



UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI

SYNTHÈSE DE GLYCOSIDES CARBAMOYLÉS DE TRITERPÈNES DÉDIÉS À LA  
CHIMIOTHÉRAPIE CIBLÉE

PAR

JOANNE PLOURDE

B. Sc. (BIOLOGIE)

B. Sc. (CHIMIE)

MÉMOIRE PRÉSENTÉ

À L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAÎTRISE EN RESSOURCES RENOUVELABLES

MARS 2022

## RÉSUMÉ

Le cancer est une l'une des principales causes de mortalité dans le monde et au Canada, il s'agit de la première cause de décès. La chimiothérapie, l'un des traitements les plus utilisés pour lutter contre cette maladie, présente toutefois un manque de sélectivité. En effet, les agents de chimiothérapie classique causent non seulement des dommages aux cellules cancéreuses, mais également aux cellules saines. Cela s'accompagne de lourds effets secondaires pour des traitements dont l'efficacité n'est pas optimale. Pour ces raisons, la chimiothérapie ciblée est aujourd'hui un enjeu majeur dans la recherche sur le cancer. Certaines molécules comme les bléomycines présentent une sélectivité pour les cellules cancéreuses. Des études ont démontré que le motif 3-*O*-carbamoyl-D-mannose des bléomycines était responsable de l'internalisation sélective dans les cellules cancéreuses. D'autres glycosides carbamoylés sont également connus pour leurs propriétés prometteuses, ce qui fait des sucres carbamoylés des cibles synthétiques pertinentes.

Devant l'intérêt des sucres carbamoylés pour la synthèse d'agents de chimiothérapie ciblée, des travaux récemment réalisés au LASEVE de l'UQAC ont permis de développer une méthode de carbamoylation catalytique site-sélective de sucres minimalement protégés. Cette voie de synthèse permet un accès simple et rapide à une multitude de sucres carbamoylés aux propriétés prometteuses.

Les triterpènes de type lupane retrouvés dans l'écorce du bouleau blanc (*Betula papyrifera*) sont bien connus pour leurs propriétés cytotoxiques. L'acide bétulinique présente une activité antitumorale très intéressante et des études ont démontré que la glycosylation de l'acide bétulinique, plus précisément l'ajout d'un rhamnose, modulait avantageusement son activité pharmacologique.

En combinant la sélectivité des sucres carbamoylés avec la cytotoxicité des triterpènes de type lupane tels que l'acide bétulinique et son rhamnoside, ce projet a permis de développer des voies de synthèse menant à la préparation de rhamnosides carbamoylés d'acide bétulinique. Un donneur de rhamnose carbamoylé en position 3 et protégé par des groupements benzoates a été préparé, puis une glycosylation de Schmidt avec le benzyle bétulinate a permis l'obtention du glycoside souhaité. Les conditions basiques de déprotection des benzoates ont par la suite mené à une dégradation ou une isomérisation du carbamate en position 2. Une alternative a ensuite été trouvée afin de synthétiser le rhamnoside d'acide bétulinique portant le carbamate en position C-3 du sucre, comme c'est le cas pour les bléomycines. En effet, un donneur de rhamnose carbamoylé en position 3 et protégé par des groupements AZMB a été préparé et une glycosylation de Schmidt avec le benzyle bétulinate a ensuite permis l'obtention du glycoside souhaité. La déprotection des groupements AZMB en conditions douces (Pd/C et formiate d'ammonium) a ensuite été effectuée avec succès, donnant accès au 3-*O*-carbamoylrhamnoside d'acide bétulinique souhaité. Ceci a donc démontré que l'utilisation de groupements protecteurs pouvant être déprotégés en conditions neutres tels que les AZMB est la méthode à privilégier afin de préserver l'intégrité du carbamate sur un glycoside. La cytotoxicité et la sélectivité du 3-*O*-carbamoylrhamnoside d'acide bétulinique synthétisé seront comparées à celles du

rhamnoside d'acide bétulinique afin d'évaluer l'influence de la carbamoylation sur les propriétés du glycoside.

## TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ .....	iii
LISTE DES FIGURES .....	vii
LISTE DES ANNEXES .....	ix
LISTE DES ABRÉVIATIONS .....	x
REMERCIEMENTS.....	xii
INTRODUCTION .....	1
<b>CHAPITRE 1 – REVUE DE LA LITTÉRATURE .....</b>	<b>5</b>
1.1 Évolution des causes de mortalité .....	6
1.2 Le cancer .....	6
1.3 Développement d'un cancer.....	7
1.4 Progrès des connaissances sur les traitements contre le cancer .....	8
1.5 La chimiothérapie.....	9
1.6 Les sucres carbamoylés, des outils thérapeutiques prometteurs .....	10
1.7 Des progrès en carbamoylation site-sélective de sucres .....	13
1.8 Les cellules cancéreuses et leurs besoins en sucres .....	15
1.9 Les végétaux de la forêt boréale, une ressource inestimable .....	16
1.10 Modulation de l'activité des triterpènes pentacycliques de type lupane.....	17
1.11 Glycosylation de Schmidt .....	19
1.12 Objectifs et hypothèses de recherche .....	20
<b>CHAPITRE 2 – RÉSULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>22</b>
2.1 Généralités : Deux voies de synthèse envisagées .....	23
2.1.1 Carbamoylation tardive.....	23
2.1.2 Glycosylation entre un donneur de sucre carbamoylé et un aglycone.....	25
2.2 Synthèse de rhamnosides de triterpènes carbamoylés .....	25

2.2.1 Synthèse du donneur protégé par des benzoates.....	25
2.2.2 Essais de synthèse du 3- <i>O</i> -carbamoylrhamnoside d'acide bétulinique par glycosylation avec le trichloroacétimide benzoylé 6 .....	32
2.2.3 Synthèse du donneur protégé par des AZMB.....	36
2.2.4 Synthèse du 3- <i>O</i> -carbamoylrhamnoside d'acide bétulinique .....	39
2.3 Synthèse du rhamnoside d'acide bétulinique (témoin) .....	42
2.3.1 Synthèse du TCA .....	42
2.3.2 Synthèse du glycoside.....	43
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>45</b>
<b>CHAPITRE 3 - PARTIE EXPÉRIMENTALE.....</b>	<b>47</b>
3.1 General informations.....	48
3.1.1 Chemicals.....	48
3.2 Synthesis of <i>N</i> -(4-Methoxybenzyl)-1 <i>H</i> -imidazole-1-carboxamide (1).....	49
3.3 Synthesis of the donor of carbamate-bearing rhamnoside protected with benzoates 6 .....	49
3.4 Synthesis of the betulinic acid 2- <i>O</i> -carbamoylrhamnoside 9 .....	54
3.5 Synthesis of protecting group 2-(azidomethyl) benzoic acid (AZMBOH) (10) .....	57
3.6 Synthesis of the donor of carbamate-bearing rhamnoside protected with AZMB 12.....	58
3.7 Synthesis of the betulinic acid 3- <i>O</i> -carbamoylrhamnoside 14 .....	60
3.8 Synthesis of the rhamnoside donor 15 .....	62
3.9 Synthesis of 3- <i>O</i> - $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl betulinic acid 17.....	63
<b>RÉFÉRENCES.....</b>	<b>65</b>
<b>ANNEXES – SPECTRES RMN .....</b>	<b>71</b>

## LISTE DES FIGURES

Figure 1. Stades du développement d'un cancer .....	7
Figure 2. Structure de la bléomycine A <sub>5</sub> avec le fragment 3-O-carbamoyl-D-mannose en rose. .....	11
Figure 3. Voie de synthèse du 3-O-carbamoyl-D-mannose selon la méthode développée par Boger et Honda en 1994. ....	13
Figure 4. Mécanisme de la carbamoylation catalytique site-sélective développée à l'UQAC. .....	14
Figure 5. Synthèse d'un carbamoylimidazole à partir d'un carbonyldiimidazole et d'une amine dans l'eau .....	15
Figure 6. Triterpènes pentacycliques de type lupane retrouvés dans l'écorce du bouleau blanc ( <i>Betula papyrifera</i> ). ....	17
Figure 7. Structure et IC <sub>50</sub> du rhamnoside d'acide bétulinique (à gauche) et du birhamnoside de bétulinol (à droite) (Gauthier et al. 2006; Gauthier et al. 2009) (cellules A549=cancer du poumon humain, DLD-1= cancer colorectal humain, B16-F1=mélanome de souris, PC-3=cancer de la prostate humain, MCF7=cancer du sein humain, WS1=peau normale humain). .....	18
Figure 8. Schéma mécanistique général de la glycosylation de Schmidt. ....	19
Figure 9. Schéma rétrosynthétique global de la démarche de synthèse.....	20
Figure 10. Représentation schématique de la carbamoylation tardive .....	23
Figure 11. Synthèse du catalyseur utilisé pour les réactions de carbamoylation.....	24
Figure 12. Essais de carbamoylation site-sélective tardive du birhamnoside de bétulinol...24	
Figure 13. Représentation schématique de la synthèse utilisant un donneur de sucre carbamoylé.....	25
Figure 14. Schéma rétrosynthétique général de la synthèse du donneur de rhamnoside carbamoylé, <b>6</b> .....	26
Figure 15. Déprotection du 4-méthoxybenzyle carbamate au CAN.....	27
Figure 16. Synthèse du réactif de carbamoylation portant un 4-méthoxybenzyle ( <b>1</b> ).....	28
Figure 17. Synthèse du rhamnoside de 4-méthoxyphényle carbamoylé <b>4</b> . ....	29

