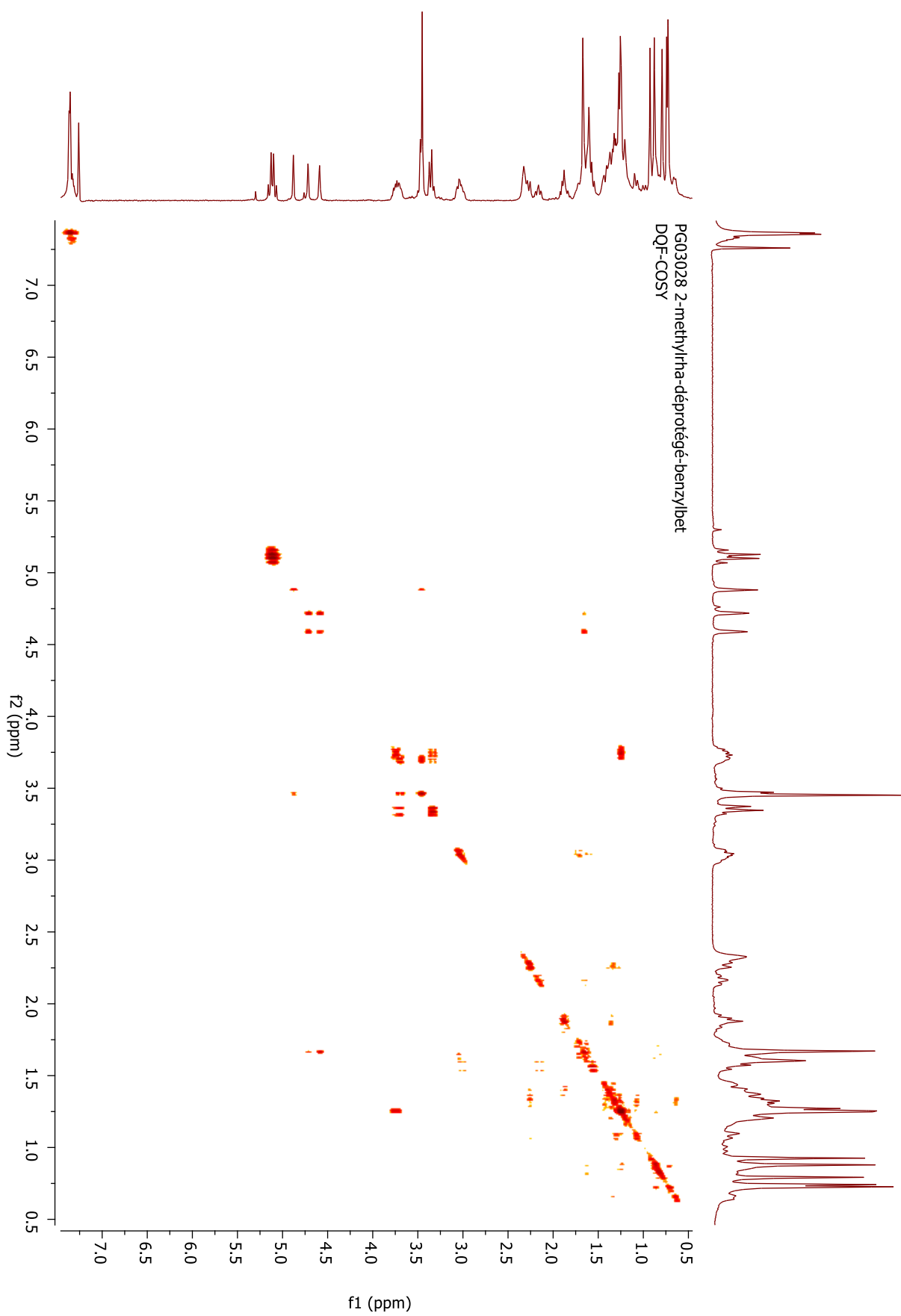
PG03016 2-methylrha-protégé-benzylbè
DEPT135

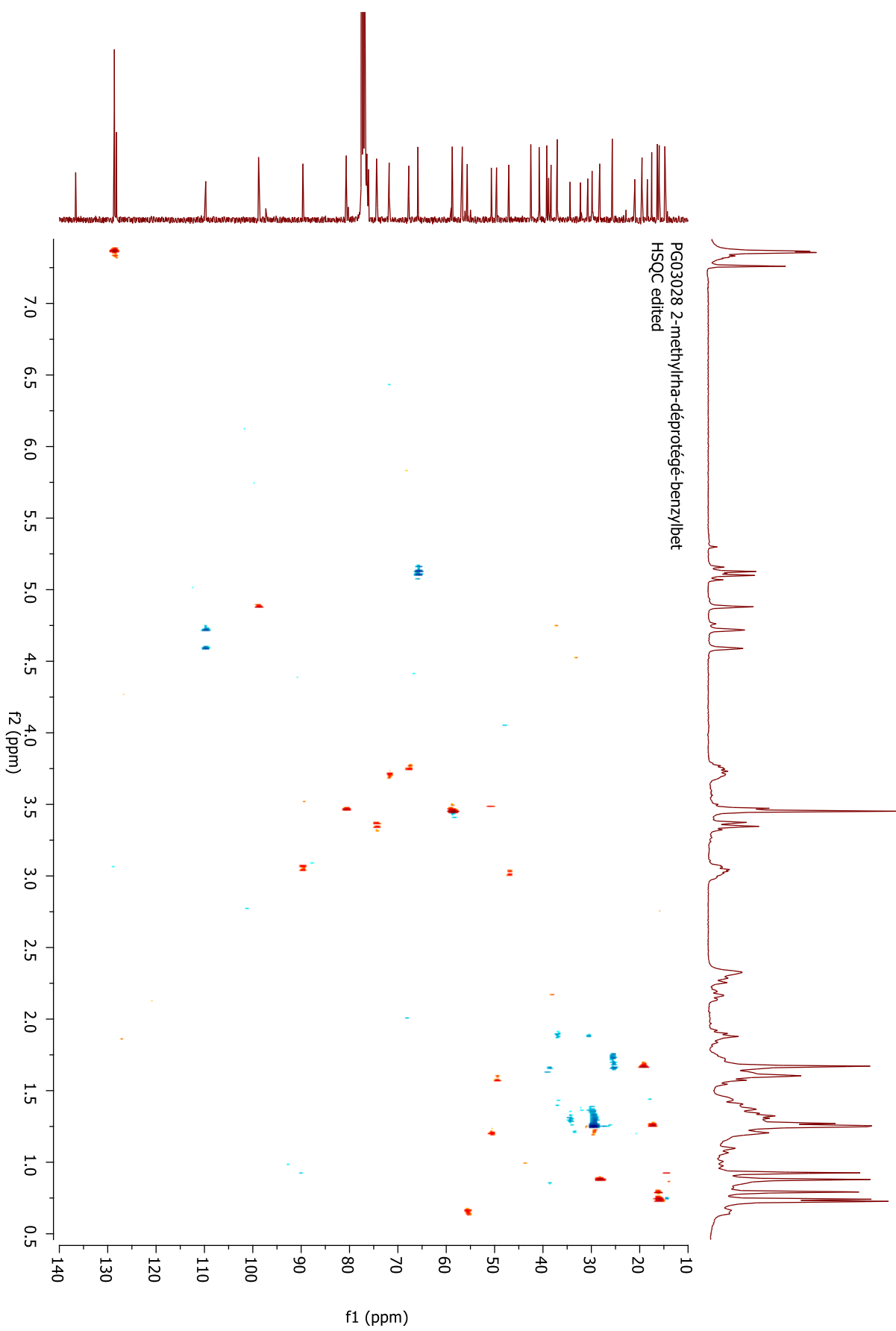


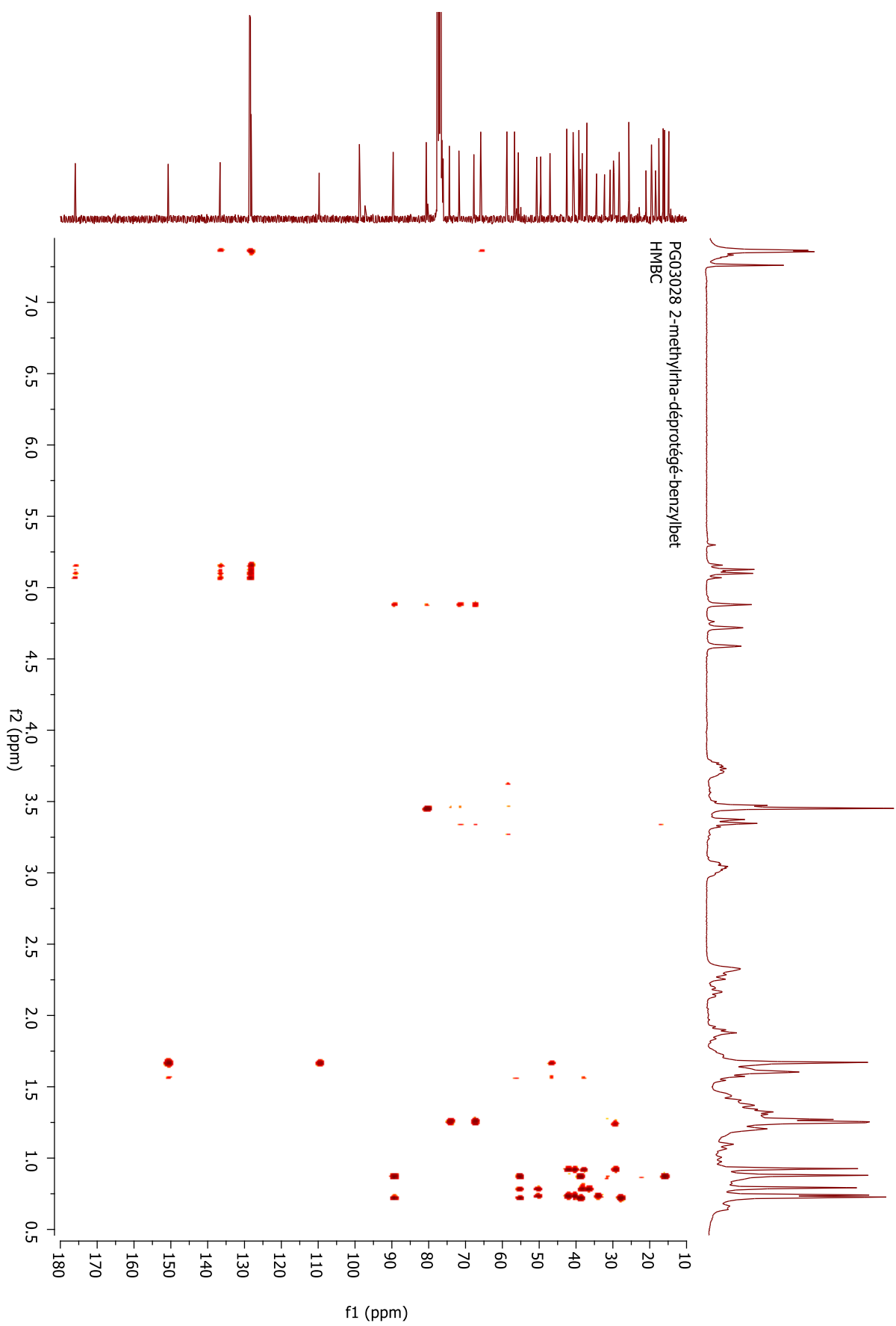


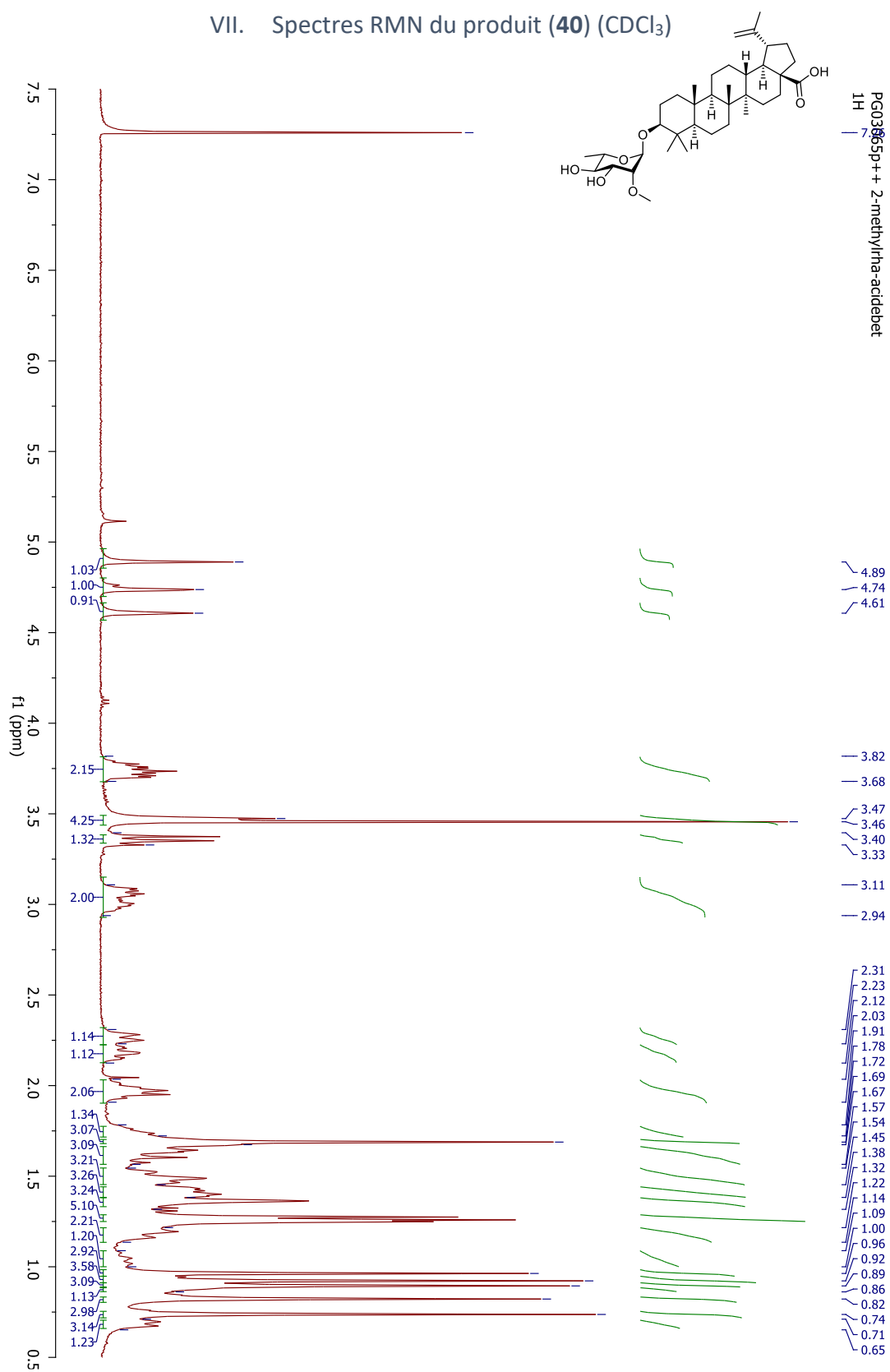
VI. Spectres RMN du produit (61) (CDCl₃)