Figure 18. Synthèse du TCA de rhamnose carbamoylé ( <b>6</b> ).....	31
Figure 19. Synthèse du composé <b>7</b> . .....	33
Figure 20. Synthèse du composé <b>8</b> . .....	34
Figure 21. Déprotection du glycoside benzoylé <b>8</b> conduisant au produit d'isomérisation <b>9</b> . .....	35
Figure 22. Hypothèse de mécanisme d'isomérisation intramoléculaire du carbamate.....	36
Figure 23. Hypothèse de mécanisme de méthanolyse du carbamate.....	36
Figure 24. Synthèse de l'acide 2-(azidométhyle) benzoïque ( <b>10</b> ).....	37
Figure 25. Synthèse du donneur de rhamnose carbamoylé protégé avec des AZMB ( <b>12</b> )...	38
Figure 26. Synthèse du 3-O-carbamoylrhamnoside d'acide bétulinique ( <b>14</b> ).....	40
Figure 27. Mécanisme de déprotection d'un groupement AZMB en conditions neutres. ....	41
Figure 28. Synthèse du rhamnose TCA ( <b>15</b> ). .....	42
Figure 29. Synthèse du 3-O-rhamnoside d'acide bétulinique ( <b>17</b> ).....	43



## LISTE DES ANNEXES

Annexe 1: $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR Spectra of compound 1 .....	72
Annexe 2: $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR Spectra of compound 2 .....	74
Annexe 3: $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR Spectra of compound 3 .....	76
Annexe 4: $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC and HMBC NMR Spectra of compound 4 .....	78
Annexe 5: $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC and HMBC NMR Spectra of compound 5 .....	83
Annexe 6: $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC and HMBC NMR Spectra of compound 6 .....	88
Annexe 7: $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC and HMBC NMR Spectra of compound 7 .....	93
Annexe 8: $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC and HMBC NMR Spectra of compound 8 .....	98
Annexe 9: $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC and HMBC NMR Spectra of compound 9 .....	103
Annexe 10: $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR Spectra of compound 10 .....	108
Annexe 11: $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC and HMBC NMR Spectra of compound 11 .....	110
Annexe 12: $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC and HMBC NMR Spectra of compound 12 .....	115
Annexe 13: $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC and HMBC NMR Spectra of compound 13 .....	120
Annexe 14: $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC and HMBC NMR Spectra of compound 14 .....	125
Annexe 15: $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR Spectra of compound 15 .....	130
Annexe 16 : $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR Spectra of compound 16 .....	132
Annexe 17 : $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR Spectra of compound 17 .....	134

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

ACN :	acétonitrile
ADN :	acide désoxyribonucléique
ATP :	adénosine triphosphate
AZMB :	2-(azidométhyl) benzoate
CT :	carbamoylation tardive
CAM :	ceric ammonium molybdate
CAN :	cérium ammonium nitrate
CDI :	carbonyldiimidazole
COSY :	correlated spectroscopy
DCE :	1,2-dichloroéthane
DCM :	dichlorométhane
DIPEA :	<i>N,N</i> -diisopropyléthylamine
DMAP :	4-diméthylaminopyridine
DMSO :	diméthylsulfoxyde
EDCI :	1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide
HMBC :	heteronuclear multiple bond correlation
HRMS :	high resolution mass spectroscopy
Hsp90 :	heat shock protein 90
HSQC :	heteronuclear single quantum coherence
IC <sub>50</sub> :	concentration inhibant 50 % de la croissance cellulaire
LASEVE :	Laboratoire d'Analyse et de Séparation des Essences Végétales
PMB :	4-méthoxybenzyle
PMP :	4-méthoxyphényle
PMT :	prodrogue monothérapie
Ppm :	parties par million
Rf :	rapport frontal
RMN :	résonnance magnétique nucléaire
t.a. :	température ambiante
TCA :	trichloroacétimide
TMEDA :	tétraméthyl-éthylènediamine
UQAC :	Université du Québec à Chicoutimi
UV :	ultraviolet

**À ma famille,**

## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier sincèrement toutes les personnes qui ont contribué au succès de cette maîtrise. Tout d'abord, un énorme merci à mon codirecteur de recherche le Professeur André Pichette pour son accueil chaleureux au laboratoire LASEVE, son appui et ses encouragements tout au long de mon parcours, que ce soit au baccalauréat ou à la maîtrise. Il m'a offert de magnifiques opportunités qui ont marqué mon cheminement et je lui en suis très reconnaissante. Je tiens également à remercier mon autre codirecteur de recherche, le Professeur Jérôme Alsarraf. Jérôme m'a accueilli dans son équipe avec à tous les jours une bonne humeur contagieuse et un intérêt sincère pour ma réussite. Son soutien quotidien et sa disponibilité pour répondre à mes questions sans jugement et avec patience ont fait une énorme différence dans ma réussite et mon appréciation de cette expérience en recherche. Ses grandes compétences en tant que pédagogue, scientifique et chercheur en font un mentor d'exception. Qui plus est, Jérôme accorde non seulement de l'importance à la réussite de ses étudiants, mais également à chacun d'eux en tant que personne. Pour toutes ces raisons ainsi que plusieurs autres, je suis très reconnaissante d'avoir pu travailler avec lui tout au long de ces années.

Je tiens aussi à remercier tous les membres du LASEVE qui ont contribué de diverses manières à cette réussite. Un grand merci au Dr Balla Sylla pour ses conseils et son support. Ton implication auprès des étudiants du laboratoire fait toute la différence. Merci également aux Professeurs Jean Legault, Vakhtang Mshvildadze et Serge Lavoie, à François Simard, Alexis St-Gelais, Catherine Dussault, Karl Girard-Lalancette, Tommy Perron, Caroline Potvin et Josianne Savard. Merci à tous mes collègues du laboratoire qui ont rendu cette expérience si agréable, dont Christina Thibeault pour son écoute, son soutien et les nombreux fous rires! Une belle amitié qui s'est développée au laboratoire et qui restera longtemps j'en suis certaine.

Je remercie également le Fonds de recherche nature et technologies du Québec (FRQNT) et le Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG) pour le soutien financier offert pour la poursuite de cette maîtrise.

Je termine maintenant avec ma famille. Me connaissant, vous saurez certainement en lisant ceci que quelques larmes ont été versées à l'écriture de ces remerciements! À mes parents, Jean-Claude et Susan, je ne saurais vous dire à quel point je suis reconnaissante pour le soutien indéfectible que vous m'avez offert tout au long de ma vie et de mon parcours scolaire. C'est grâce à vous que je suis rendue ici aujourd'hui et je n'ai pas assez de mots pour vous témoigner ma gratitude. Vous m'avez toujours encouragée à voler de mes propres ailes et avancer dans ce qui me passionne, tout en restant près de moi pour me supporter dès que j'en ai besoin. Vous êtes des parents extraordinaires et l'accomplissement de cette maîtrise est en partie aussi le vôtre. Merci également à mes frères Johnny et David, à Nadia, Jessica, ma belle-famille, mes amis et tous mes proches pour votre soutien. Je suis tellement chanceuse de vous avoir à mes côtés.

Enfin, merci à mon amour, Maxime. Tu m'as toujours encouragée et supportée dans ce projet ainsi que dans tous les autres que j'entreprends. Tu m'écoutes et me redonne confiance à chaque moment plus difficile que je traverse et tu me fais évoluer et grandir à chaque jour. Jamais je n'aurais pu demander un meilleur partenaire de vie et la réussite de cette maîtrise est en partie grâce à toi. Après ce beau projet qui s'achève pour moi, la plus belle et grande des étapes nous attend avec l'arrivée de notre petite fille dans les prochains mois. L'avenir s'annonce beau et doux à tes côtés.

## INTRODUCTION

En 1971, Abdel R. Omran a développé la théorie de la transition épidémiologique. Cette théorie visait à expliquer l'évolution complexe de la prévalence des maladies et des causes de décès à travers le temps. Selon la théorie d'Omran, la prédominance des épidémies et infections, qui étaient auparavant les principales causes de décès, a drastiquement diminué au fil du 20<sup>e</sup> siècle avec le développement des traitements et des connaissances médicales. Cela a induit une forte baisse de la mortalité et une augmentation de l'espérance de vie. De nos jours, la principale cause de mortalité dans le monde chez les 35-70 ans est attribuée aux maladies cardiovasculaires, suivie du cancer (Dagenais *et al.* 2020). Toutefois, une nouvelle transition épidémiologique est actuellement observée en raison de l'amélioration des habitudes de vie, l'accès aux soins de santé, les avancées de la médecine moderne ainsi que l'éducation et la sensibilisation (Omran 1971). On observe donc une diminution de la prévalence des maladies cardiovasculaires (Hastings *et al.* 2018), ce qui place désormais le cancer en tête des causes de mortalité dans les pays industrialisés (Dagenais *et al.* 2020).