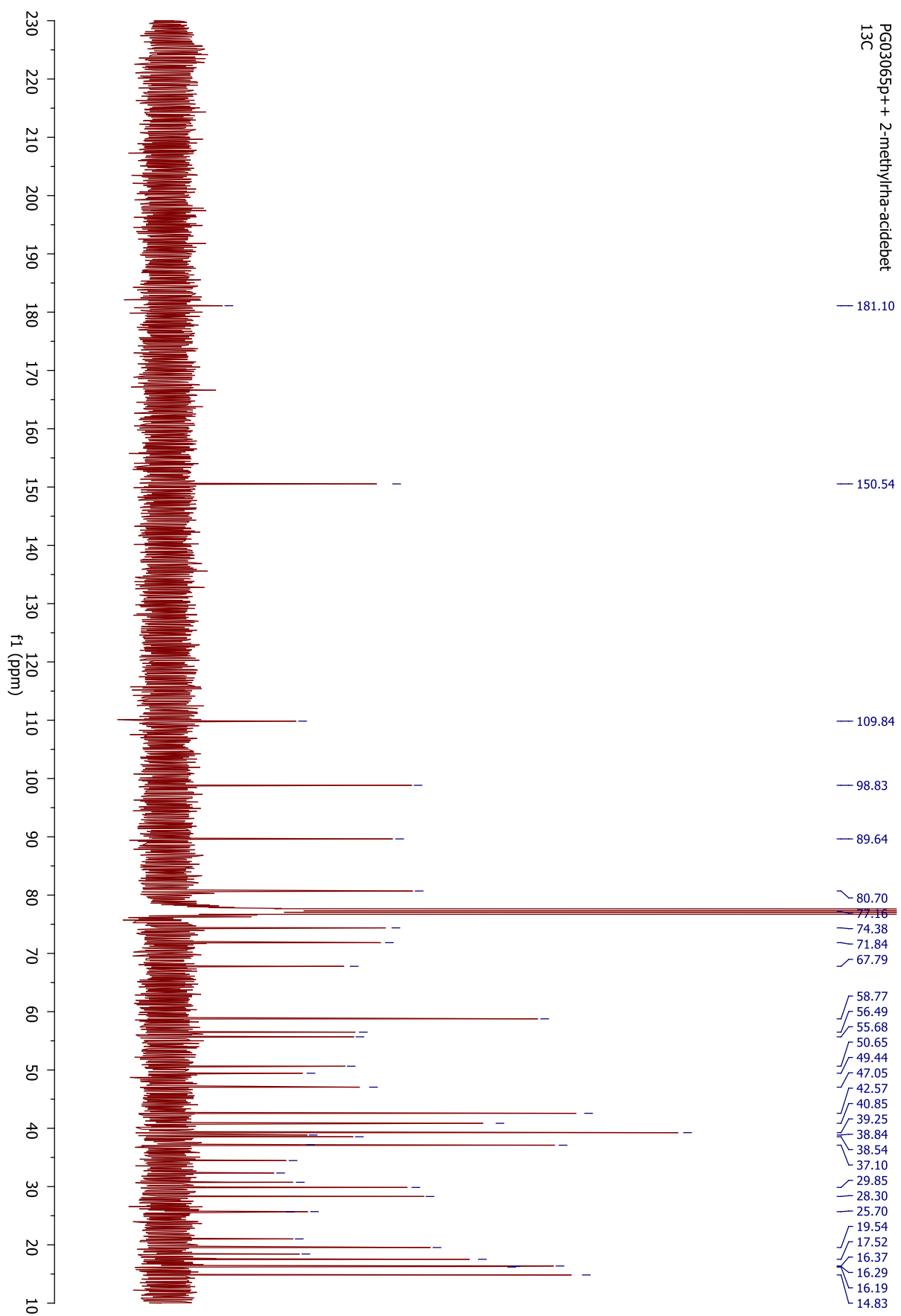


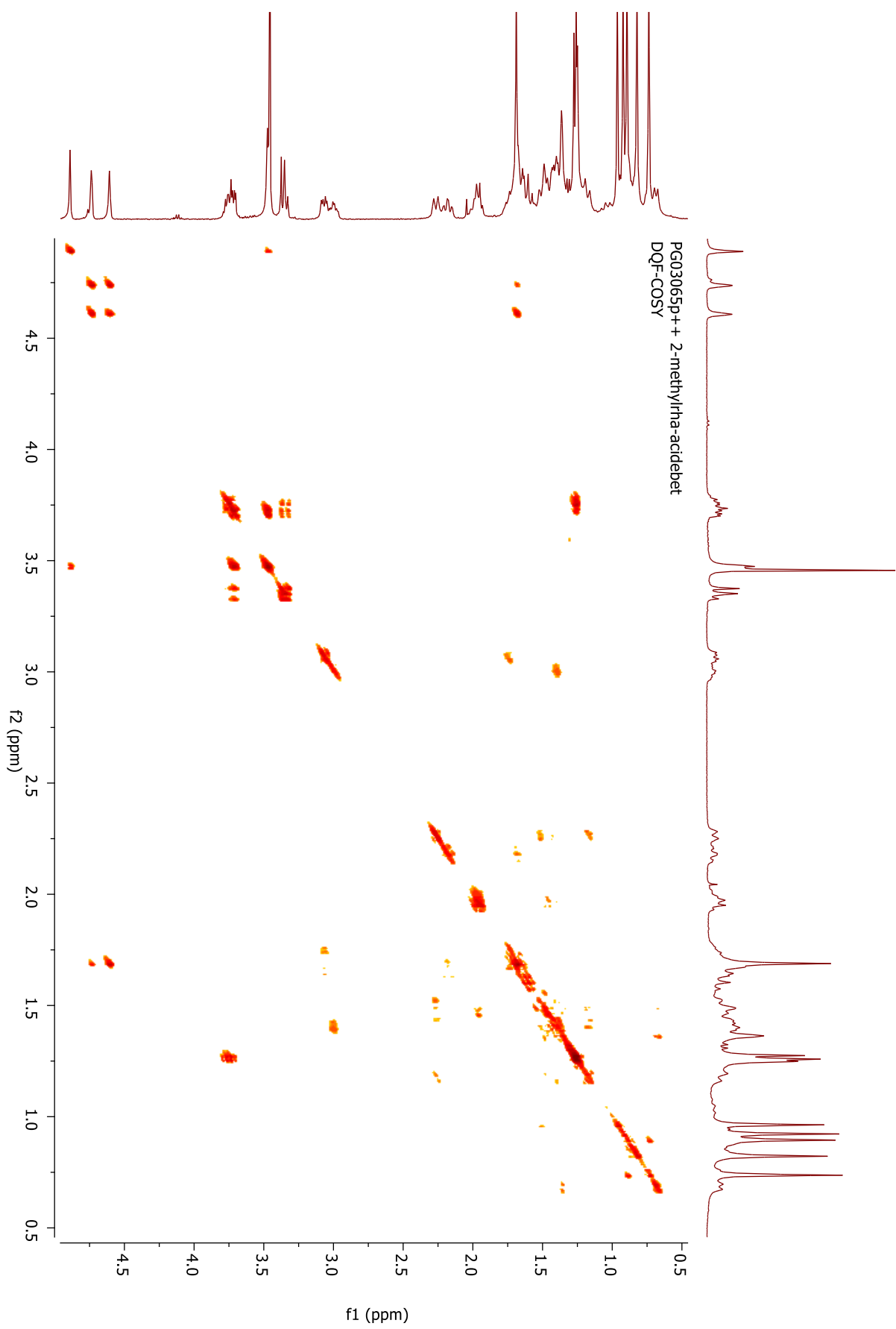


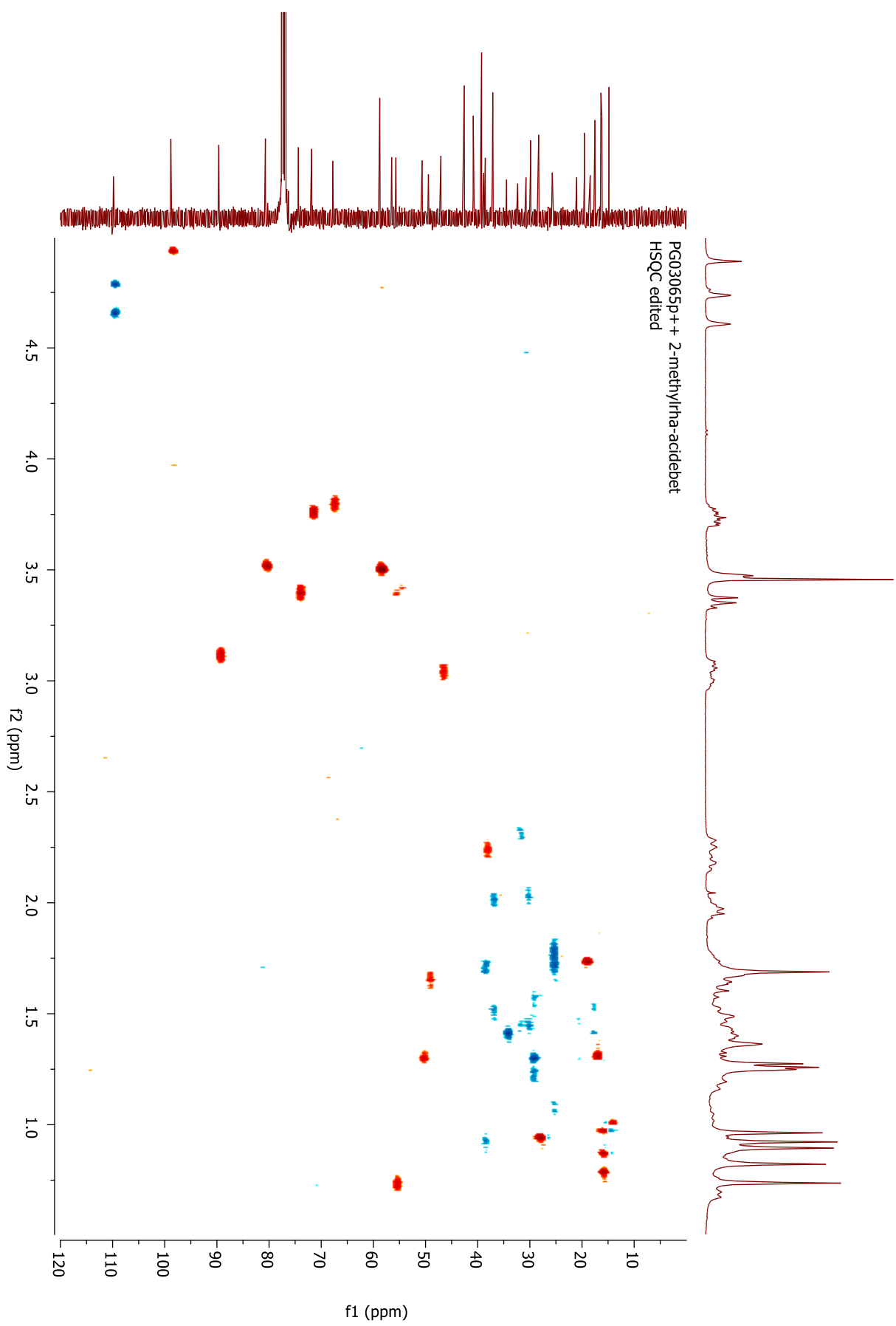


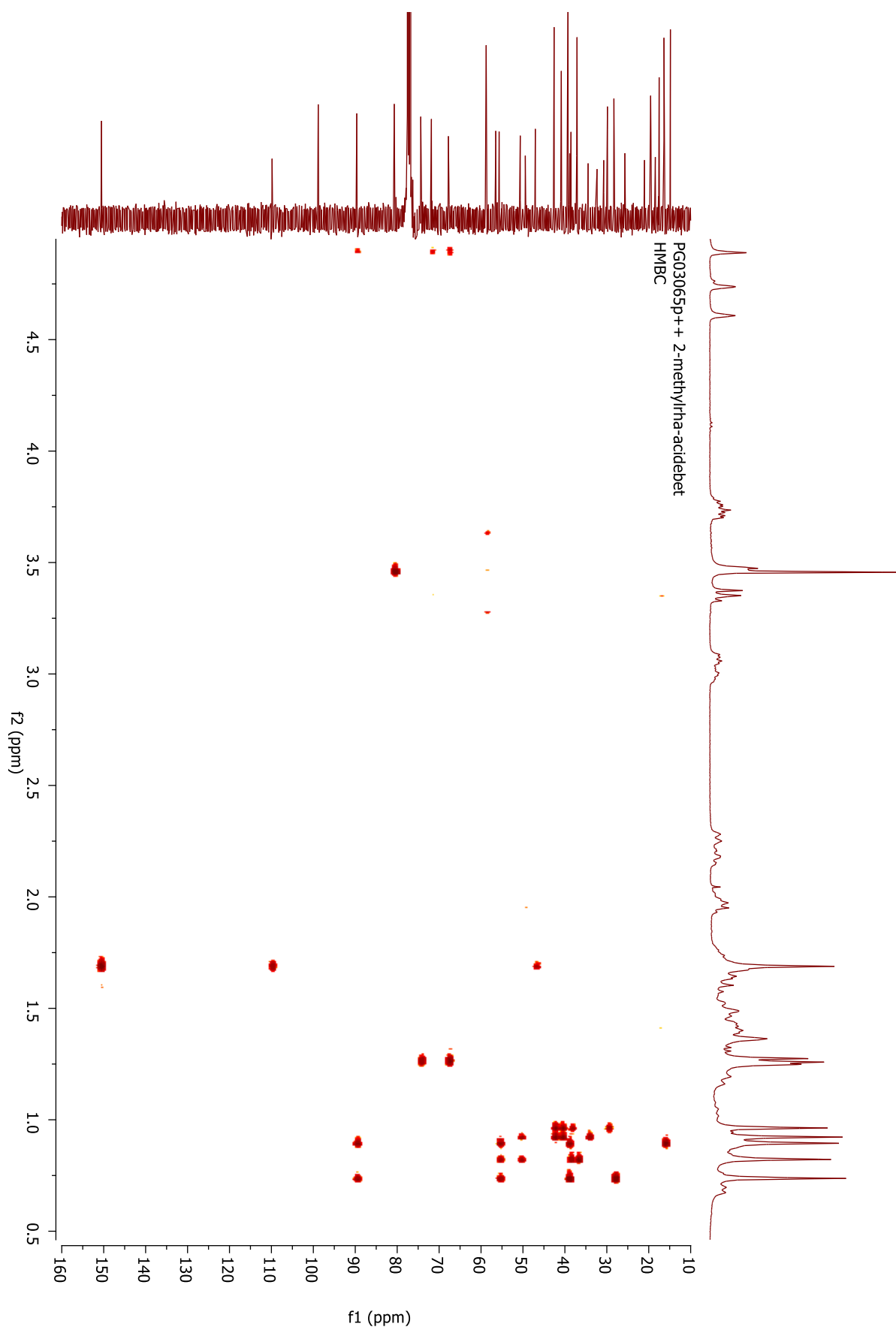


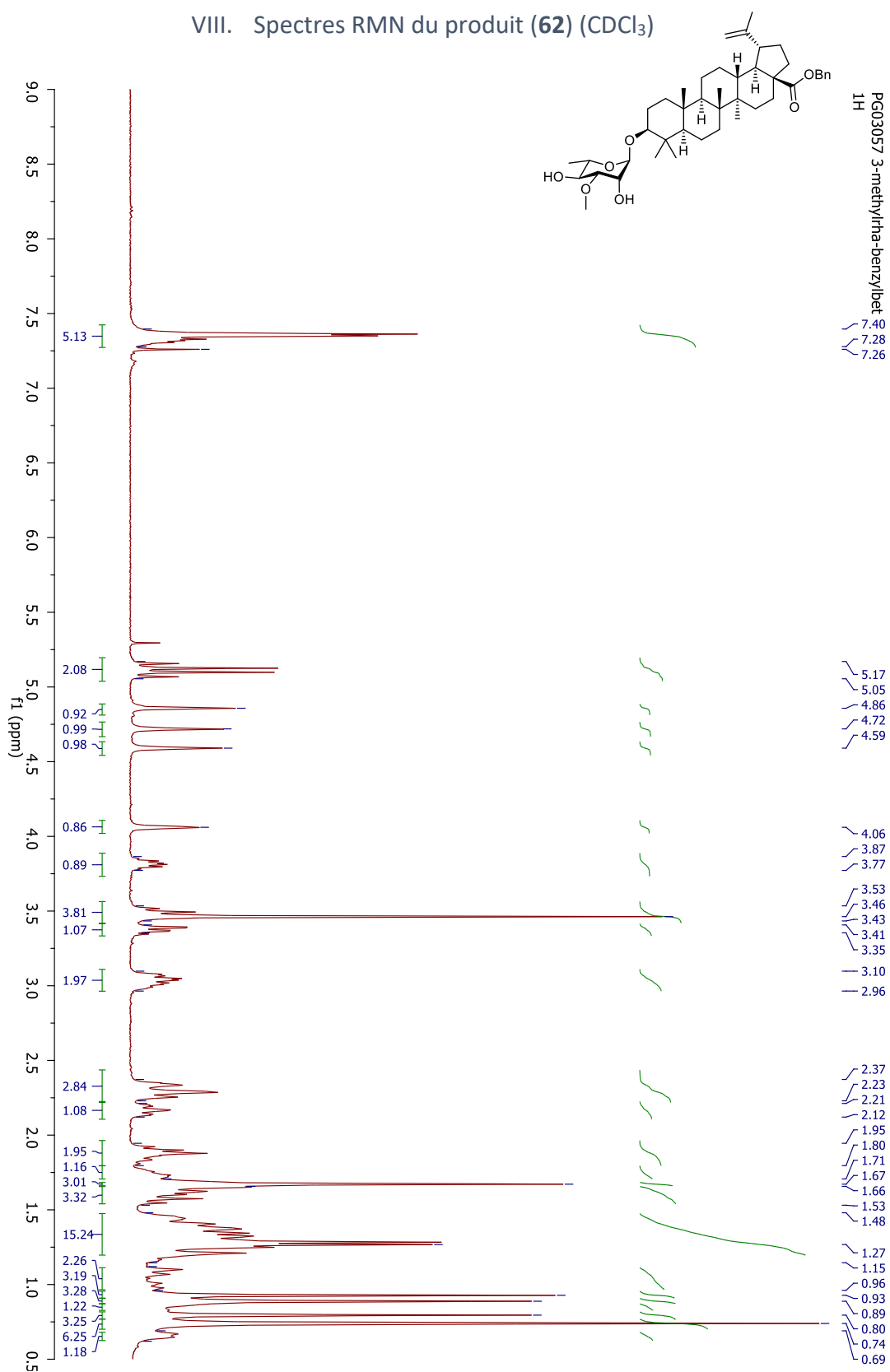
VII. Spectres RMN du produit (40) (CDCl₃)

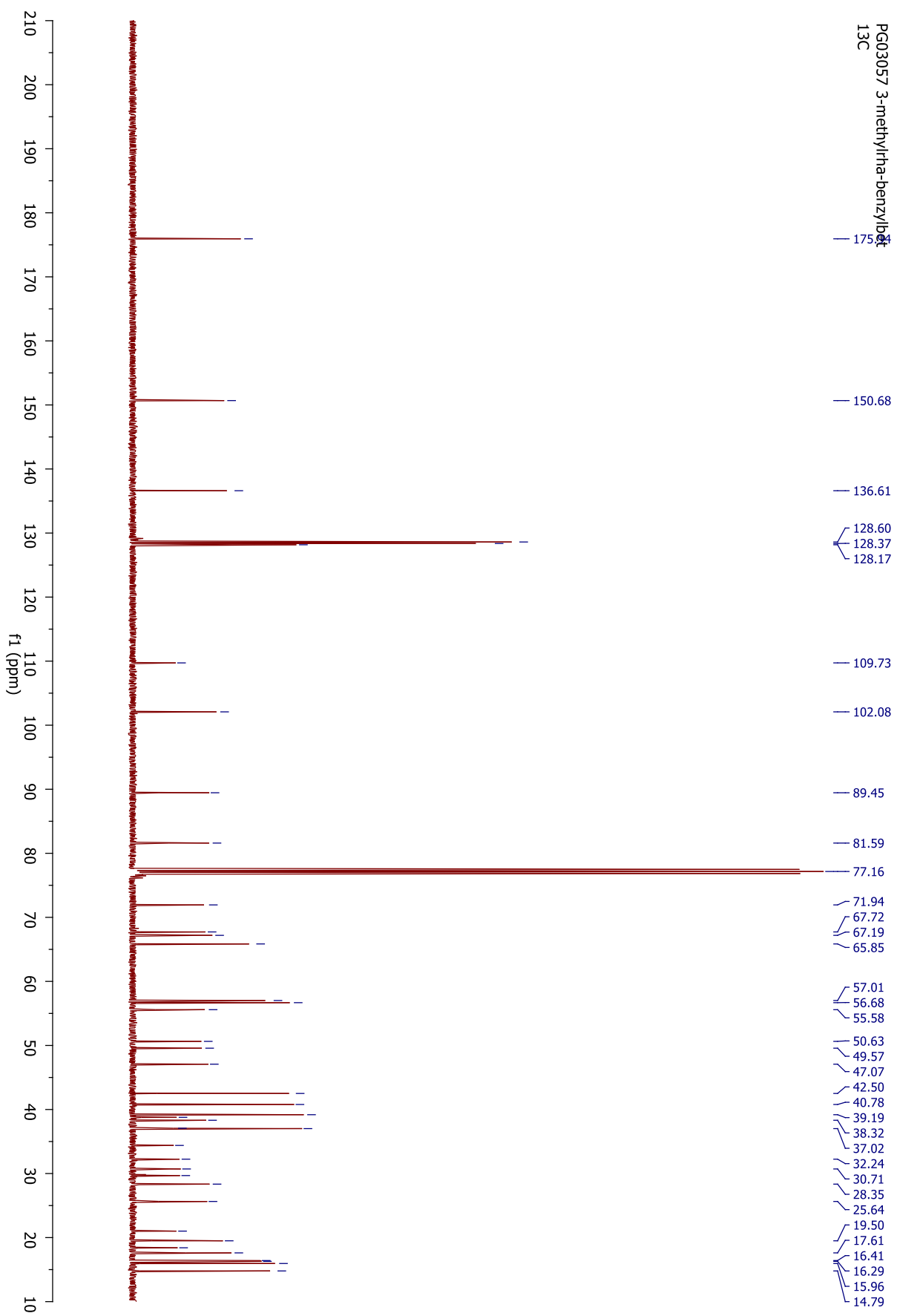


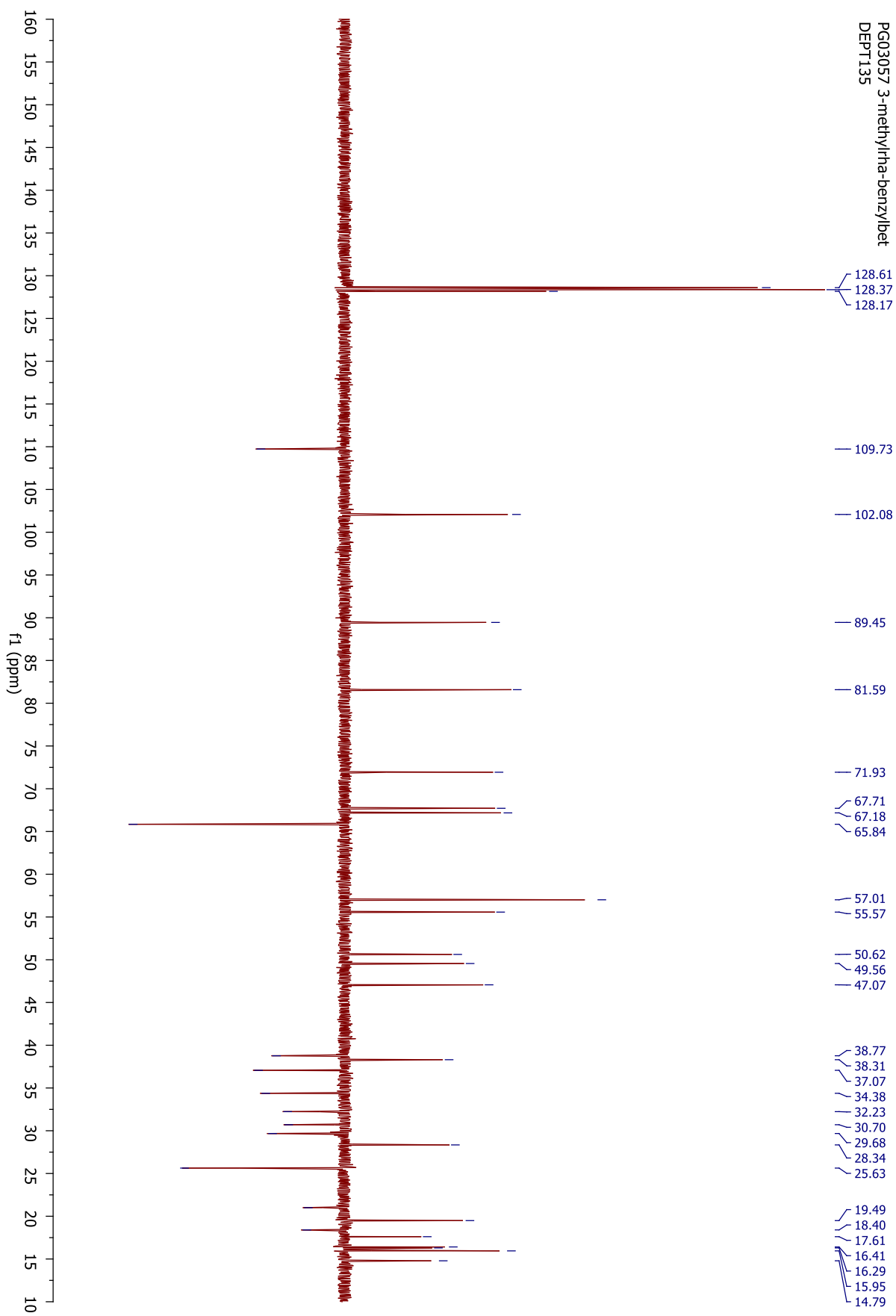


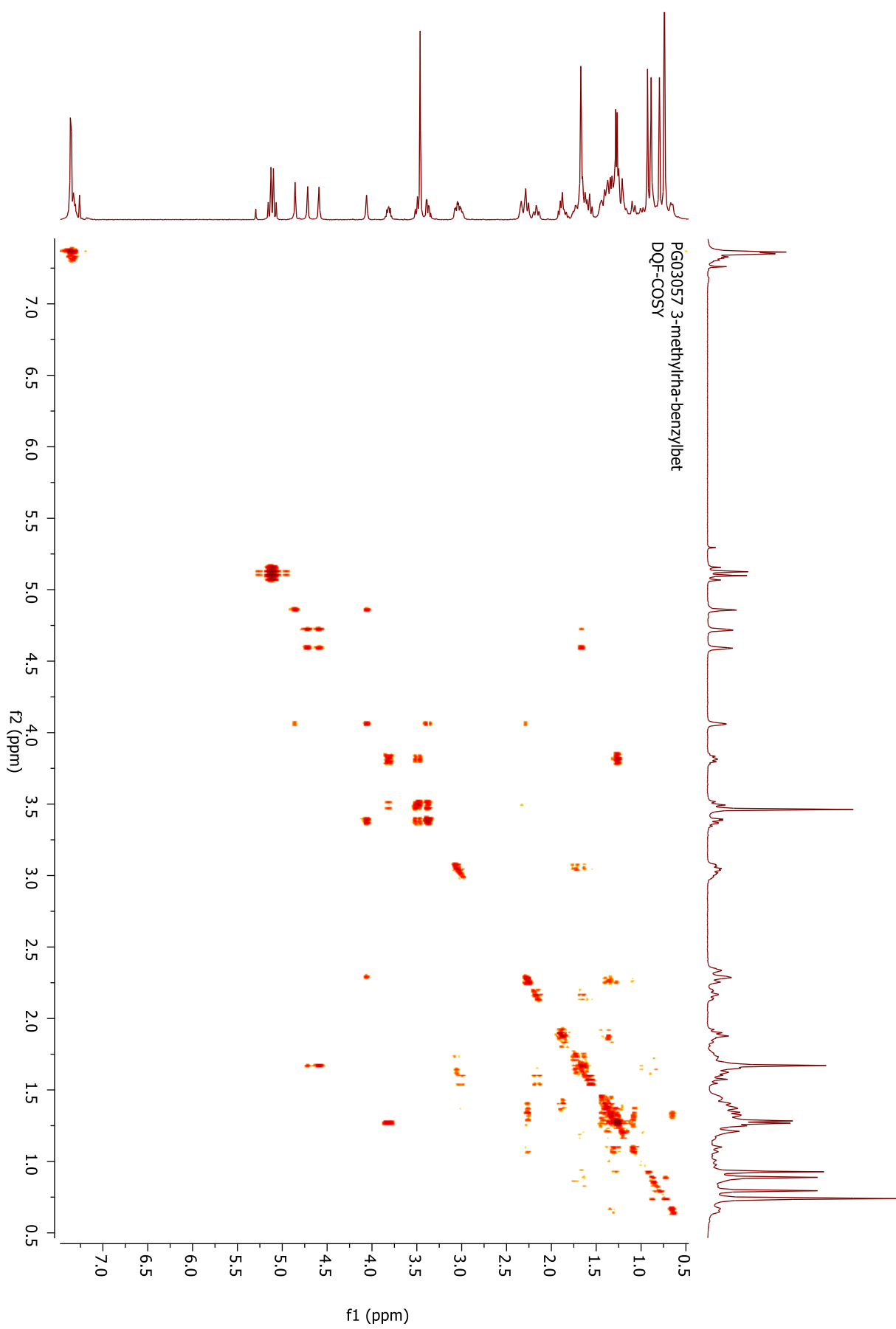


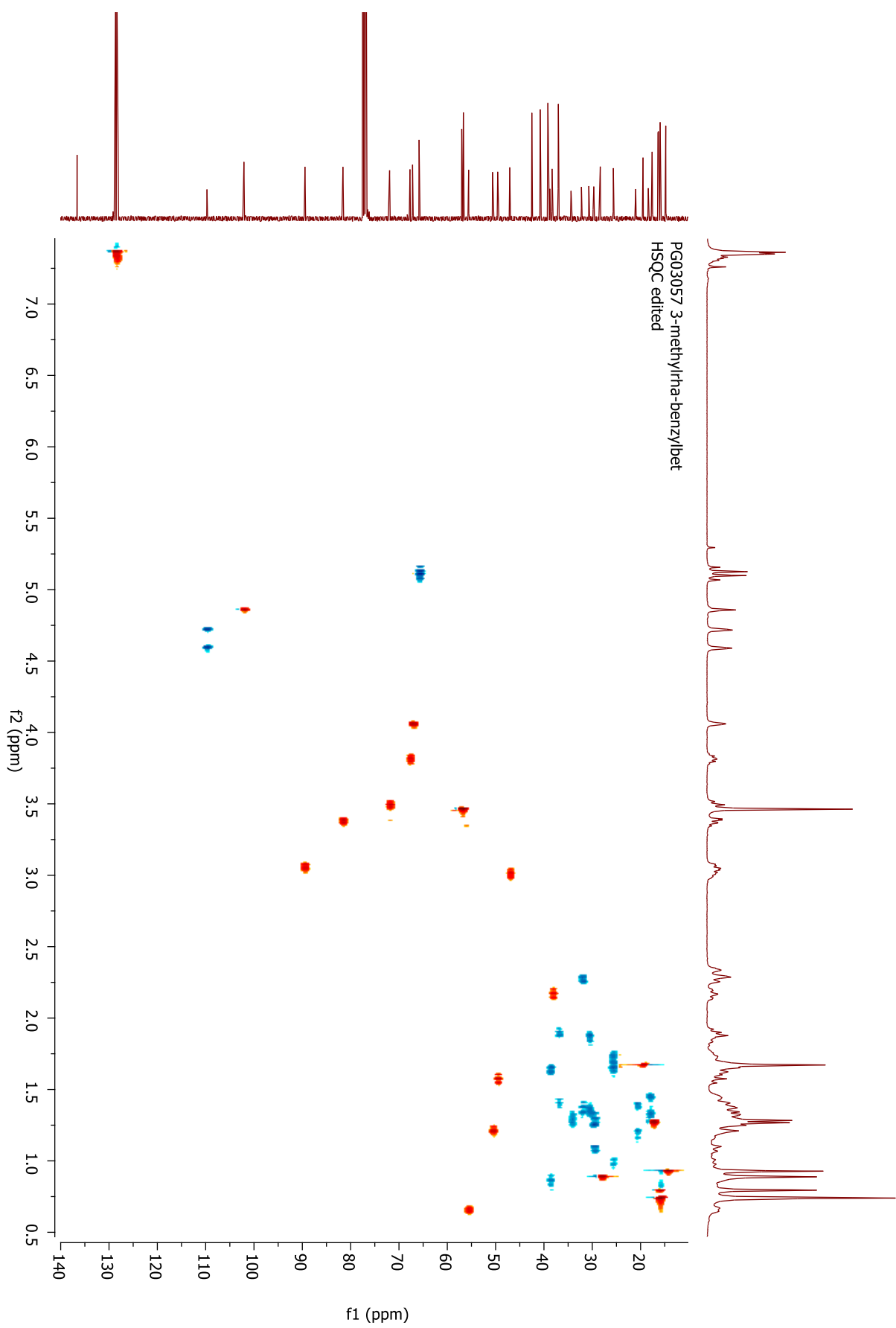


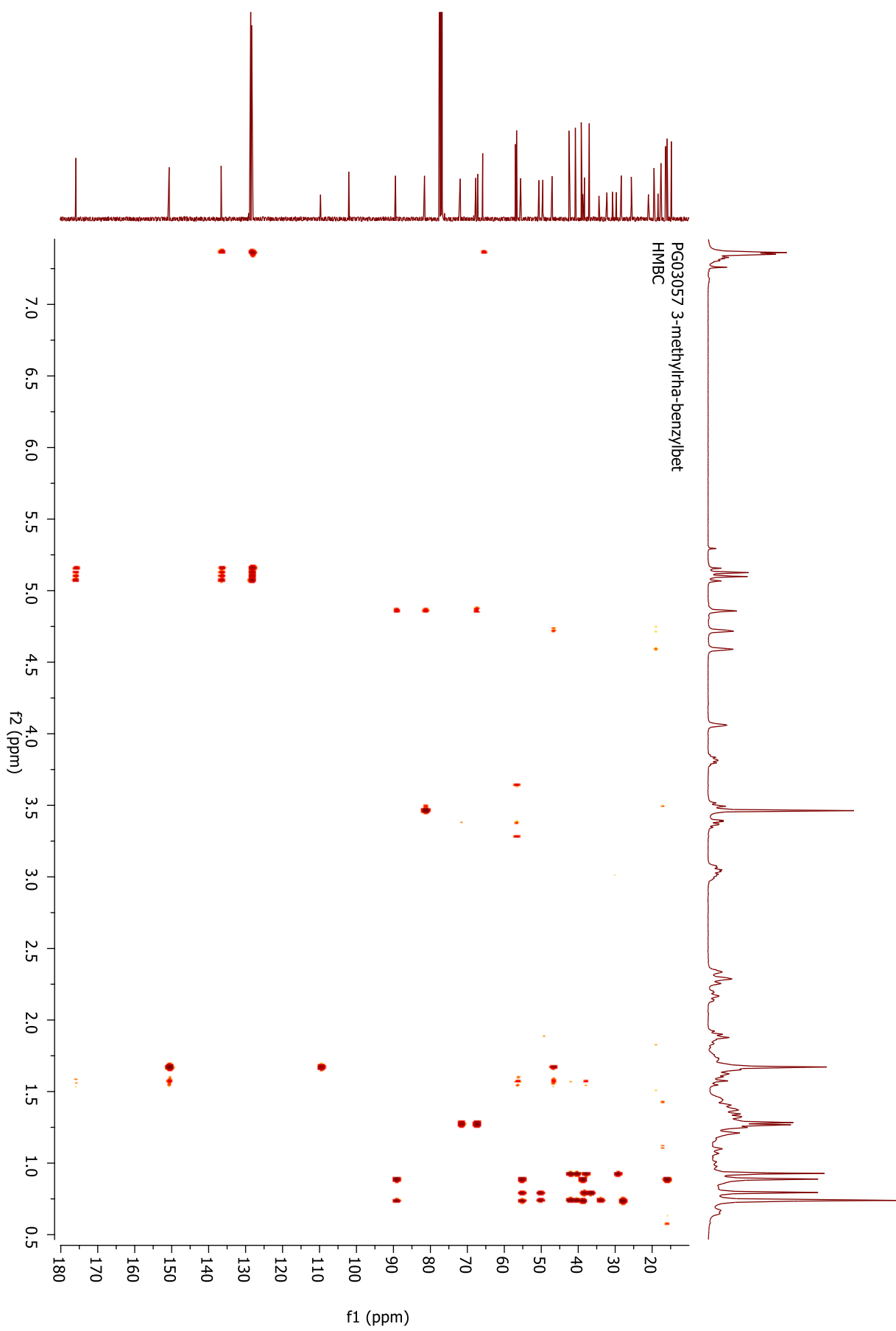
VIII. Spectres RMN du produit (62) (CDCl₃)