En 2020, 10 millions de décès ont été attribués au cancer dans le monde. Les analyses actuelles prévoient une augmentation de 47% des nouveaux cas de 2020 à 2040, passant de 19,3 millions à 28,4 millions par année (Sung *et al.* 2021). Le cancer est une maladie complexe pouvant être expliquée par de nombreux facteurs, tels que les radiations, l'exposition à des produits chimiques ou au soleil, de l'inflammation chronique, etc. Ces facteurs peuvent causer des mutations génétiques qui altèrent les cellules et mènent à leur prolifération anarchique et incontrôlée. Ces cellules deviennent insensibles aux signaux d'inhibition de croissance ou d'apoptose et finissent par se propager dans d'autres tissus et organes du corps (Seyfried et Shelton 2010). Diverses méthodes sont utilisées pour traiter le cancer, dont la chimiothérapie. Toutefois, la chimiothérapie classique s'accompagne d'effets secondaires sévères (Liu *et al.* 2018) puisqu'elle endommage non seulement les cellules cancéreuses, mais également les cellules saines (Chidambaram *et al.* 2011). Ces lésions aux tissus sains exposent les patients à de lourds effets secondaires pour des traitements qui ne sont pas parfaitement efficaces. Ainsi, la principale problématique avec la chimiothérapie conventionnelle se situe au niveau du manque de sélectivité des traitements actuellement

utilisés. Pour cette raison, la chimiothérapie sélective est désormais un enjeu de recherche très important dans le secteur du cancer.

Certains agents de chimiothérapie présentent toutefois une sélectivité dans leur mécanisme d'action, ce qui leur permet d'affecter spécifiquement les cellules cancéreuses. C'est notamment le cas des bléomycines, une classe de glycopeptides isolés chez *Streptomyces verticellus* et employés dans le traitement de nombreux types de cancers (Boger et Cai 1999). Des études se sont intéressées aux éléments structuraux des bléomycines leur conférant cette sélectivité. Il a été démontré que le motif 3-*O*-carbamoyl-D-mannose des bléomycines est internalisé sélectivement dans les cellules cancéreuses (Bhattacharya *et al.* 2014; Madathil *et al.* 2014). D'autres glycosides carbamoylés ont déjà fait l'objet d'études en raison de leur propriété antitumorale. C'est notamment le cas de la novobiocine, une aminocoumarine portant un noviose carbamoylé qui est utilisée depuis de nombreuses années pour le traitement du cancer en raison de son activité d'inhibition de l'extrémité C-terminale de la Hsp90. Cette protéine chaperonne joue un rôle critique pour la viabilité cellulaire et présente généralement des taux anormalement élevés dans les cellules cancéreuses (Zhao *et al.* 2014). Les glycosides carbamoylés revêtent donc un intérêt particulier pour le développement d'agents de chimiothérapie ciblée. Toutefois, les voies de synthèse de glycosides carbamoylés rapportées dans la littérature sont longues et fastidieuses. Par ailleurs, elles nécessitent plusieurs séquences de protection/déprotection afin de différencier la position à carbamoyler sur le sucre et impliquent également l'utilisation d'isocyanates instables et toxiques pour l'installation de la fonction carbamate (Boger et Honda 1994). Des travaux réalisés récemment au laboratoire d'analyse et de séparation des essences végétales (LASEVE) de l'Université du Québec à Chicoutimi (UQAC) ont permis de développer une méthode de carbamoylation catalytique site-sélective de sucres minimalement protégés (Alsarraf *et al.* 2021). Cette étude s'est basée sur les travaux de Taylor portant sur la fonctionnalisation de diols 1,2-*cis* avec des catalyseurs dérivés d'acides boroniques (Chan et Taylor 2011; Lee *et al.* 2012), ainsi que sur les travaux de Batey et Padiya (Bansagi *et al.* 2022). Ces derniers ont démontré la possibilité de former des carbamates à partir de 1-carbamoylimidazoles dérivés du carbonyldiimidazole (CDI) (Duspara *et al.* 2012; Padiya *et*

*al.* 2012). La voie de synthèse de sucres carbamoylés développée à l'UQAC permet de ce fait un accès simple et rapide au fragment carbamoylmannose des bléomycines ainsi qu'à une multitude d'autres sucres carbamoylés.

La forêt boréale du Canada déborde de ressources naturelles. En raison de leurs propriétés thérapeutiques, les peuples Autochtones utilisent les plantes de la Boréale dans la pratique de leur médecine traditionnelle depuis des siècles (McCune et Johns 2002). De nombreuses études réalisées dans le passé ont mis en lumière les propriétés pharmacologiques de molécules naturelles issues de plantes de la forêt boréale. C'est notamment le cas des triterpènes retrouvés dans le bouleau blanc (*Betula papyrifera*), dont le bétulinol et l'acide bétulinique. L'acide bétulinique a été largement étudié dans le passé et ces travaux ont permis d'identifier ses propriétés pharmacologiques prometteuses, dont des activités anti-inflammatoire, antivirale, antiseptique et antitumorale, pour ne nommer que celles-ci (Mukherjee *et al.* 2006; Rastogi *et al.* 2015). Toutefois, la principale problématique avec ces composés apolaires réside dans leur faible hydrosolubilité, ce qui nuit à leur distribution dans le corps et par le fait même à leur absorption dans l'organisme. Des études réalisées à l'UQAC ont contribué à contourner ce problème par glycosylation. En effet, il a été démontré que l'ajout d'un  $\alpha$ -L-rhamnose en position 3 de l'acide bétulinique pouvait moduler avantageusement son activité cytotoxique (Gauthier *et al.* 2006; Gauthier *et al.* 2011).

L'objectif de cette étude est d'améliorer la sélectivité de molécules naturelles aux propriétés prometteuses en leur greffant un sucre carbamoylé. Ceci pourra être réalisé en se basant sur l'internalisation sélective du motif 3-*O*-carbamoyl-D-mannose des bléomycines dans les cellules cancéreuses, sur les propriétés antitumorales de composés naturels biosourcés et en utilisant la voie de synthèse simple et rapide de sucres carbamoylés récemment développée à l'UQAC. Ces travaux s'intéresseront plus particulièrement à l'acide bétulinique. En effet, les propriétés antitumorales de l'acide bétulinique ainsi que la modulation de son activité biologique par glycosylation ont déjà été démontrées. Il semble donc pertinent d'utiliser l'acide bétulinique comme modèle pour explorer l'effet de sucres carbamoylés sur l'activité cytotoxique et la sélectivité de produits naturels. Ce projet de



recherche vise donc à combiner le potentiel antitumoral de l'acide bétulinique avec la sélectivité de sucres carbamoylés. Il visera donc plus précisément à établir la voie de synthèse menant à l'obtention d'un carbamoylrhamnoside d'acide bétulinique dans le but d'accroître la sélectivité de l'acide bétulinique pour les cellules cancéreuses.

Ce mémoire comporte quatre parties. La première partie consistera en une revue de littérature sur les sujets abordés pour cette étude. La deuxième partie présentera les voies de synthèse, les résultats obtenus et la discussion. La troisième partie sera la partie expérimentale et présentera les modes opératoires utilisés et l'analyse des composés obtenus. Finalement, la quatrième partie conclura cette étude et proposera des pistes à explorer pour de futurs travaux de recherche sur le sujet.

## **CHAPITRE 1 – REVUE DE LA LITTÉRATURE**

## **1.1 Évolution des causes de mortalité**

Au fil du temps, les causes de mortalité ont évolué et ce, différemment d'un endroit à l'autre de la planète. Dans le passé, de graves épidémies se sont abattues sur les populations du monde entier et ont causé le décès de millions de personnes. Avec entre autres la modernisation des pratiques médicales et l'avancement des connaissances scientifiques qui ont mené au développement de vaccins et de médicaments, la prévalence des maladies infectieuses a grandement diminué. Cela a mené les maladies chroniques telles que les maladies cardiaques et le cancer en tête des causes de mortalité dans le monde. Par la suite, des avancées significatives sur les plans de la prévention et des traitements ont mené à une décroissance de la prévalence des décès dus aux maladies cardiovasculaires (Omran 1971; Hastings *et al.* 2018). En effet, les saines habitudes de vie occupent de nos jours beaucoup plus d'importance qu'auparavant dans la société, plus particulièrement dans les pays développés. La consommation de tabac a diminué, la population est de plus en plus sensibilisée aux bienfaits de l'activité physique et d'une bonne alimentation et les gens sont maintenant plus au fait des changements positifs qu'ils peuvent apporter dans leur mode de vie pour diminuer leur risque de souffrir de maladies cardiovasculaires. Ainsi, bien que les maladies cardiovasculaires soient encore aujourd'hui globalement la principale cause de décès dans le monde, une transition est observée et ce, plus particulièrement dans les pays à haut revenu. Cette transition mène donc aujourd'hui le cancer en tête de liste des causes de décès dans les pays à revenu élevé (Dagenais *et al.* 2020), un phénomène qui risque d'être observé à une échelle plus globale d'ici quelques années.