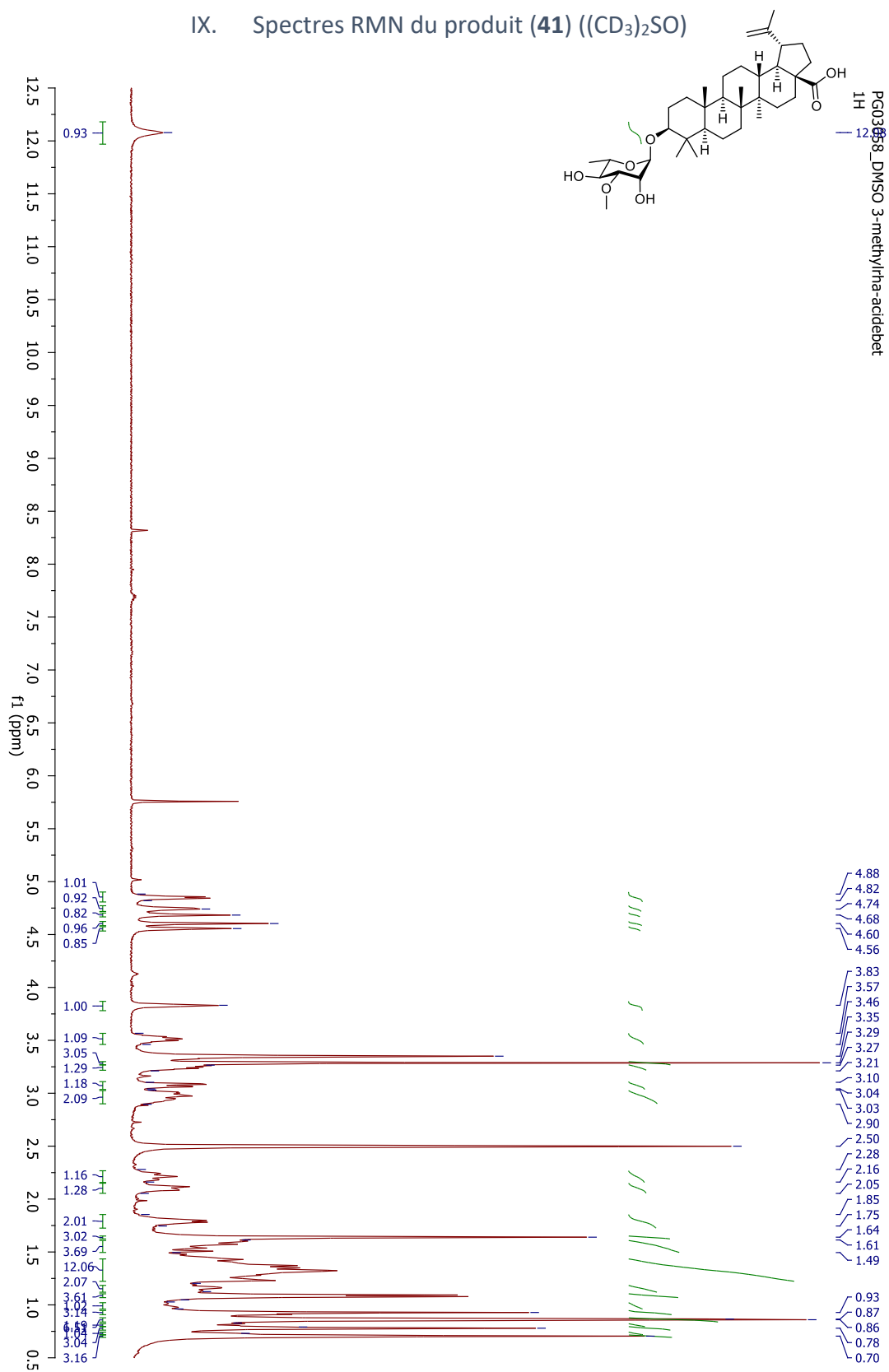


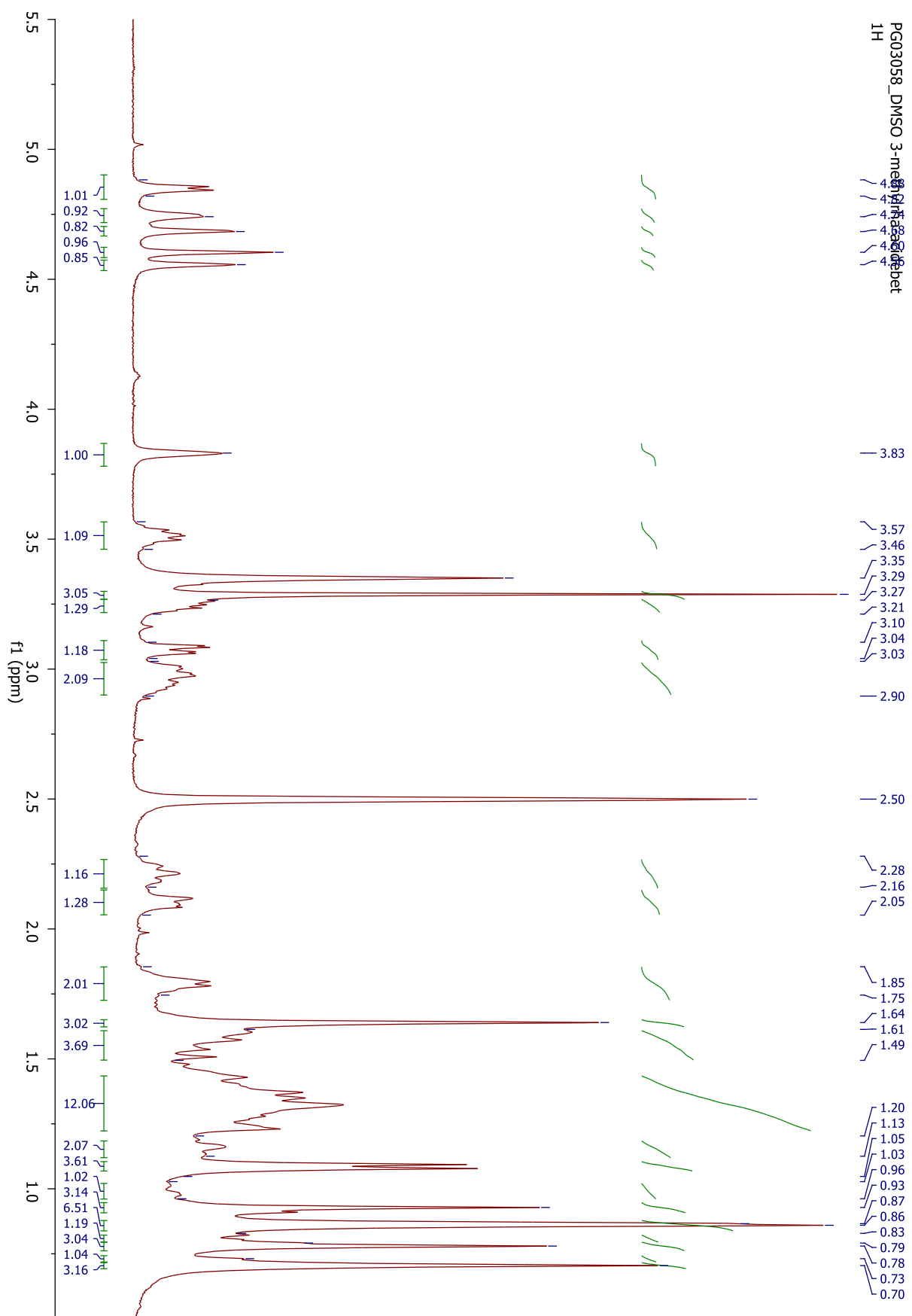


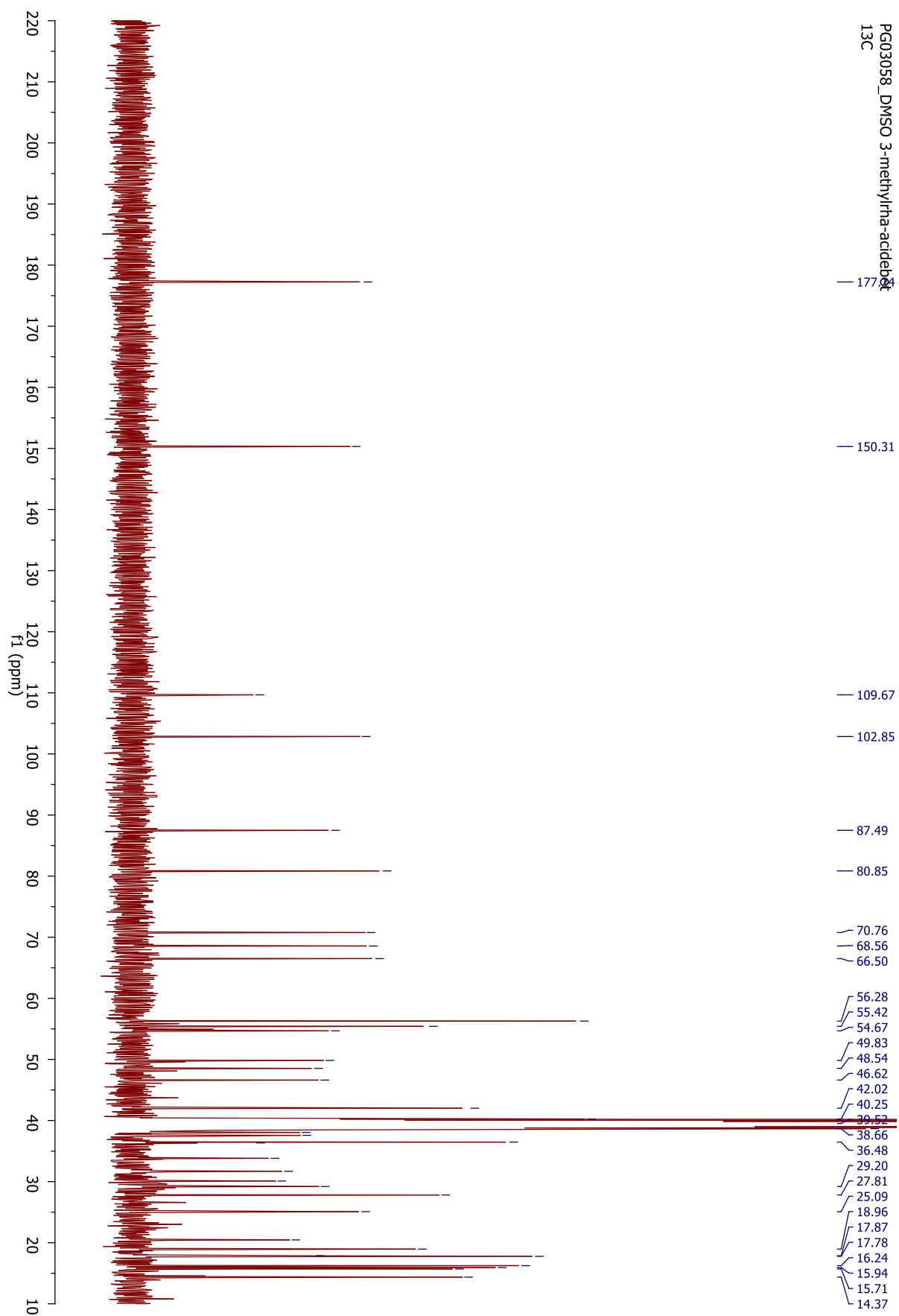


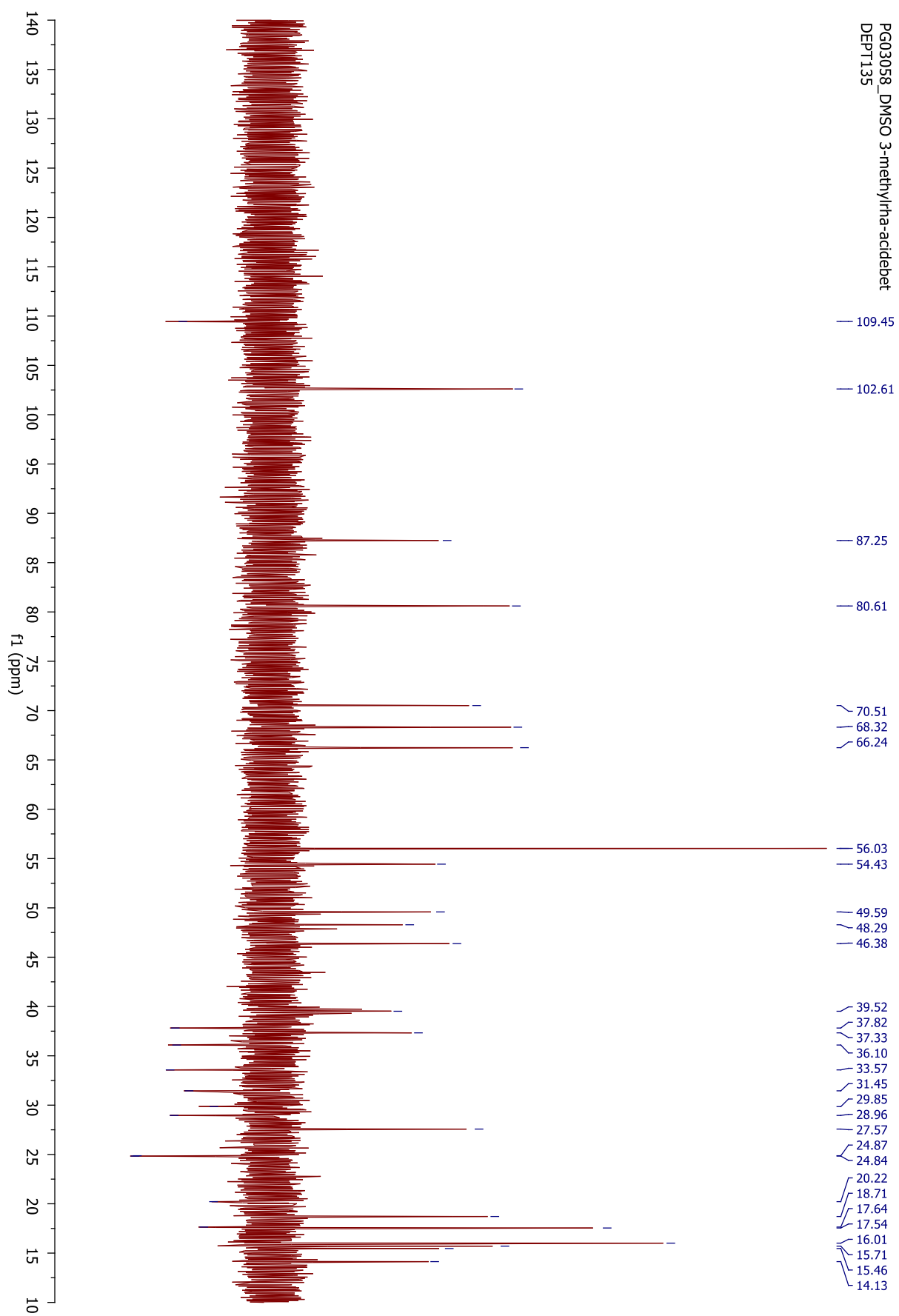


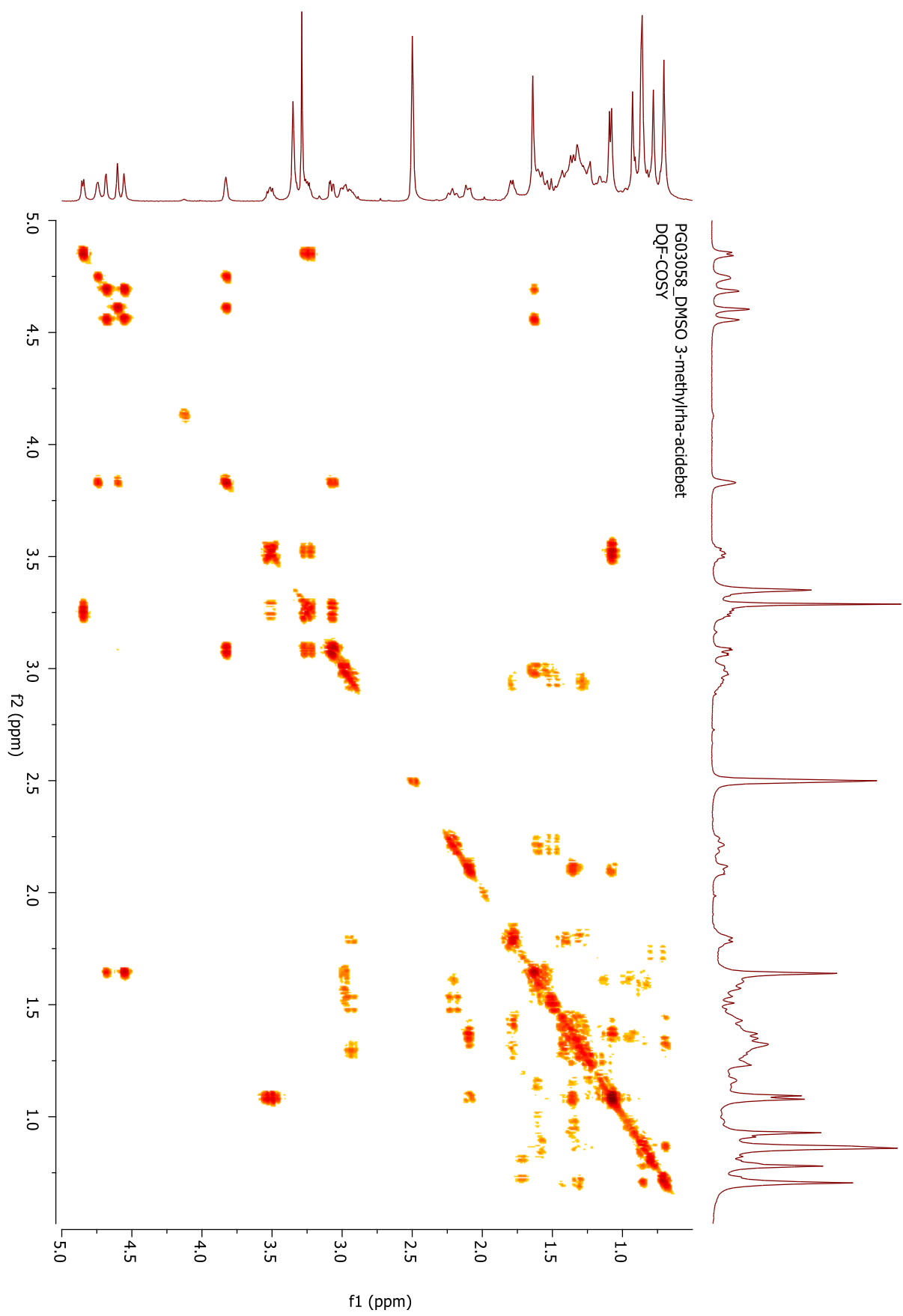


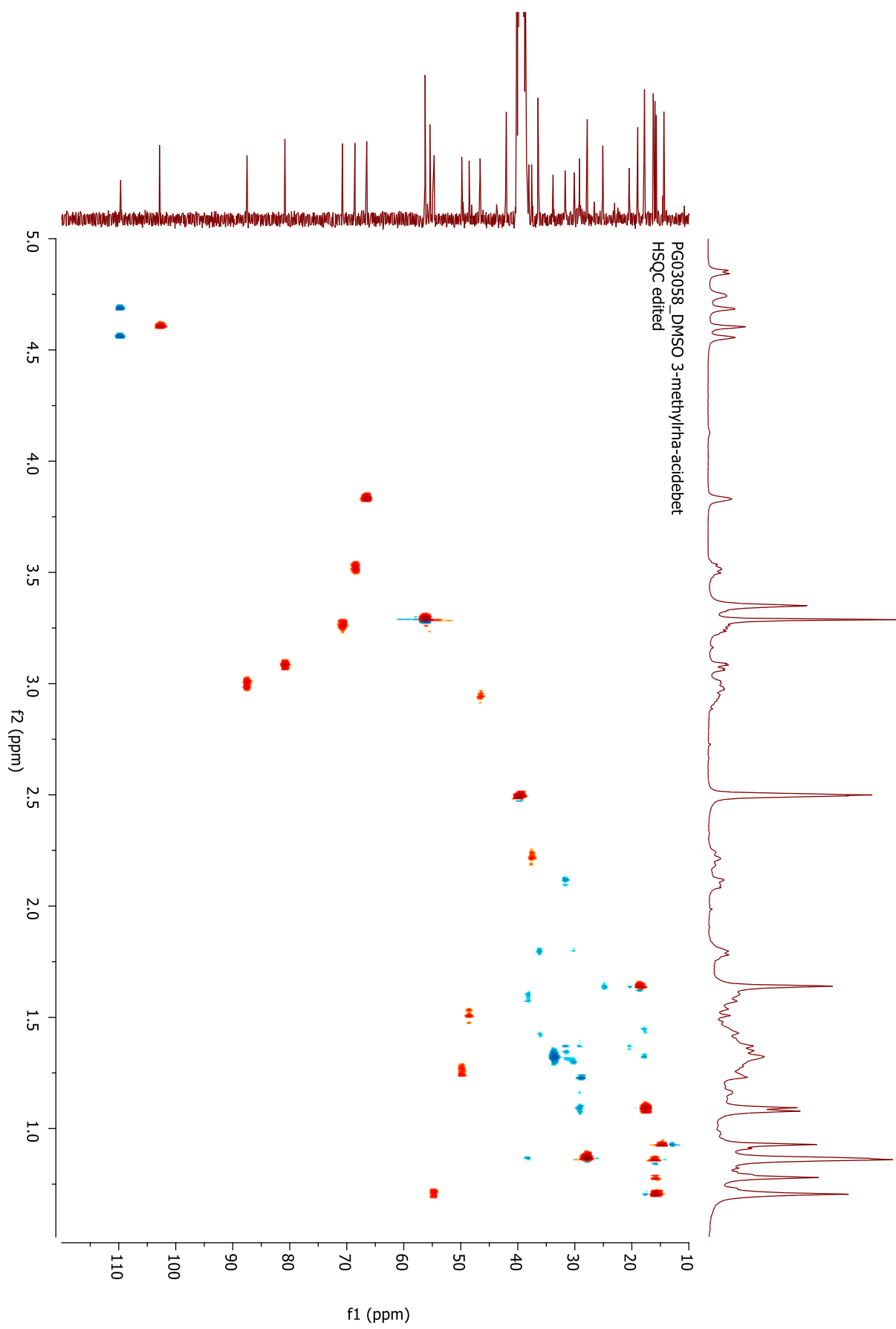
IX. Spectres RMN du produit (41) ((CD₃)₂SO)

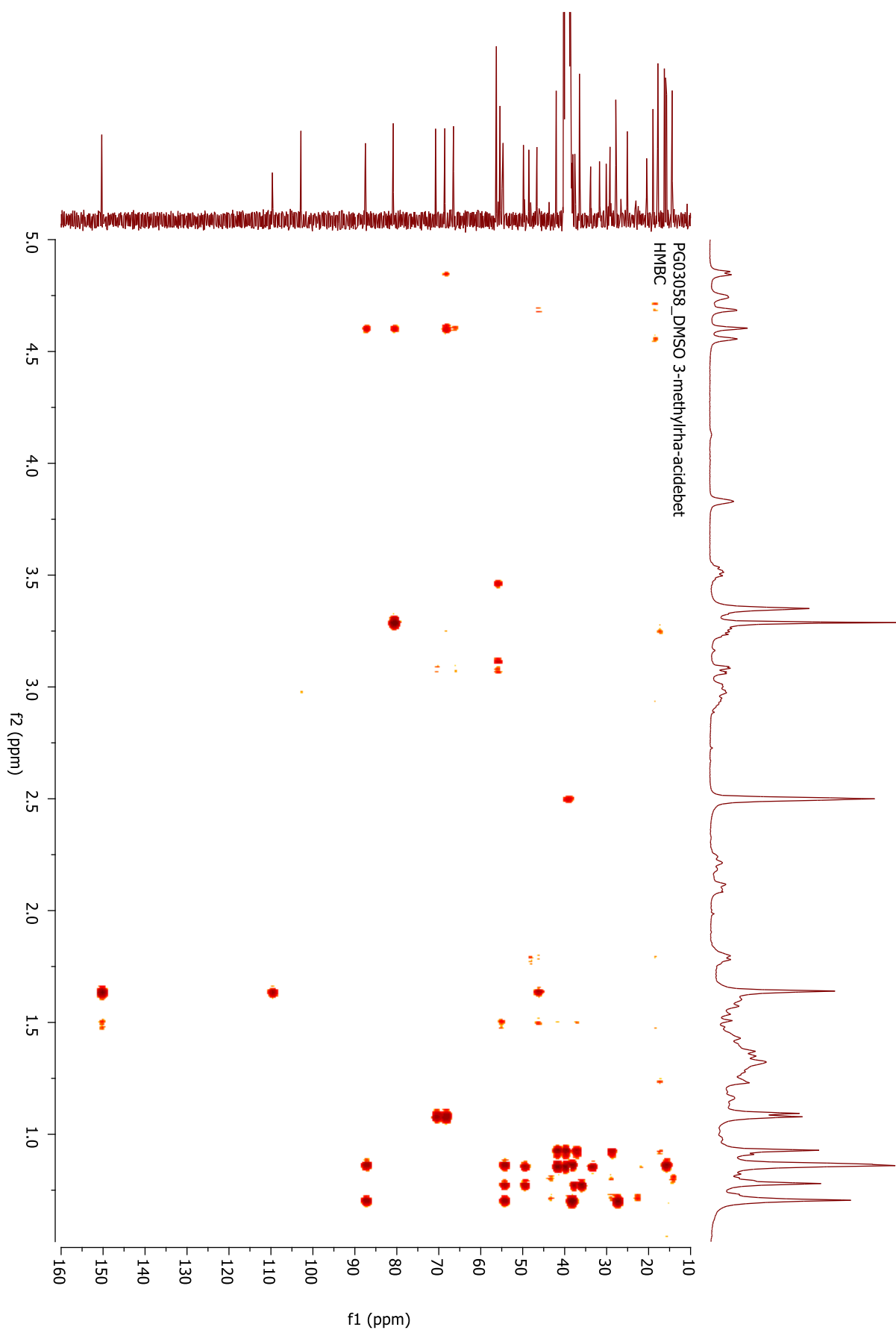


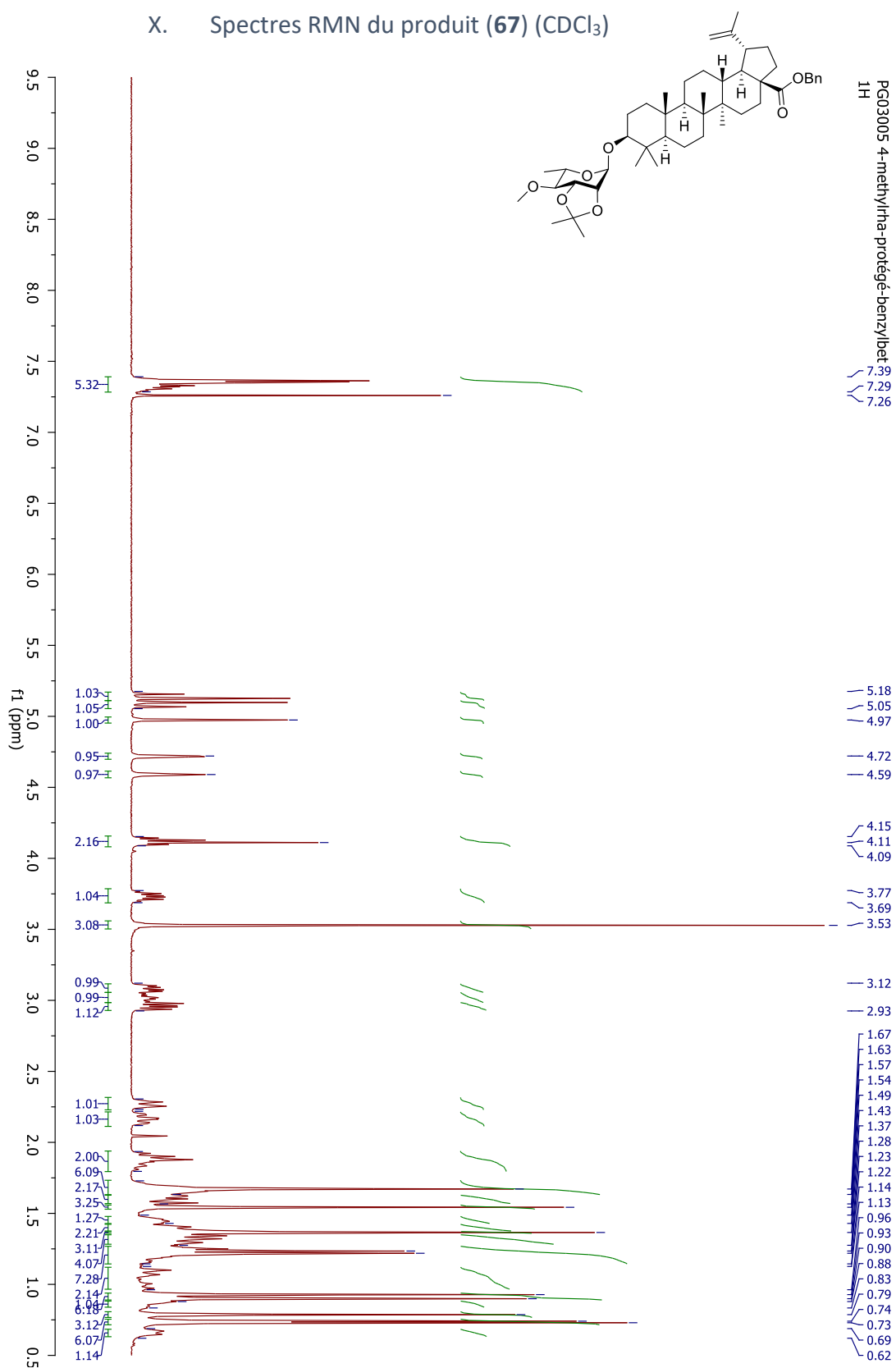


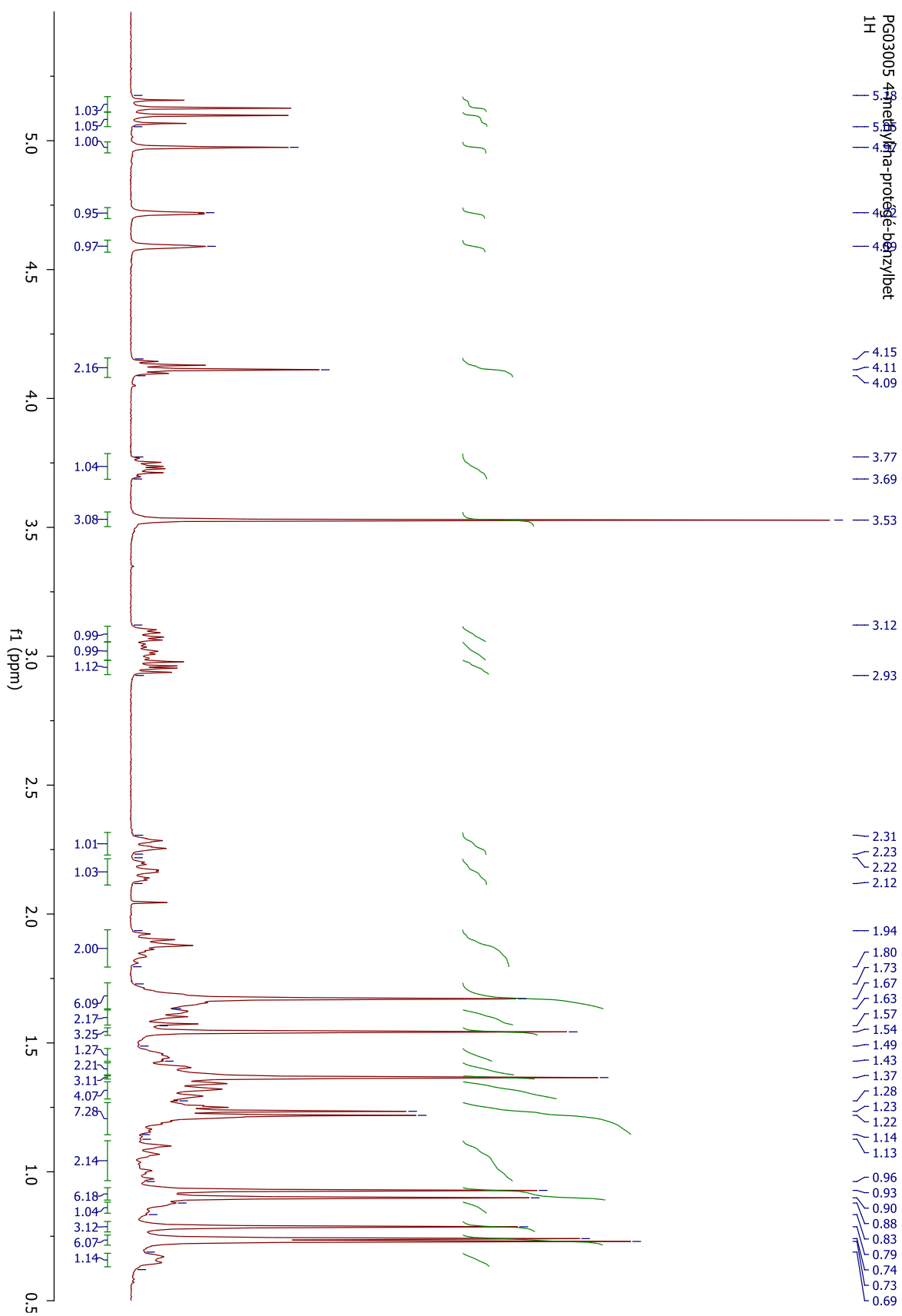
PG03058_DMSO-3-methylrha-acidebet
DEPT135

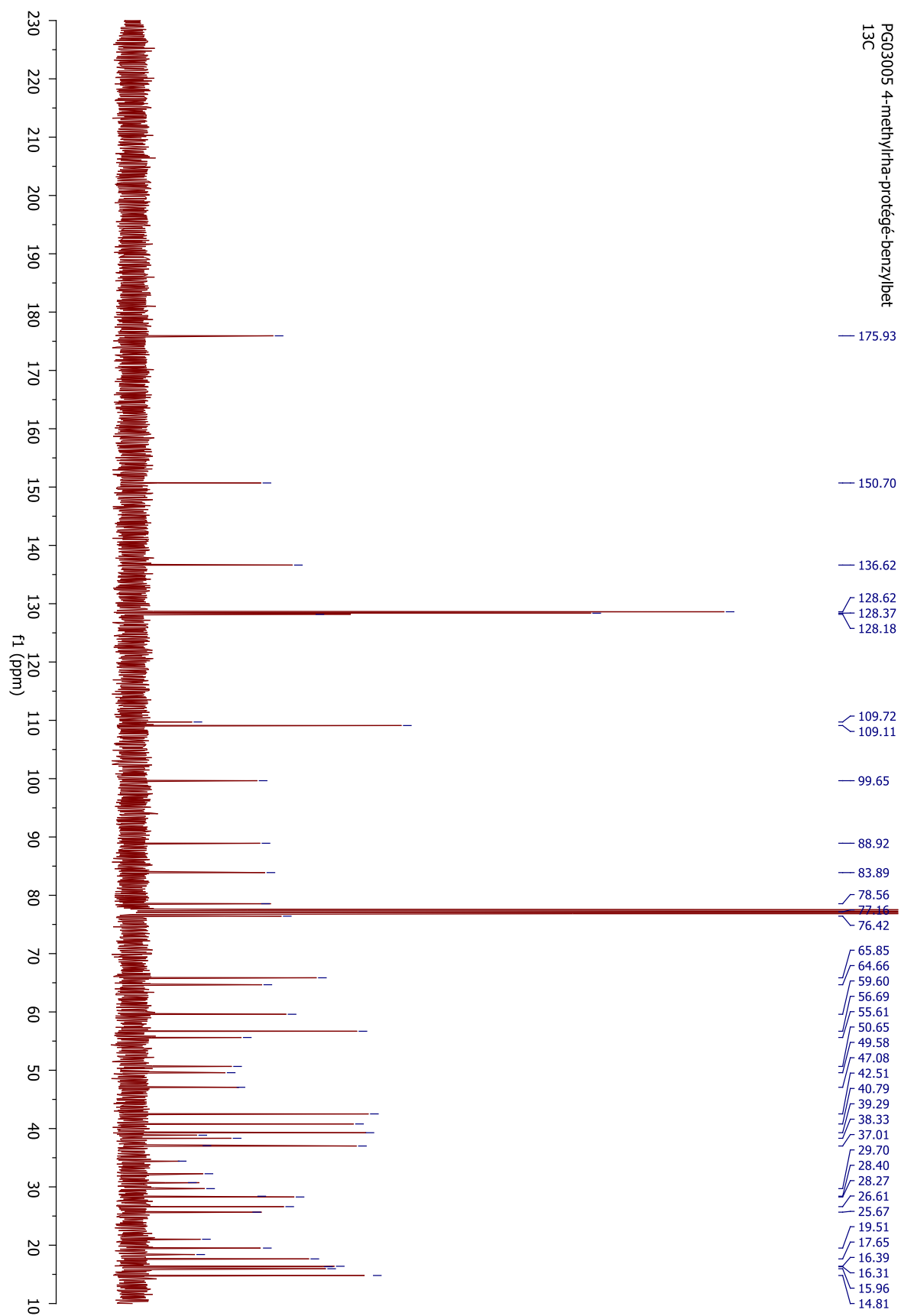


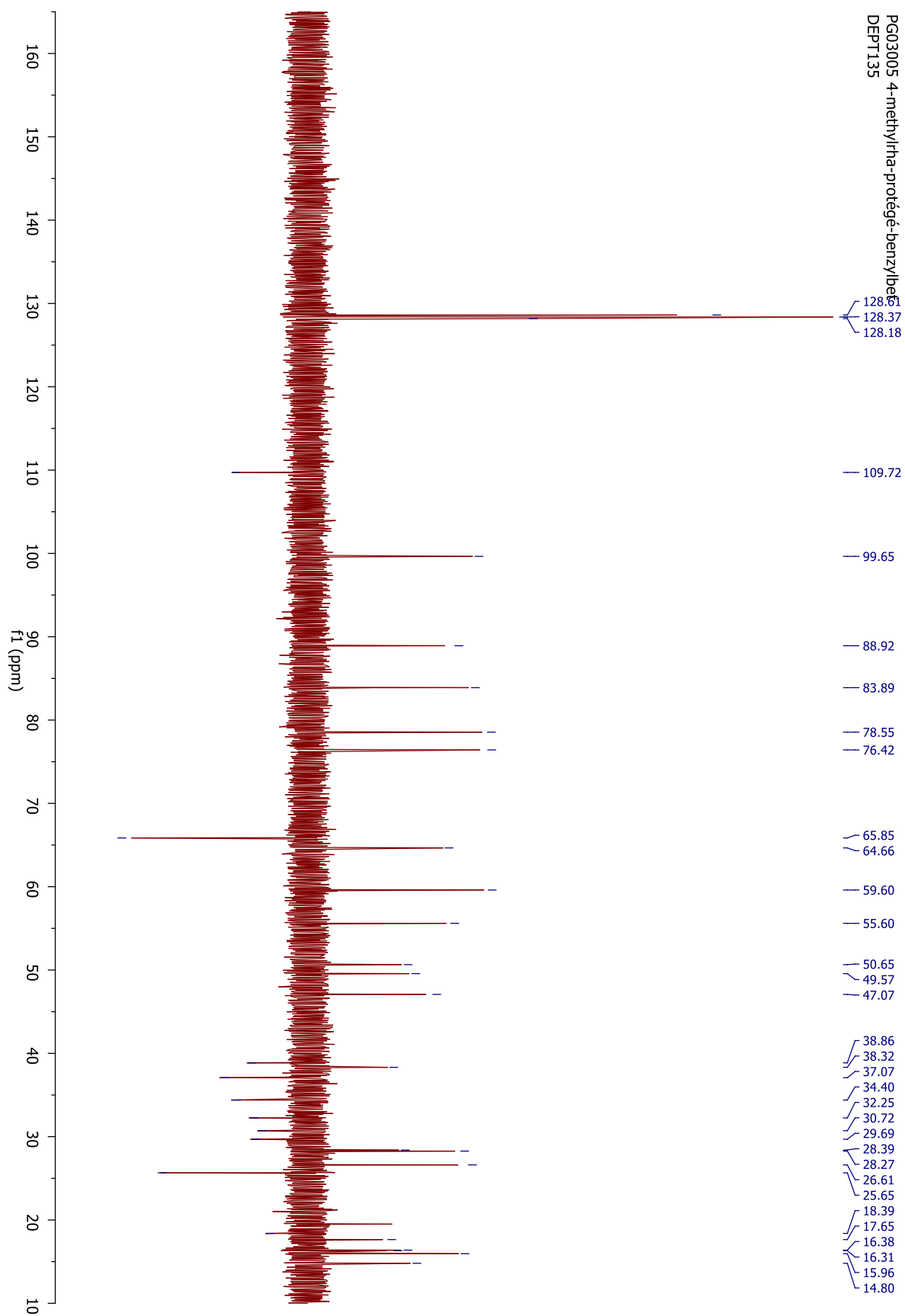


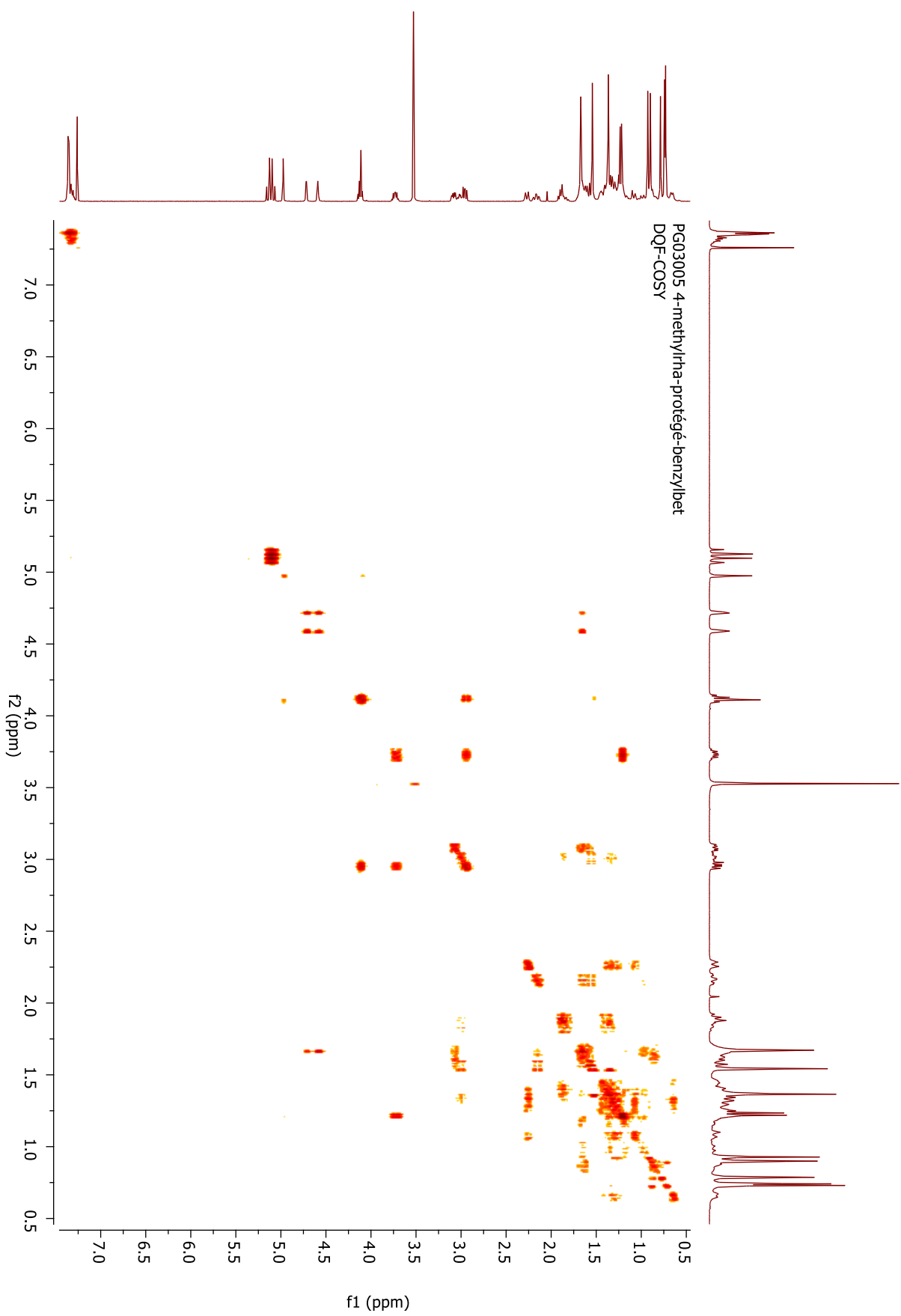


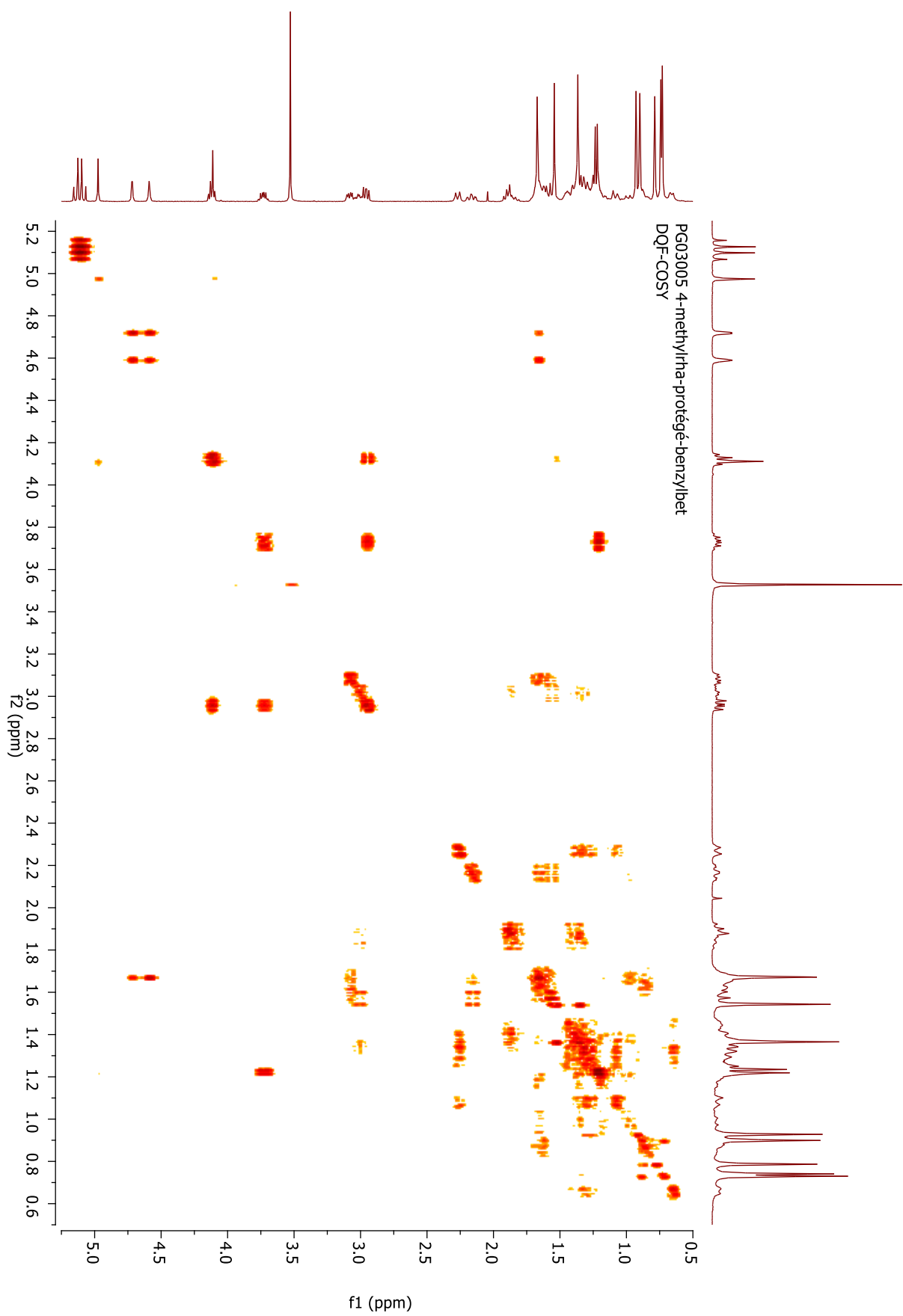
X. Spectres RMN du produit (67) (CDCl₃)