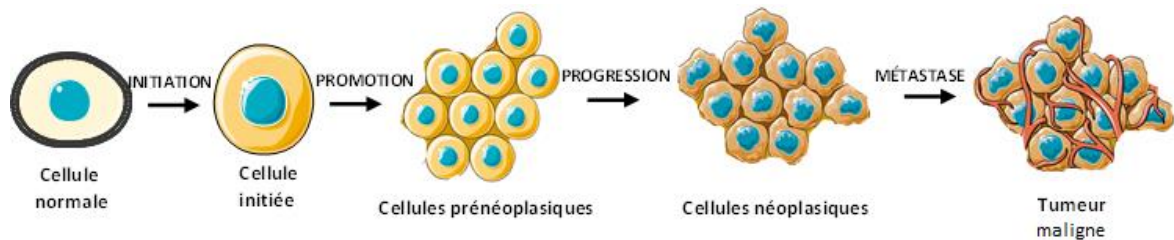
## **1.2 Le cancer**

Au Canada, le cancer est la principale cause de mortalité. En effet, près de 50% de la population développera un cancer au cours de sa vie et environ 25% des Canadiens décéderont des suites d'un cancer (Canada 2018). La prévention et les avancées en recherche ont amené une augmentation de l'espérance de vie, ce qui de prime abord est une très bonne chose. Ironiquement toutefois, en vivant plus longtemps, les gens sont plus à risque de

développer des cancers et d'en mourir. En 2022, il est attendu que le cancer le plus diagnostiqué globalement sera le cancer du poumon. Plus spécifiquement chez les femmes, ce sera le cancer du sein et chez les hommes, le cancer de la prostate. Selon les données actuelles, le cancer du poumon causera le plus de décès en 2022, suivi des cancers du côlon, du pancréas et du sein. Certains cancers sont diagnostiqués de plus en plus précocement, améliorant le pronostic des patients atteints. C'est notamment le cas du cancer du sein et du cancer colorectal (Brenner *et al.* 2022).

### 1.3 Développement d'un cancer

Le développement d'un cancer peut être séparé en trois étapes clés; initiation, promotion et progression (figure 1) (McMillan 1992).



*Figure 1. Stades du développement d'un cancer  
(CC Servier Medical Art, <https://smart.servier.com/>).*

Les gènes inscrits dans notre ADN contiennent l'information nécessaire à la fabrication des protéines. Les gènes sont transcrits sous forme d'ARN messagers (ARNm), qui sont ensuite traduits sous forme de protéines par les ribosomes. L'exactitude des informations contenue dans les gènes est donc primordiale. En effet, si l'ADN est endommagé par une mutation, les protéines qui en découlent sont anormales et peuvent ne pas remplir leur rôle prévu au sein de la cellule (Compton 2020b). La première étape du développement d'un cancer est donc l'initiation, qui consiste en une mutation apparaissant au niveau d'un gène pouvant causer le cancer et ce, dans une cellule qui a la capacité de se diviser. Il existe plusieurs types de gènes dans notre ADN sur lesquels une mutation peut mener à un cancer. C'est entre autres le cas des gènes qui sont impliqués dans la régulation de la croissance et la division cellulaire

(proto-oncogènes), ainsi que les gènes impliqués dans la réparation de l'ADN et l'apoptose (gènes suppresseurs de tumeurs). Ce type de gènes est essentiel au bon fonctionnement d'une cellule saine qui peut se développer, se diviser, être réparée et en cas de problème, détruite. L'initiation du cancer est donc la mutation d'un de ces gènes essentiels au niveau d'une cellule ayant la capacité de se diviser. Cette mutation peut être une mutation germinale, c'est-à-dire avoir été transférée par le bagage génétique d'un parent, ou être une mutation somatique, c'est-à-dire acquise au cours de la vie. Une fois l'initiation effectuée, la seconde étape dans le développement d'un cancer est la promotion. La cellule initiée se divise et transfère sa mutation génétique aux cellules descendantes, qui portent maintenant toutes la mutation génétique problématique. La promotion peut être due à des agents promoteurs, comme des substances chimiques, des hormones, l'alcool, la fumée de tabac, etc. Finalement, la dernière étape du développement d'un cancer est la progression. Les cellules mutées acquièrent de nouvelles mutations, elles aussi transmises aux cellules descendantes après la division et s'en suit une prolifération anarchique. Étant donné que les mutations affectent les gènes de la division cellulaire et les gènes suppresseurs de tumeurs, les cellules n'ont plus la capacité de se réguler et leur prolifération est incontrôlée. De nouvelles mutations peuvent se produire, maintenant dans les gènes impliqués dans la différenciation cellulaire, la signalisation, etc. Cela forme ce qu'on appelle un néoplasme, ou une tumeur (McMillan 1992; Compton 2020b). La tumeur peut être cancéreuse ou non cancéreuse. La tumeur cancéreuse se distingue par sa capacité à faire des métastases et donc à se propager dans les tissus voisins (Siddiqui *et al.* 2015; Compton 2020a).

#### **1.4 Progrès des connaissances sur les traitements contre le cancer**

Le début du 20<sup>e</sup> siècle est considéré comme une période de grande effervescence dans le domaine scientifique. À cette époque, le scientifique allemand Paul Ehrlich travaillait à documenter l'utilisation de molécules pour le traitement de maladies telles que le cancer. Au cours de ce siècle, de nombreuses découvertes fortuites, parfois bien malheureuses, ont contribué au développement des connaissances sur la chimiothérapie. Durant la Première Guerre Mondiale, les Allemands utilisèrent le "gaz moutarde" ou "ypérite", du sulfure de

2,2'-dichlorodiéthyle, contre les troupes ennemies. Cette substance s'attaqua aux voies respiratoires, aux yeux et à la peau des soldats infectés. Le Protocole de Genève de 1925 proscrit l'utilisation de cette substance sur les champs de combat durant la Deuxième Guerre Mondiale. Toutefois, les Alliés en apportèrent tout de même dans un cargo en prévision d'une attaque ennemie à l'ypérite. La destruction de ce cargo lors d'une attaque des Allemands libéra l'ypérite et contamina à nouveau de nombreux soldats. Il fut toutefois découvert que chez les soldats infectés, la fonction de la moelle osseuse et des ganglions lymphatiques était grandement diminuée. Cela amena des chercheurs de l'Université de Yale à s'intéresser aux effets potentiels de cette substance sur le traitement de lymphomes non hodgkiniens, des cancers prenant naissance au niveau du système lymphatique. Il ne s'agit ici que d'un seul exemple parmi toutes les découvertes accidentelles et les recherches effectuées sur le cancer par les scientifiques du 20<sup>e</sup> siècle. Par ailleurs, initialement, le cancer était principalement traité par chirurgie et radiothérapie. Toutefois, les résultats n'étaient pas particulièrement convaincants, principalement en raison de la présence résiduelle de métastases dans le corps à la suite de ces traitements. L'utilisation de la chimiothérapie en complément de ces traitements est alors devenue de plus en plus pertinente (DeVita et Chu 2008). Depuis lors, les connaissances dans ce domaine n'ont cessé de se développer (Galmarini *et al.* 2012).

### **1.5 La chimiothérapie**

La chimiothérapie est aujourd'hui largement utilisée pour traiter divers types de cancers. Elle comporte toutefois ses limites. Les agents de chimiothérapie classiques s'attaquent aux cellules cancéreuses, mais causent également des dommages aux cellules saines (Chidambaram *et al.* 2011). Cela s'accompagne souvent de graves effets secondaires, tels qu'une perte de cheveux, de la fatigue, des nausées et vomissements, etc. (Love *et al.* 1989). Ce manque de sélectivité des traitements actuellement utilisés contre le cancer détruit donc en partie les tissus sains des patients souffrants et leur cause par le fait même de grandes douleurs et une perte de qualité de vie. Par ailleurs, l'efficacité des traitements est limitée par ce manque de sélectivité. Qui plus est, les effets secondaires engendrés par la chimiothérapie peuvent dans certains cas conduire à un arrêt prématuré des traitements. Afin d'éviter les

dommages collatéraux aux cellules saines, il devient donc primordial de découvrir de nouveaux traitements sélectifs à l'égard des cellules cancéreuses. De plus en plus de recherches s'intéressent au développement d'agents de chimiothérapie sélectifs. Celles-ci tentent de mettre à profit les particularités spécifiques des cellules cancéreuses (Pérez-Herrero et Fernández-Medarde 2015). En effet, certaines études s'intéressent par exemple à greffer sur des agents cytotoxiques des ligands présentant une spécificité pour des récepteurs surexprimés à la surface des cellules cancéreuses comparativement aux cellules saines (Low *et al.* 2008; Sievers et Senter 2013). Une autre stratégie qui s'avère particulièrement prometteuse est la prodrogue monothérapie (PMT), qui consiste en un système moléculaire permettant l'internalisation sélective d'un vecteur, puis la libération contrôlée d'un agent cytotoxique à l'intérieur des cellules cancéreuses (Legigan *et al.* 2012). Diverses méthodes sont donc à l'étude à l'heure actuelle afin de développer de nouveaux agents de chimiothérapie plus efficaces et engendrant moins d'effets secondaires indésirables.