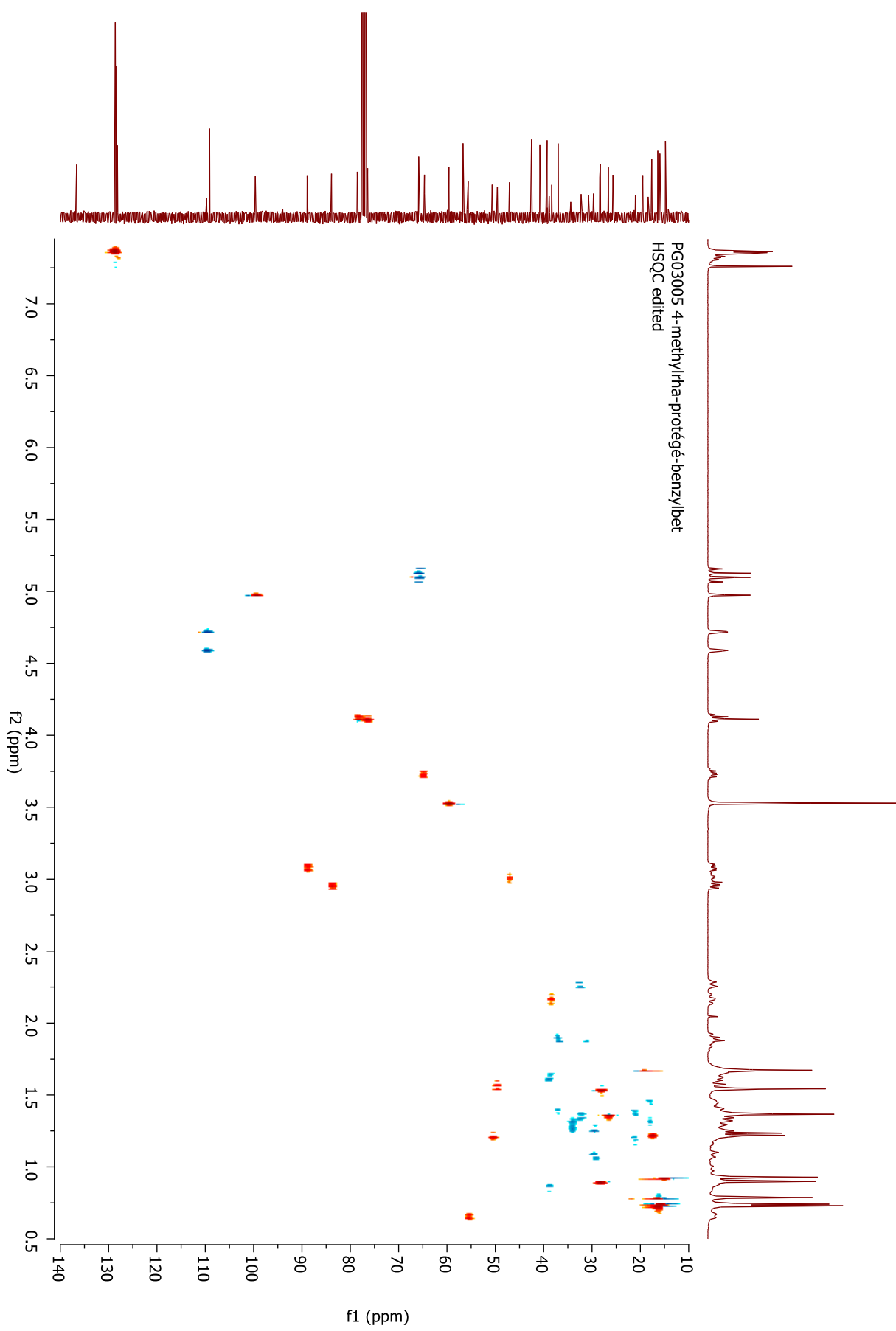


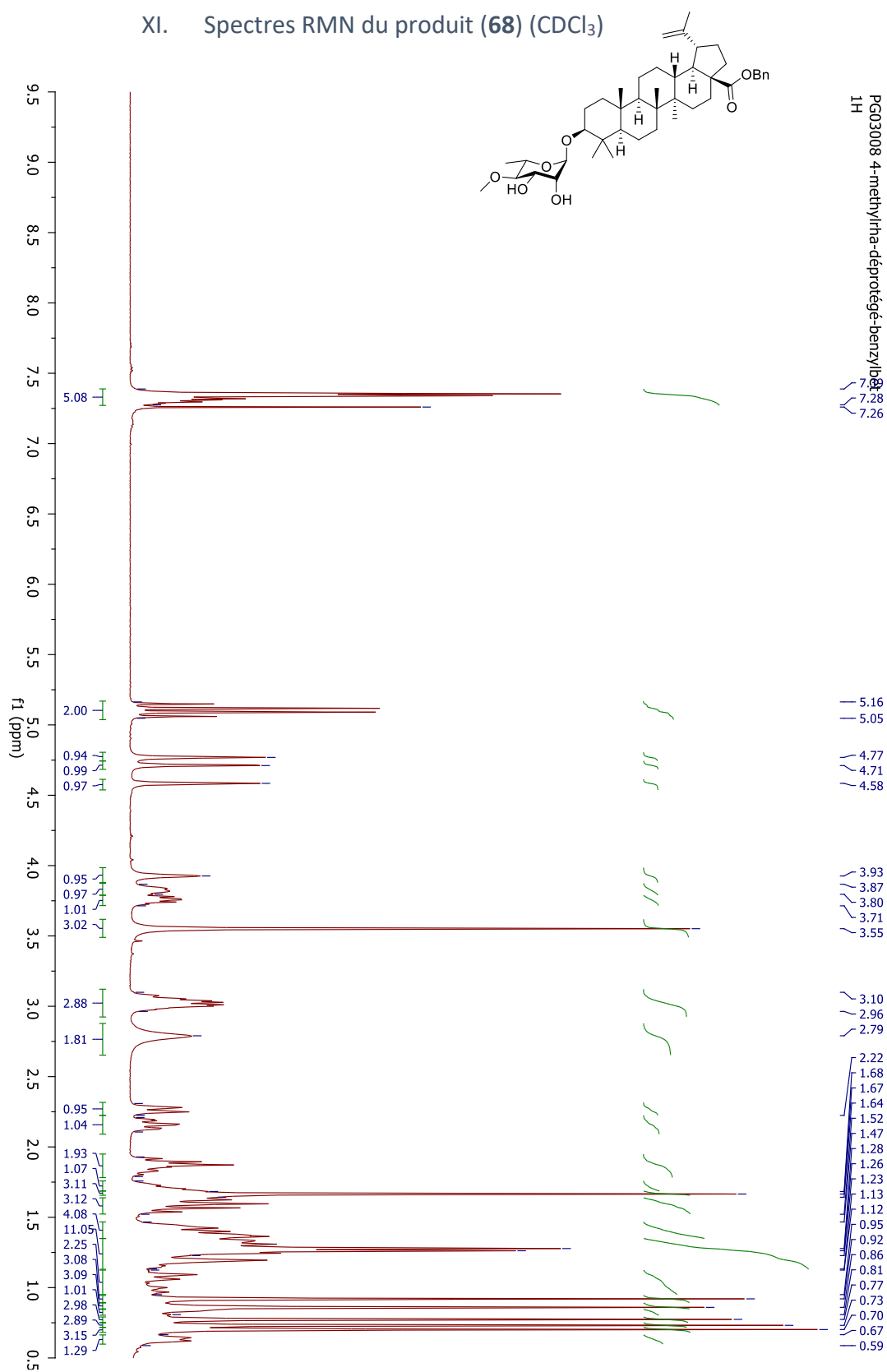


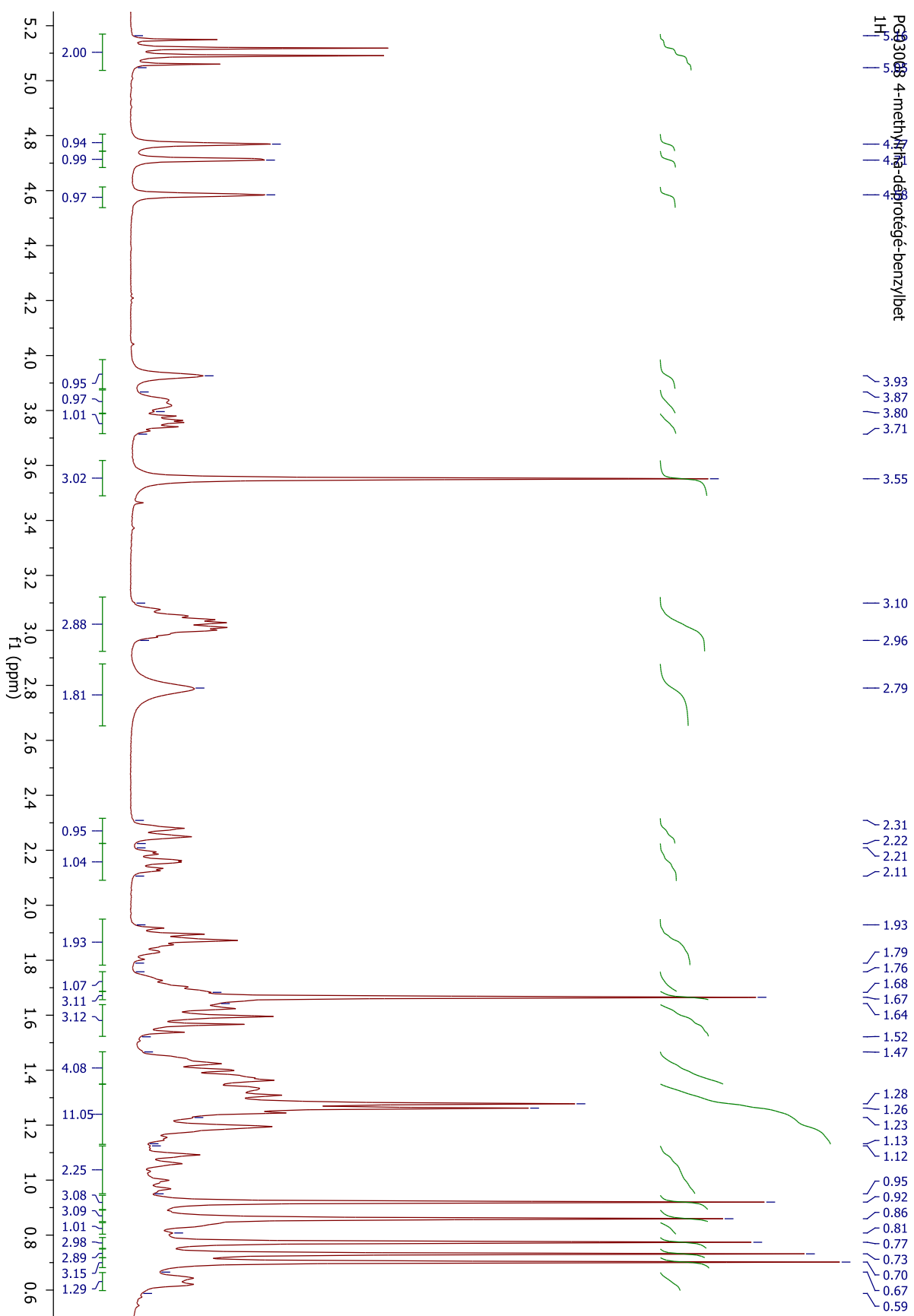


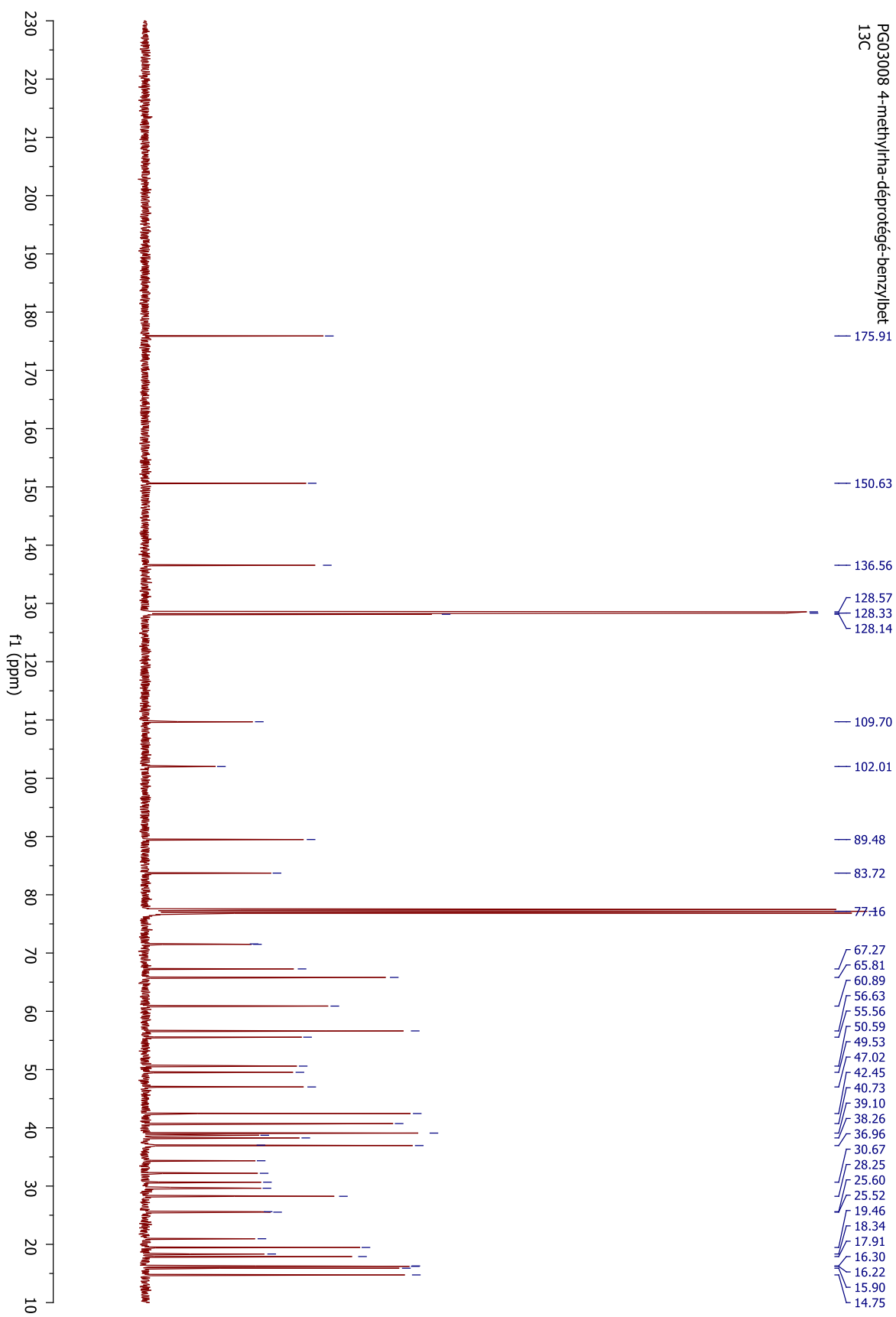


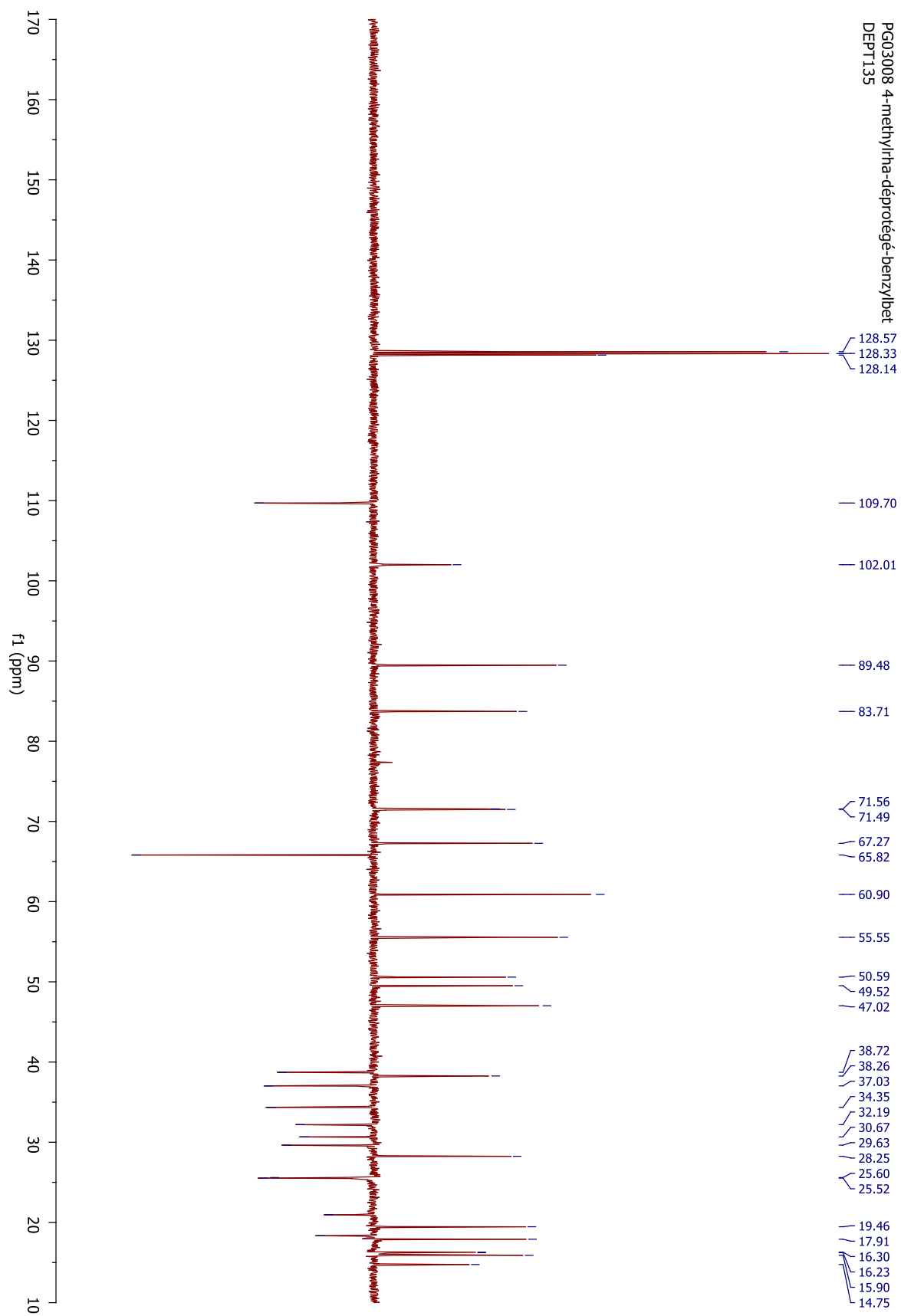


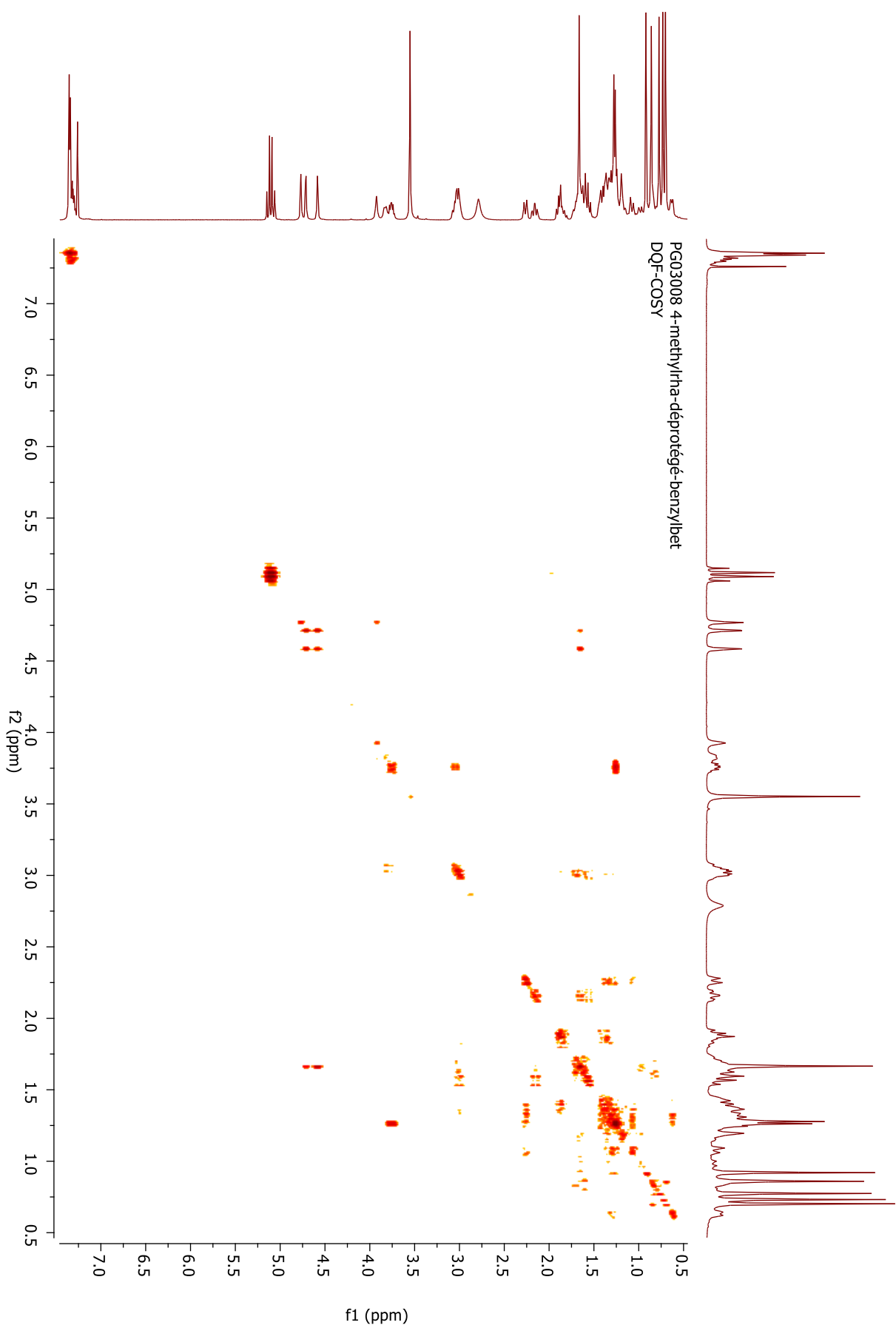


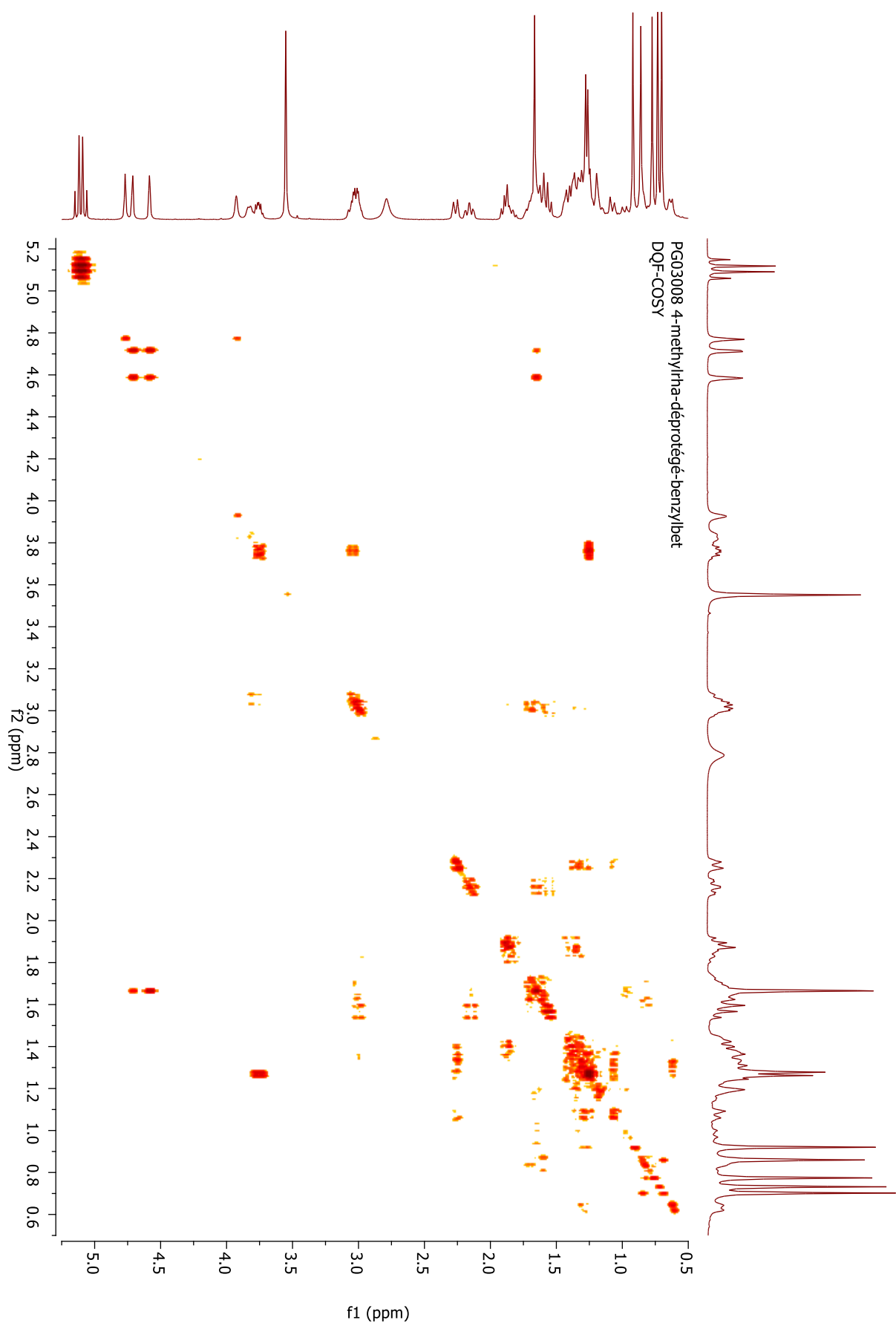
XI. Spectres RMN du produit (68) (CDCl₃)