### **1.6 Les sucres carbamoylés, des outils thérapeutiques prometteurs**

Dans les années 1970, certains chercheurs étudiaient les tissus tumoraux à l'aide de radionucléides liés à des molécules sélectives pour les tumeurs afin de visualiser ces dernières. Les bléomycines, des agents antitumoraux ciblant particulièrement les tumeurs, étaient utilisées à cet effet et permettaient, en étant liées à des isotopes radioactifs comme l'indium-111, la visualisation spécifique des tumeurs (Silverstein *et al.* 1976; Chapuis *et al.* 2009). Les bléomycines sont une famille de glycopeptides antitumoraux isolés pour la première fois en 1966 par le chercheur Hamao Umezawa et son équipe à partir du bouillon de fermentation de *Streptomyces verticillus* (Oshitari *et al.* 1997). Les bléomycines sont constituées d'un hexapeptide relié à un disaccharide, plus précisément un 2-O-(3-O-carbamoyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyl)-L-gulopyranose (figure 2).

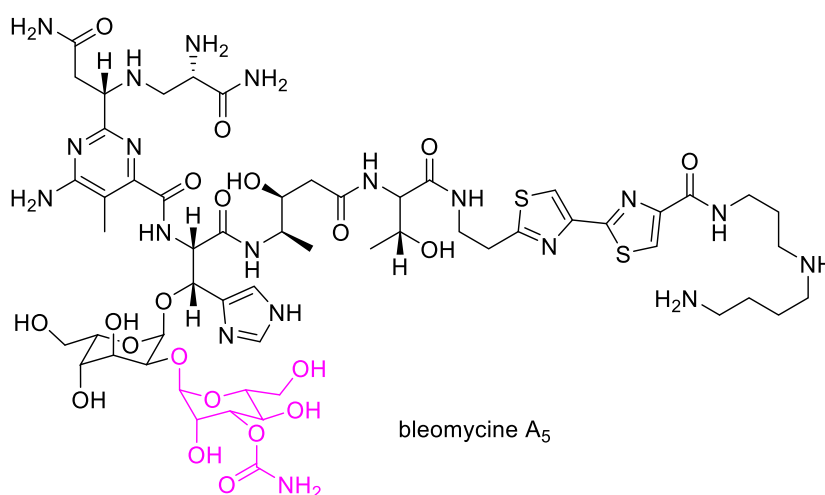


Figure 2. Structure de la bléomycine A<sub>5</sub> avec le fragment 3-O-carbamoyl-D-mannose en rose.

Les bléomycines sont utilisées cliniquement en tant qu'anticancéreux sous le nom de *Blenoxane* pour le traitement de nombreux types de cancers (Boger et Cai 1999; Hecht 2000). L'activité antitumorale des bléomycines réside dans leur capacité à effectuer un double clivage de l'ADN des cellules tumorales, en plus d'une possible dégradation oxydative de l'ARN (Yu *et al.* 2013). Ce clivage de l'ADN par les bléomycines nécessite la présence d'oxygène et la liaison à un ion métallique tel que le fer ou le cuivre (Roy et Hecht 2014; Schroeder *et al.* 2014). Les bléomycines ont été largement étudiées dans le passé afin d'expliquer leur sélectivité pour les cellules cancéreuses. En 2009, Chapuis et ses collègues ont conjugué la bléomycine A<sub>5</sub> à la surface de microbulles consistant en une coquille de lipides, sucres et albumine et un cœur fait de gaz, de l'oxygène ou de l'azote. L'équipe supervisée par le chercheur Sidney M. Hecht a ensuite observé la distribution de ces microbulles au niveau des cellules. Cette étude a révélé que les microbulles portant la bléomycine adhéraient aux cellules cancéreuses du sein (MCF-7), alors que les microbulles ne portant pas la bléomycine ne s'y liaient pas. Cette étude a même démontré que les microbulles portant la bléomycine ne se liaient pas aux cellules saines du même organe (MCF-10A), démontrant la propriété de sélectivité des bléomycines à l'égard des cellules cancéreuses. Finalement, afin de déterminer si le fragment disaccharide pouvait jouer un rôle dans cette sélectivité, les chercheurs ont testé l'adhésion de microbulles portant une



bléomycine dé-glycosylée. Ils ont pu observer que sans le disaccharide sur la bléomycine, les microbulles ne se liaient ni aux cellules saines, ni aux cellules cancéreuses, confirmant l'importance du fragment osidique pour la sélectivité des bléomycines (Chapuis *et al.* 2009). En 2013, l'équipe de Hecht a approfondi l'étude de la sélectivité du disaccharide des bléomycines en le conjuguant à une sonde fluorescente (cyanine), de sorte à mieux visualiser l'internalisation des composés. Ils ont pu visualiser par imagerie par fluorescence que les sondes portant uniquement le disaccharide des bléomycines étaient internalisées sélectivement dans les cellules de différentes lignées cancéreuses, confirmant que le disaccharide est essentiel à l'internalisation. Par ailleurs, en réalisant ces expérimentations à 4°C et à 37°C, ils ont pu noter une plus forte internalisation à 37°C, suggérant un mécanisme d'internalisation actif et ATP-dépendant (Yu *et al.* 2013). En 2014, ce même groupe de recherche a démontré que c'était plus spécifiquement le monosaccharide de 3-*O*-carbamoyl-D-mannose qui était responsable de l'internalisation sélective dans les cellules cancéreuses (Bhattacharya *et al.* 2014). Une autre étude ayant pour objectif de tester des positions alternatives du carbamate sur le sucre a démontré que les carbamates en position C-3 (la position originale du monosaccharide des bléomycines) ou en position C-2 du sucre permettaient une internalisation plus efficace au niveau des cellules cancéreuses (Madathil *et al.* 2014).

Les études antérieures ayant démontré la sélectivité du fragment 3-*O*-carbamoyl-D-mannose pour les cellules cancéreuses, ce motif revêt donc un intérêt particulier pour le développement d'agents de chimiothérapie sélectifs. Par ailleurs, d'autres glycosides carbamoylés présentent également des propriétés prometteuses. C'est notamment le cas de la novobiocine, une amino-coumarine portant un noviose carbamoylé. La novobiocine est un inhibiteur de l'ADN gyrase et peut également mener à la dégradation des protéines des cellules cancéreuses en se liant à l'extrémité C-terminale des Hsp90 (Heat shock protein), des protéines chaperonnes impliquées dans divers processus cellulaires (Marcu *et al.* 2000; Donnelly et Blagg 2008; Jackson 2013; Zhao *et al.* 2014). Des études ont démontré que la présence du 3'-carbamate sur le noviose était essentielle à l'activité d'inhibition de l'ADN gyrase (Burlison *et al.* 2006). D'autre part, l'auriside B, un macrolide glycosylé portant un

rhamnose carbamoylé en C-3, présente une cytotoxicité importante sur les cellules cancéreuses du col de l'utérus HeLa S<sub>3</sub>, avec une concentration inhibant 50% de l'activité (IC<sub>50</sub>) de 1,2 µg/mL (Sone *et al.* 1996). Il ne s'agit ici que de quelques exemples soulignant l'activité cytotoxique prometteuse des glycosides carbamoylés sur les cellules cancéreuses.

### 1.7 Des progrès en carbamoylation site-sélective de sucres

Devant l'intérêt des sucres carbamoylés en tant que cibles synthétiques, des travaux se sont intéressés au développement d'une voie de synthèse du fragment 3-*O*-carbamoyl-D-mannose des bléomycines. En 1994, Boger et Honda ont travaillé sur la synthèse totale des bléomycines et ont donc établi une voie de synthèse du fragment 3-*O*-carbamoyl-D-mannose. Comme le présente la figure 3, celle-ci exigeait toutefois de nombreuses étapes de protection/déprotection afin de différencier la position 3 du sucre, en plus d'utiliser un réactif toxique à l'étain et de nécessiter une pré-activation de l'alcool à carbamoyler en carbonate de nitrophényle (Boger et Honda 1994). Une autre voie de synthèse établie en 2019 utilise quant à elle un isocyanate toxique. Par ailleurs, le rendement de 23% pour l'étape de carbamoylation est plutôt modeste (Elferink *et al.* 2019).

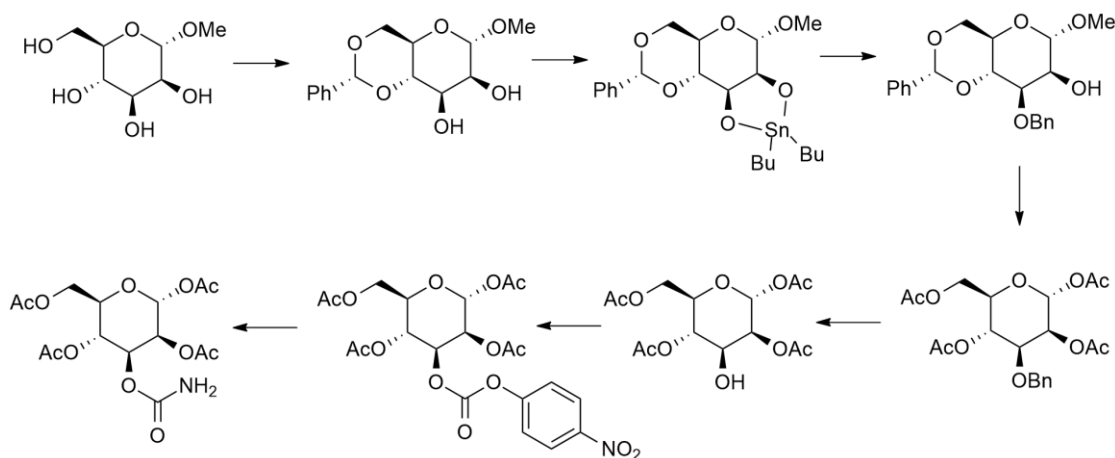


Figure 3. Voie de synthèse du 3-*O*-carbamoyl-D-mannose selon la méthode développée par Boger et Honda en 1994.