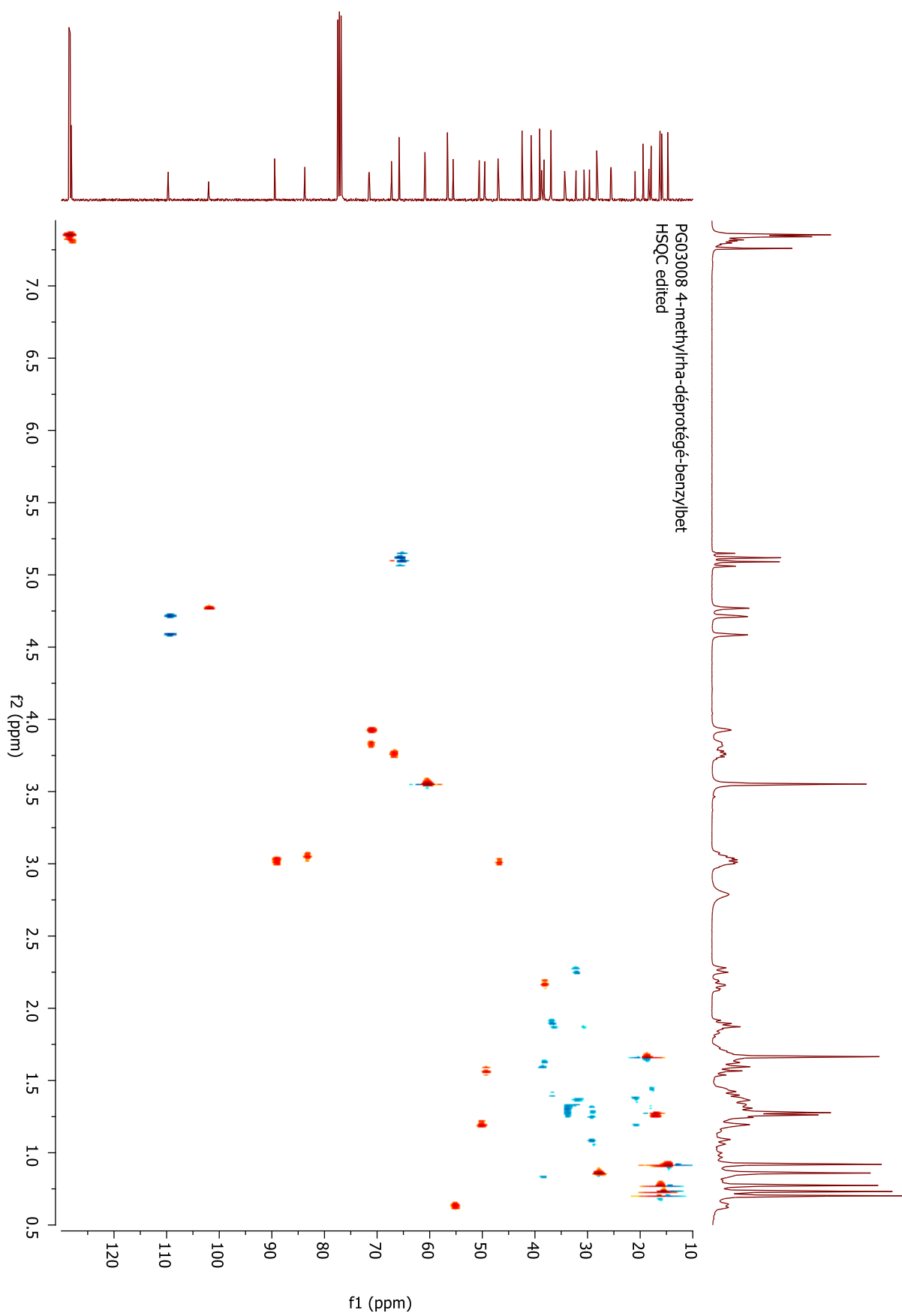


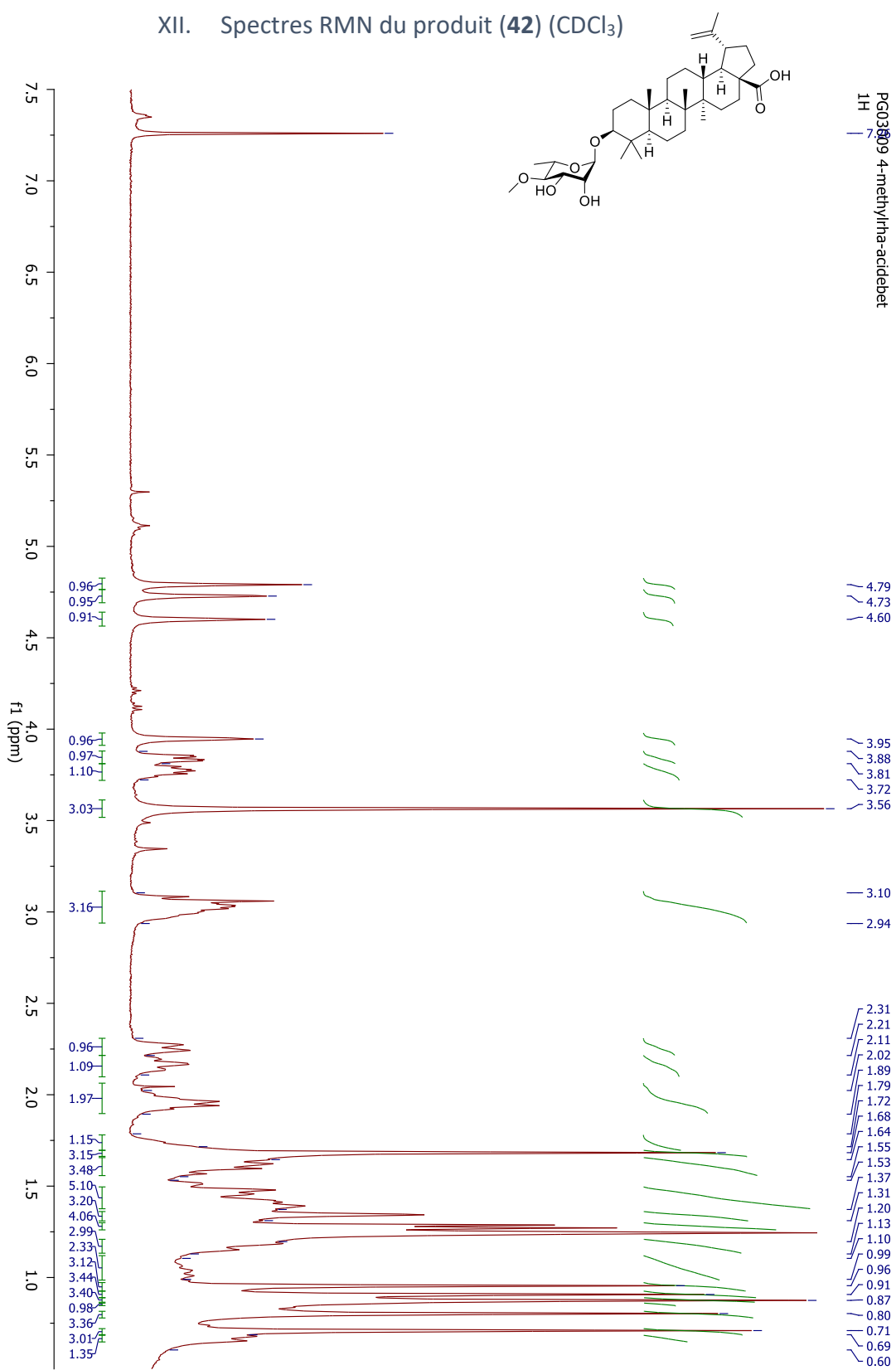


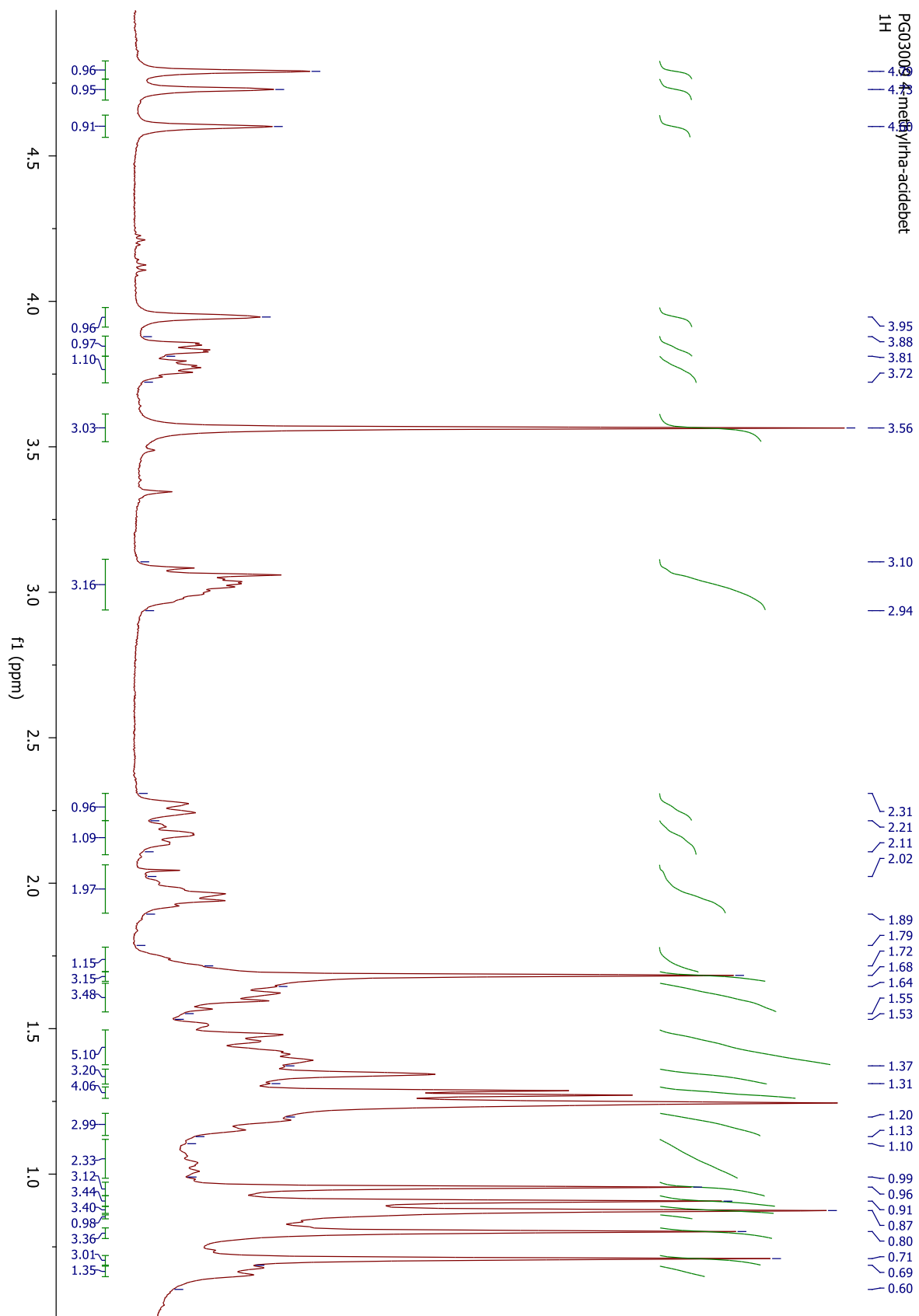


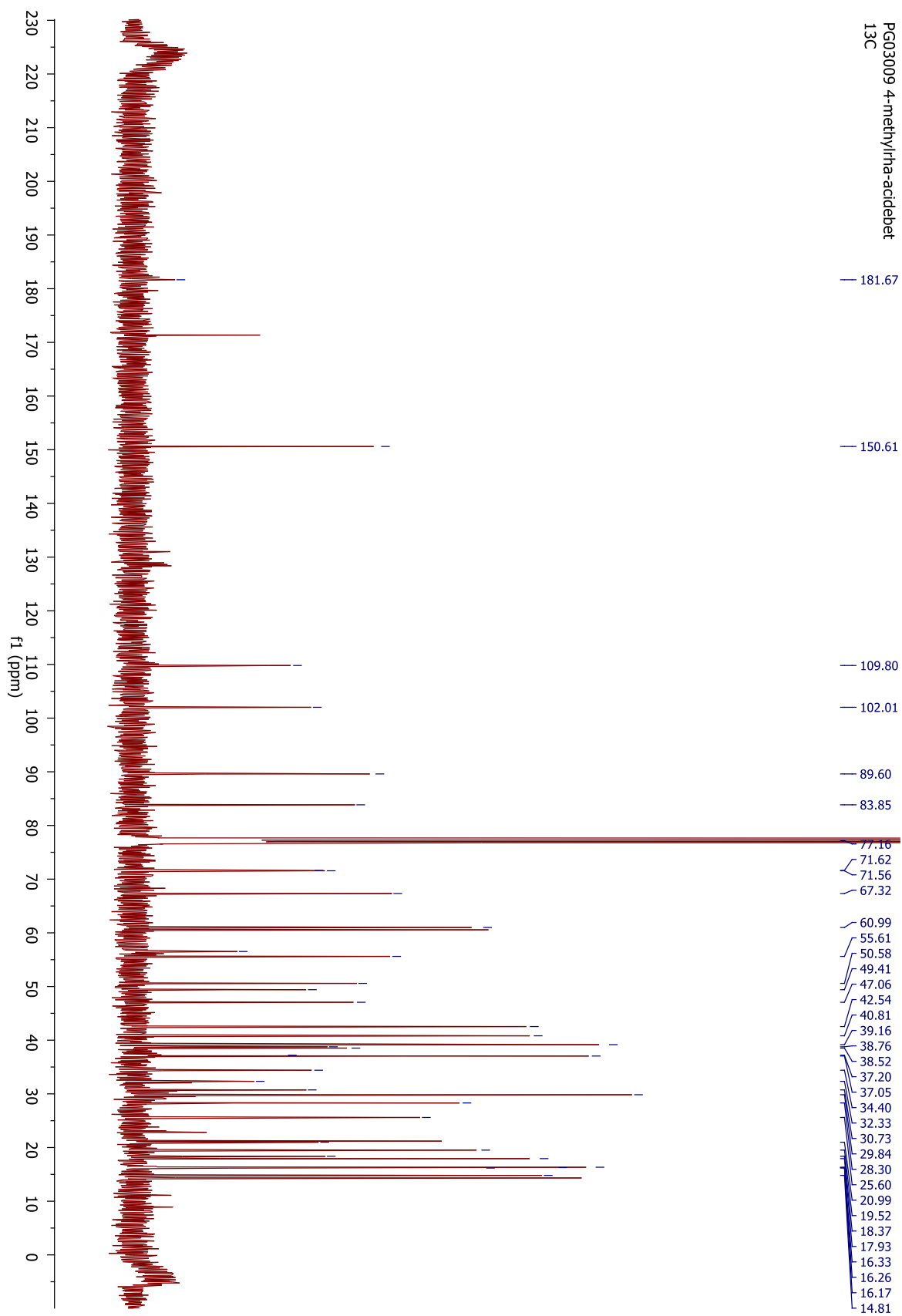


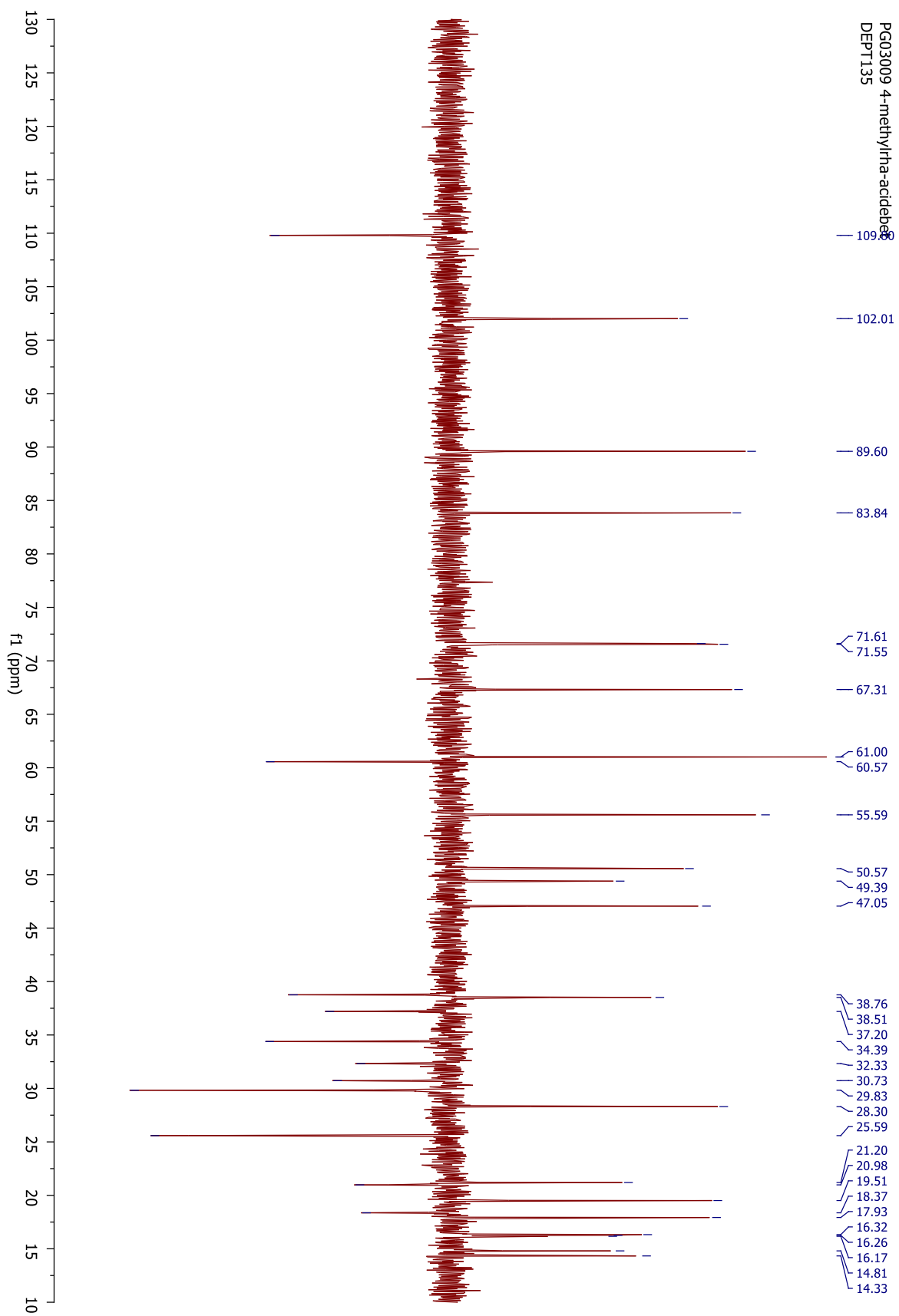


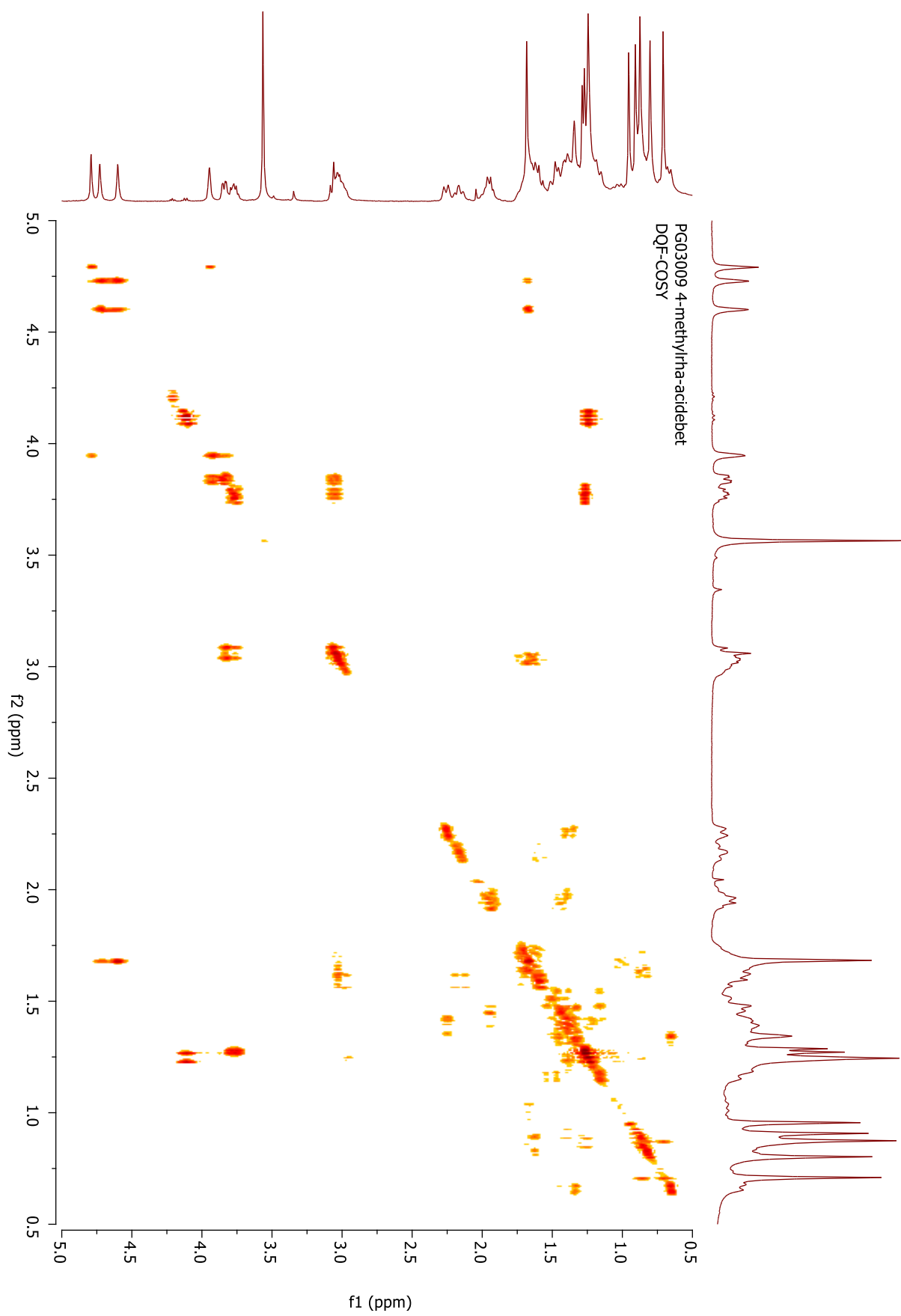


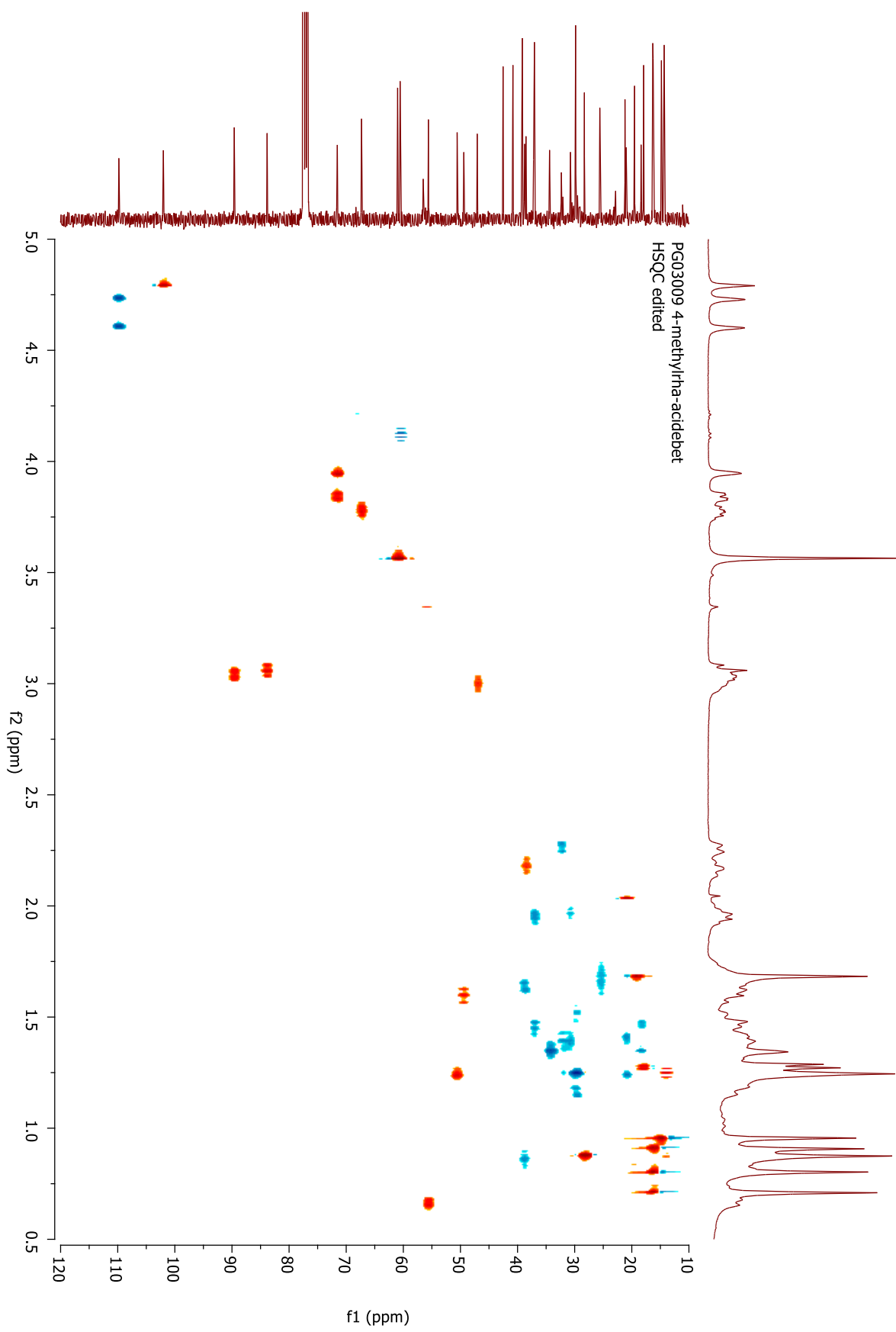
XII. Spectres RMN du produit (42) (CDCl₃)

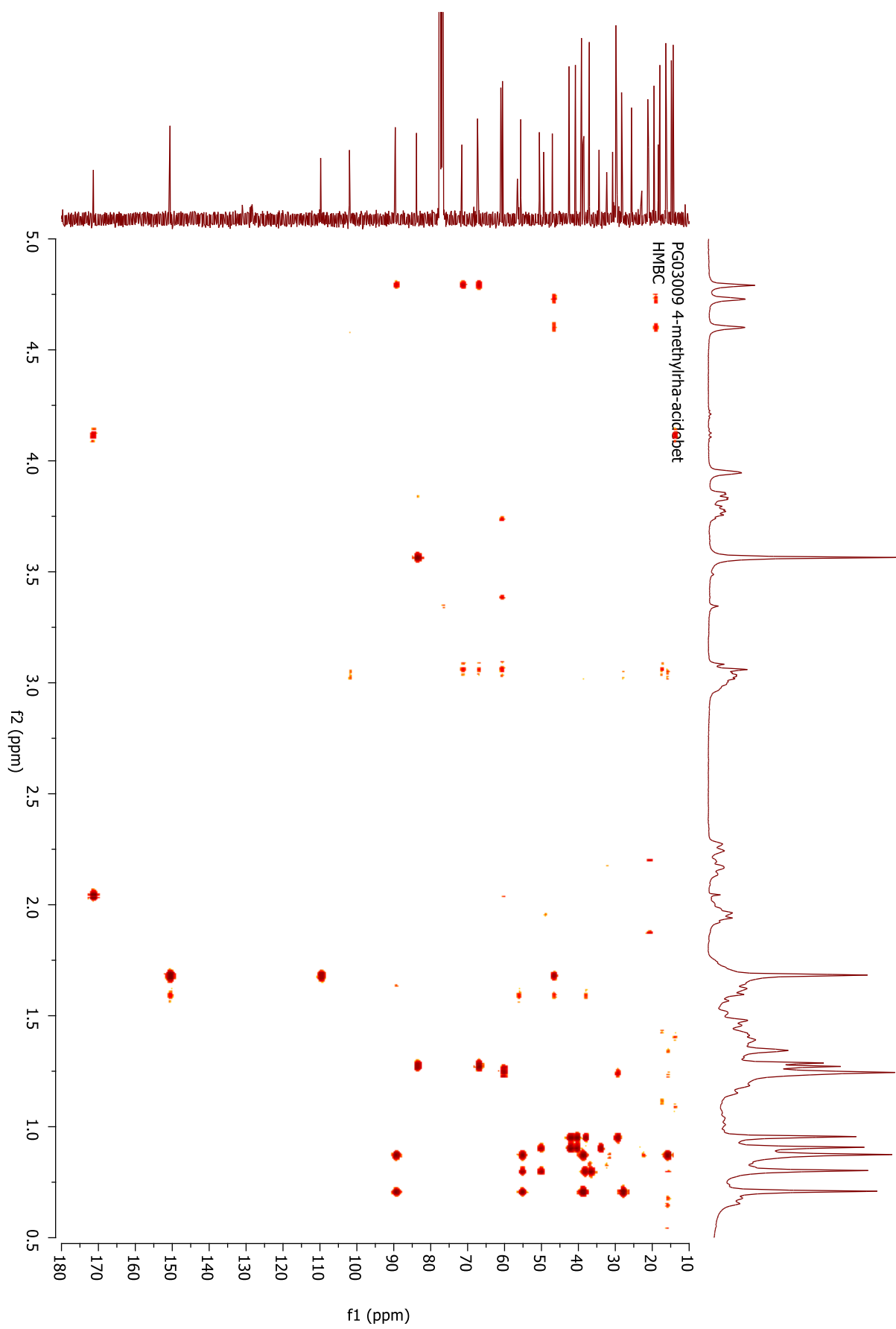












XIII. Données complètes des résultats biologiques

		A-549					
		16		15		14	
Log[C]	[C] (µM)	Survie moyenne (%)	Incertitude (±)	Survie moyenne (%)	Incertitude (±)	Survie moyenne (%)	Incertitude (±)
-2	0	100,00	8,79	100,00	4,03	100,00	7,47
-0,40824	0,390625	NT	NT	NT	NT	NT	NT
-0,10721	0,78125	76,11	7,95	104,03	2,26	88,87	1,62
0,19382	1,5625	53,81	5,85	83,53	2,03	64,82	5,62
0,49485	3,125	49,29	7,40	78,35	2,41	57,01	5,31
0,79588	6,25	28,65	4,72	58,09	2,20	36,04	4,24
1,09691	12,5	25,72	4,46	44,24	1,23	29,82	5,50
1,39794	25	14,48	2,47	29,82	1,00	23,50	2,25
1,69897	50	6,45	1,33	8,85	0,89	8,11	2,04
2	100	5,74	1,43	5,25	1,29	6,83	0,12

		A-549			
		17		Etoposide	
Log[C]	[C] (µM)	Survie moyenne (%)	Incertitude (±)	Survie moyenne (%)	Incertitude (±)
-2	0	100,00	10,53	100,00	1,33
-0,40824	0,390625	NT	NT	74,03	2,30
-0,10721	0,78125	83,37	7,26	60,04	0,40
0,19382	1,5625	62,64	4,54	53,62	1,38
0,49485	3,125	53,14	3,56	47,31	1,35
0,79588	6,25	38,50	2,91	46,34	1,29
1,09691	12,5	27,96	1,37	41,82	1,47
1,39794	25	18,72	1,19	39,62	2,62
1,69897	50	17,74	0,45	33,43	1,93
2	100	18,94	0,74	NT	NT

		DLD-1					
		16		15		14	
Log[C]	[C] (µM)	Survie moyenne (%)	Incertitude (±)	Survie moyenne (%)	Incertitude (±)	Survie moyenne (%)	Incertitude (±)
-2	0	100,00	2,50	100,00	1,56	100,00	9,22
-0,40824	0,390625	NT	NT	NT	NT	NT	NT
-0,10721	0,78125	95,01	6,14	80,53	2,15	87,99	11,10
0,19382	1,5625	60,34	2,02	74,53	6,92	69,43	3,69
0,49485	3,125	56,72	3,15	65,20	6,19	66,54	6,83
0,79588	6,25	39,12	3,76	64,25	5,07	41,23	2,26
1,09691	12,5	35,06	1,77	38,92	2,84	36,61	2,61
1,39794	25	14,62	2,96	28,96	3,90	27,33	3,91
1,69897	50	6,48	1,68	0,88	1,01	3,88	1,65
2	100	5,77	1,51	1,44	0,15	4,84	0,82

		DLD-1			
		17,00		Etoposide	
Log[C]	[C] (µM)	Survie moyenne (%)	Incertitude (±)	Survie moyenne (%)	Incertitude (±)
-2	0	100,00	15,98	100,00	4,07
-0,40824	0,390625	NT	NT	67,84	3,95
-0,10721	0,78125	82,45	10,56	54,60	1,56
0,19382	1,5625	52,62	2,56	43,07	3,48
0,49485	3,125	51,64	7,75	37,75	4,05
0,79588	6,25	28,89	3,60	32,53	3,15
1,09691	12,5	12,15	0,96	31,59	1,81
1,39794	25	2,76	1,53	25,05	1,31
1,69897	50	3,48	0,24	16,58	1,76
2	100	3,85	0,26	NT	NT

		WS-1					
		16		15		14	
Log[C]	[C] (µM)	Survie moyenne (%)	Incertitude (±)	Survie moyenne (%)	Incertitude (±)	Survie moyenne (%)	Incertitude (±)
-2	0	100,00	18,18	100,00	2,66	100,00	3,62
-0,40824	0,390625	NT	NT	NT	NT	NT	NT
-0,10721	0,78125	85,75	8,29	93,62	3,35	90,21	4,41
0,19382	1,5625	78,80	5,20	87,34	3,75	87,19	2,53
0,49485	3,125	84,53	6,58	95,09	6,49	90,71	9,09
0,79588	6,25	75,28	4,67	80,79	8,26	85,43	7,88
1,09691	12,5	71,18	1,77	92,46	4,21	72,43	4,39
1,39794	25	43,68	2,61	85,06	2,23	45,12	5,14
1,69897	50	12,50	1,83	34,23	3,76	8,76	3,77
2	100	12,62	1,95	9,93	1,58	12,56	0,65

		WS-1			
		17,00		Etoposide	
Log[C]	[C] (µM)	Survie moyenne (%)	Incertitude (±)	Survie moyenne (%)	Incertitude (±)
-2	0	100,00	3,01	100,00	4,10
-0,40824	0,390625	NT	NT	57,92	3,55
-0,10721	0,78125	99,35	0,34	54,13	1,20
0,19382	1,5625	93,29	5,76	57,74	5,06
0,49485	3,125	98,83	0,43	49,51	0,45
0,79588	6,25	85,68	5,51	54,67	8,71
1,09691	12,5	16,37	2,73	41,28	2,23
1,39794	25	11,25	0,84	37,71	2,16
1,69897	50	9,66	1,53	31,01	5,93
2	100	15,39	1,24	NT	NT