Devant la complexité des voies synthétiques proposées pour la synthèse de la section sucre des bléomycines, une étude effectuée au LASEVE de l'UQAC a permis de développer une stratégie de synthèse simple, efficace et polyvalente (Alsarraf *et al.* 2021). Cette étude s'est basée sur les avancées récentes en chimie catalytique permettant, à l'aide de catalyseurs au bore, l'activation sélective de la position équatoriale de motifs diol 1,2-*cis* sur des sucres (Chan et Taylor 2011; Lee *et al.* 2012; Dimakos et Taylor 2018). Le motif diol 1,2-*cis* chélate le catalyseur borinique, résultant en un intermédiaire borinate tétracoordiné dont la position équatoriale est plus nucléophile que la position axiale en raison de sa charge de Mulliken plus élevée (Lee *et al.* 2012; Alsarraf *et al.* 2021; Petitpoisson 2021). L'oxygène équatorial nucléophile attaque ensuite le carbone électrophile du carbonyle du carbamoylimidazole pour mener à la formation du carbamate à la suite du transfert du catalyseur sur un nouveau sucre (figure 4) (Petitpoisson 2021).

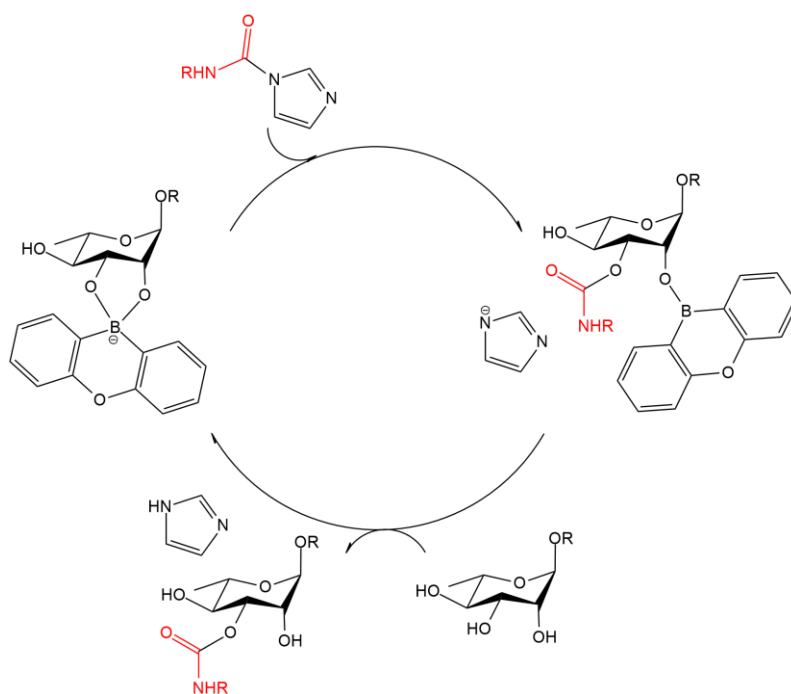


Figure 4. Mécanisme de la carbamylation catalytique site-sélective développée à l'UQAC.

L'utilisation d'un carbamoylimidazole en tant que réactif de carbamoylation permet d'éviter l'utilisation de phosgène et d'isocyanates hautement toxiques (Alsarraf *et al.* 2021). Par ailleurs, les carbamoylimidazoles peuvent être préparés facilement par la réaction entre le carbonyldiimidazole et une amine dans l'eau (figure 5). La nature de l'amine peut changer, ce qui permet la synthèse de carbamates variés (Duspara *et al.* 2012; Padiya *et al.* 2012).

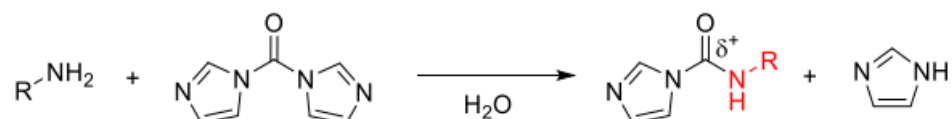


Figure 5. Synthèse d'un carbamoylimidazole à partir d'un carbonyldiimidazole et d'une amine dans l'eau (Petitpoisson 2021).

Cette méthode de carbamoylation catalytique site-sélective de sucres minimalement protégés s'avère donc être une voie d'obtention simple et efficace de sucres carbamoylés de nature variée. Il s'agit d'une avancée majeure permettant un accès rapide au motif de carbamoylmannose des bléomycines, ainsi qu'à une multitude d'autres sucres carbamoylés aux propriétés prometteuses.

## 1.8 Les cellules cancéreuses et leurs besoins en sucres

Bien que le mécanisme précis d'internalisation sélective du fragment 3-*O*-carbamoyl-D-mannose des bléomycines ne soit pas encore bien connu, l'étude de Schroeder *et al.* de 2014 suggère que l'augmentation de la glycolyse au niveau des cellules cancéreuses pourrait expliquer une captation accentuée des sucres chez celles-ci (Schroeder *et al.* 2014). En effet, dans les années 1930, Otto H. Warburg a découvert que les cellules cancéreuses utilisaient davantage la glycolyse pour la production d'adénosine triphosphate (ATP) que les cellules saines. Les cellules cancéreuses doivent donc capter davantage de sucre que les cellules saines pour parvenir à synthétiser leurs ressources et leur énergie. Elles ont donc possiblement plus de récepteurs et de transporteurs de sucre pour supporter cette transition métabolique (Warburg *et al.* 1927; Kroemer et Pouyssegur 2008; Razungles *et al.* 2013; Schroeder *et al.* 2014; Liberti et Locasale 2016). Ce phénomène concorde donc avec la

théorie de Schroeder qui suggère que le sucre carbamoylé des bléomycines pourrait être davantage internalisé au niveau des cellules cancéreuses en raison d'une demande accrue en sucre chez celles-ci. Par ailleurs, de nombreuses études dans la littérature démontrent l'effet positif de la glycosylation de composés sur leur activité biologique.

### **1.9 Les végétaux de la forêt boréale, une ressource inestimable**

Depuis très longtemps, les plantes de la forêt boréale sont utilisées pour leurs vertus médicinales. Au fil des siècles, les peuples Autochtones d'Amérique du Nord ont développé et peaufiné leur savoir sur les propriétés des végétaux retrouvés dans leur environnement. Des préparations telles que des infusions, des décoctions ou des cataplasmes fabriquées selon les méthodes traditionnelles leur permettent de traiter de nombreux problèmes de santé, tels que les troubles gastro-intestinaux, les hémorragies, le diabète, etc. (McCune et Johns 2002; Uprety *et al.* 2012). Les plantes occupent donc une place centrale dans la vie de ces peuples, que ce soit pour leur alimentation ou la pratique de leur médecine traditionnelle. Des études se sont donc intéressées à la composition chimique et aux propriétés pharmacologiques des composés présents dans ces plantes (Uprety *et al.* 2012). Cela a permis de mettre en lumière les propriétés prometteuses de nombreuses molécules, dont entre autres des activités cytotoxique, anti-diabétique et antioxydante (McCune et Johns 2002). C'est notamment le cas du taxol, ou paclitaxel, retrouvé dans l'if du Canada (*Taxus canadensis*) (Jean 1992) qui est aujourd'hui utilisé dans le traitement de nombreux types de cancers (Cragg et Newman 2005). Le bouleau blanc (*Betula papyrifera*) est une autre espèce de la forêt boréale dont la composition chimique a été étudiée. L'écorce du bouleau blanc contient des triterpènes pentacycliques de type lupane de grand intérêt thérapeutique, dont le lupéol, le bétulinol et l'acide bétulinique (Gauthier 2006).

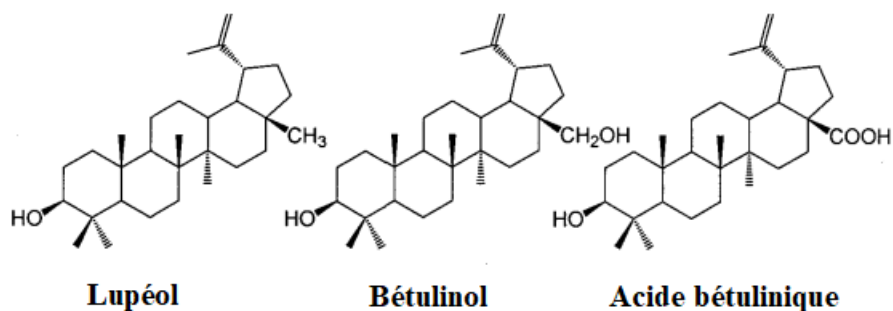


Figure 6. Triterpènes pentacycliques de type lupane retrouvés dans l'écorce du bouleau blanc (*Betula papyrifera*).

Les propriétés de l'acide bétulinique ont été mises en évidence avec des résultats *in vivo* prometteurs en 1995 (Pisha *et al.* 1995).

### 1.10 Modulation de l'activité des triterpènes pentacycliques de type lupane

La principale problématique avec les triterpènes de type lupane réside dans leur caractère très apolaire et leur faible hydrosolubilité, ce qui nuit à leur absorption et leur distribution dans l'organisme (Gauthier 2006). Afin de contourner ce problème et d'améliorer les propriétés pharmacocinétiques de cette classe de molécules, des études se sont intéressées à la synthèse de saponines triterpéniques par glycosylation des triterpènes de type lupane. En 2006, Gauthier *et al.* ont donc synthétisé des monodesmosides de triterpènes et ont évalué leur activité cytotoxique sur diverses lignées cellulaires cancéreuses. L'ajout d'un résidu L-rhamnose en position C-3 de l'acide bétulinique a considérablement amélioré l'activité cytotoxique du composé sur les cellules cancéreuses. Par ailleurs, les résultats ont démontré que les cellules cancéreuses étaient 8 à 12 fois plus sensibles au 3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside d'acide bétulinique que les cellules saines (figure 7) (Gauthier *et al.* 2006). En 2009, l'équipe du laboratoire LASEVE de l'UQAC a synthétisé des saponines bidesmosidiques de triterpènes. Les résultats obtenus ont démontré que les composés les plus actifs étaient les saponines portant un L-rhamnose, confirmant les résultats de l'étude de 2006. Par ailleurs, le birhamnoside de bétulinol (rhamnose en C-3 et en C-28) s'est avéré présenter la meilleure activité cytotoxique sur les cellules cancéreuses (figure 7) (Gauthier *et al.* 2009).

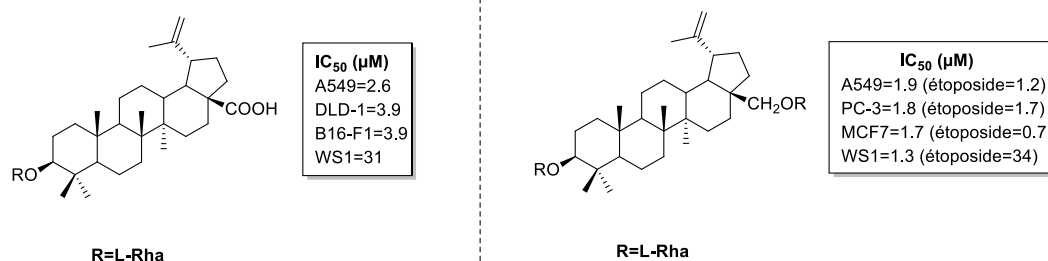


Figure 7. Structure et IC<sub>50</sub> du rhamnoside d'acide bétulinique (à gauche) et du birhamnoside de bétulinol (à droite) (Gauthier *et al.* 2006; Gauthier *et al.* 2009) (cellules A549=cancer du poumon humain, DLD-1= cancer colorectal humain, B16-F1=mélanome de souris, PC-3=cancer de la prostate humaine, MCF7=cancer du sein humain, WS1=peau normale humaine).

En 2018, une autre étude a contribué à expliquer l'activité cytotoxique du birhamnoside de bétulinol. Les résultats ont démontré que ce composé cible la mitochondrie des cellules cancéreuses du poumon, perturbe la chaîne de transport des électrons et entraîne finalement la mort cellulaire (Mihoub *et al.* 2018). En 2019, une étude de Sylla *et al.* a aussi démontré l'intérêt des rhamnosides d'acide bétulinique en confirmant non seulement les propriétés cytotoxiques prometteuses du 3-O-α-L-rhamnopyranoside d'acide bétulinique, mais également celles du dérivé d'acide bétulinique portant un disaccharide de rhamnose en position 3 (Sylla *et al.* 2019). Tous ces résultats indiquent que les saponines triterpéniques de type lupane, particulièrement celles portant un rhamnose, sont d'un grand intérêt pour le développement d'agents de chimiothérapie.

## 1.11 Glycosylation de Schmidt

Dans ces études, la voie de synthèse privilégiée des saponines triterpéniques reposait essentiellement sur la glycosylation de Schmidt développée en 1980 dont le principe général de la réaction est présenté à la figure 8 (Schmidt et Michel 1980; Deng *et al.* 1999; Gauthier 2006; Wang *et al.* 2006; Das et Mukhopadhyay 2016).

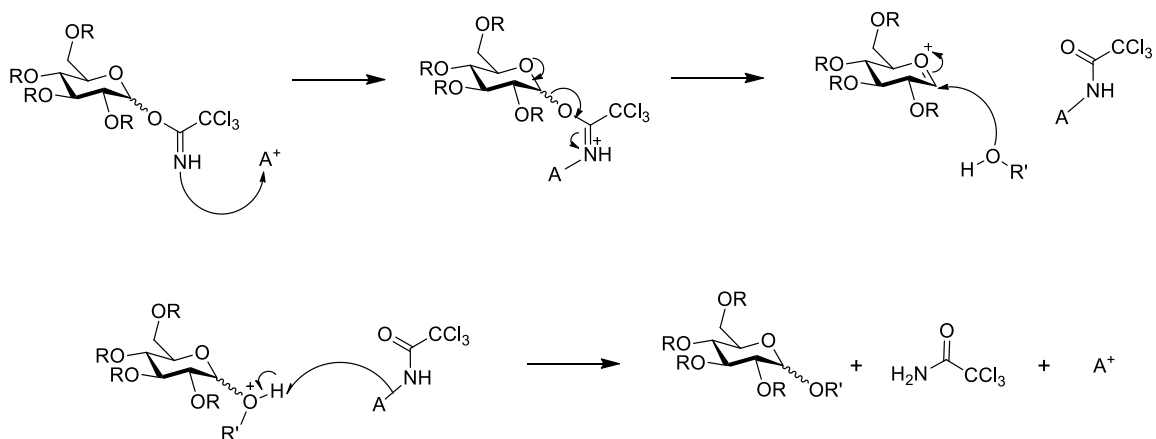


Figure 8. Schéma mécanistique général de la glycosylation de Schmidt.

Plus précisément, cette méthode consiste à activer la position anomérique du sucre sous forme de trichloroacétimidate (TCA). Ce dernier peut être préparé par la réaction entre du trichloroacétonitrile ( $\text{CCl}_3\text{CN}$ ) et l'hydroxyle anomérique d'un sucre en présence d'une base. Le sucre activé sous forme de TCA réagit avec un catalyseur acide de Lewis tel que le trifluorométhylsulfonate de triméthylsilyle (TMSOTf) et la libération du groupement partant permet la formation d'un ion oxonium. Celui-ci subit une attaque nucléophile de la fonction hydroxyle de l'autre molécule, ce qui permet la formation du lien glycosidique. La présence d'un groupement participant en position 2 du sucre influence la stœchiométrie du lien glycosidique formé (Gauthier 2006; Das et Mukhopadhyay 2016).

Ainsi, la synthèse de glycosides par la méthode de glycosylation de Schmidt nécessite la préparation d'un donneur de sucre sous forme de trichloroacétimidate qui peut par la suite être engagé dans la réaction de glycosylation avec une autre molécule.



## 1.12 Objectifs et hypothèses de recherche

Le développement d'agents de chimiothérapie sélectifs occupe de plus en plus d'espace dans la recherche sur le cancer. Dans ce contexte, les glycosides carbamoylés sont une cible thérapeutique de grand intérêt étant donné l'internalisation sélective du fragment 3-O-carbamoyl-D-mannose des bléomycines dans les cellules cancéreuses comparativement aux cellules saines. D'autre part, les triterpènes pentacycliques de type lupane tels que l'acide bétulinique présentent une activité cytotoxique très importante et des études ont démontré que la glycosylation de ces composés, principalement par l'ajout d'un rhamnose, modulait positivement l'activité pharmacologique de ces molécules. Ainsi, l'objectif de cette maîtrise est de développer une voie de synthèse menant à un rhamnoside carbamoylé d'acide bétulinique. Le schéma rétrosynthétique générale de cette approche est présenté à la figure 9.

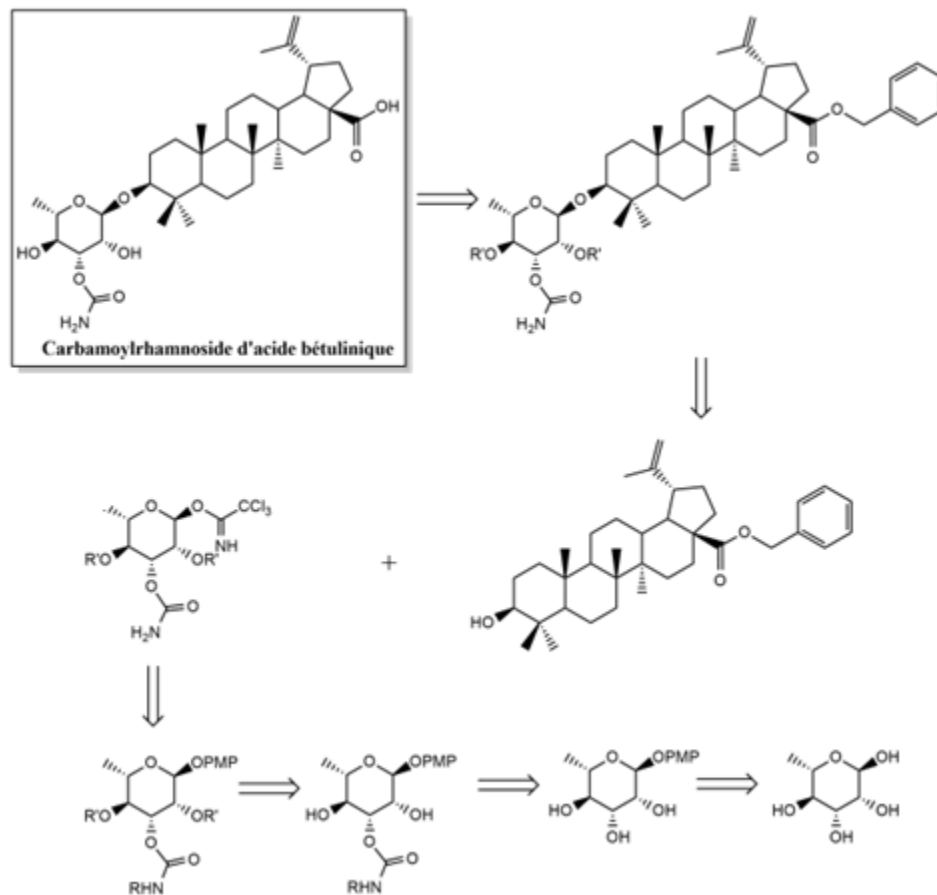


Figure 9. Schéma rétrosynthétique global de la démarche de synthèse.

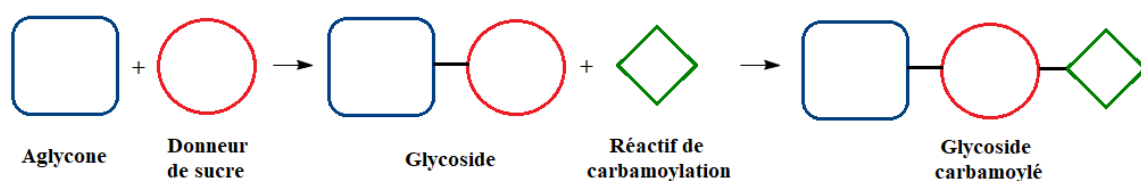
Le composé hybride synthétisé combinera la propriété de sélectivité du sucre carbamoylé pour les cellules cancéreuses avec la cytotoxicité importante de composés naturels biosourcés, les triterpènes de type lupane. La comparaison des propriétés de ce composé avec celles du rhamnoside d'acide bétulinique non carbamoylé permettra d'évaluer l'influence de la carbamoylation sur l'activité cytotoxique du rhamnoside d'acide bétulinique. Le composé cytotoxique obtenu devrait donc être davantage sélectif pour les cellules cancéreuses, en plus d'avoir de meilleures propriétés pharmacocinétiques que les composés triterpéniques d'origine (l'acide bétulinique et le rhamnoside d'acide bétulinique).

## **CHAPITRE 2 – RÉSULTATS ET DISCUSSION**

## 2.1 Généralités : Deux voies de synthèse envisagées

### 2.1.1 Carbamoylation tardive

L'objectif principal de cette étude était de développer une voie de synthèse de rhamnosides de triterpènes carbamoylés. Pour y arriver, deux méthodes générales ont initialement été envisagées. La première méthode, que l'on pourrait appeler la carbamoylation tardive (CT), consiste tout d'abord à préparer un glycoside, puis à effectuer la carbamoylation du sucre directement sur le glycoside formé (figure 10).



*Figure 10. Représentation schématique de la carbamoylation tardive  
(CC Servier Medical Art, <https://smart.servier.com/>).*

L'avantage de cette méthode réside dans sa polyvalence. En effectuant la carbamoylation à la dernière étape, il devient plus facile et rapide de préparer un grand nombre de dérivés carbamoylés d'un même glycoside. En effet, une fois le glycoside synthétisé, il suffit de préparer le réactif de carbamoylation souhaité et de procéder à la carbamoylation. Il est donc possible de faire varier facilement la nature du carbamate en synthétisant tout simplement divers réactifs de carbamoylation en utilisant différentes amines pour la synthèse de ceux-ci.

Les réactions de carbamoylation nécessitent la présence d'un réactif de carbamoylation portant le groupement à intégrer sur le glycoside, ainsi qu'un catalyseur au bore. La synthèse du réactif de carbamoylation sera présentée ultérieurement dans ce chapitre. Le catalyseur utilisé pour toutes les carbamoylations de cette étude était un catalyseur synthétisé au laboratoire préalablement au présent travail. Ce catalyseur, le dibenzoxaborininol, peut être obtenu en deux étapes de synthèse. Tout d'abord, du

diphényléther de source commerciale réagit avec du *n*-butyllithium et de la tétraméthyle-éthylènediamine (TMEDA). Par la suite, l'intermédiaire formé réagit avec du borate de triméthyle, donnant le catalyseur souhaité avec un rendement de 44% (figure 11). La synthèse de ce catalyseur est rapportée dans un mémoire de maîtrise du laboratoire LASEVE (Petitpoisson 2021).

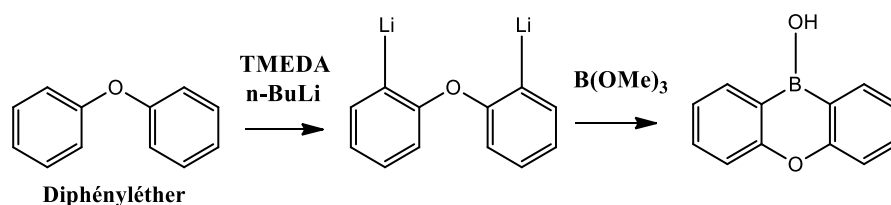


Figure 11. Synthèse du catalyseur utilisé pour les réactions de carbamoylation.

Ainsi, au départ de ce projet, des tentatives de CT ont été effectuées en raison de la polyvalence et de la versatilité offertes par cette méthode. L'objectif était de synthétiser un bidesmoside de bétulinol portant un rhamnose aux positions C-3 et C-28, puis de procéder à une CT sur les deux rhamnoses du glycoside (figure 12).

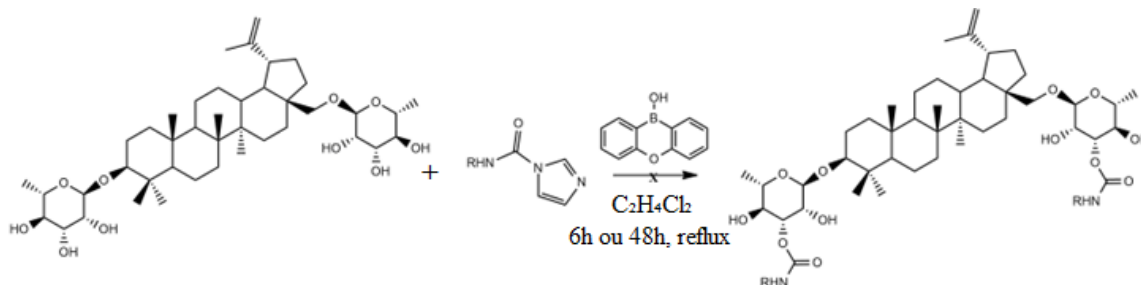


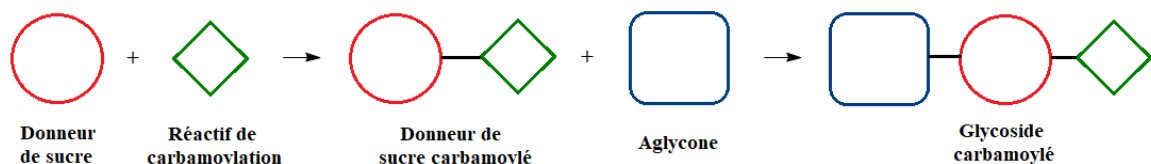
Figure 12. Essais de carbamoylation site-sélective tardive du birhamnoside de bétulinol.

Le birhamnoside de bétulinol a donc été synthétisé et des tentatives de CT ont été réalisées. Ainsi, le birhamnoside de bétulinol a été mis en réaction avec le réactif de carbamoylation et le catalyseur dans du 1,2-dichloroéthane (DCE) à reflux selon la méthode de carbamoylation site-sélective développée à l'UQAC (Alsarraff *et al.* 2021). Pour la première tentative, la réaction a été agitée 6 h et pour la deuxième tentative, 48 h. Dans les deux cas, la CT s'est

avérée infructueuse. Les analyses ont permis d'observer une dégradation des produits ou un mélange complexe d'intermédiaires. Des problèmes de solubilité ou la complexité de l'aglycone pourraient expliquer les résultats infructueux. Ces résultats ont donc orienté la suite du projet vers une autre méthode pour la synthèse de glycosides de triterpènes carbamoylés.

### 2.1.2 Glycosylation entre un donneur de sucre carbamoylé et un aglycone

La deuxième méthode envisagée consistait à préparer un donneur de sucre carbamoylé, puis à procéder à la glycosylation avec l'aglycone pour former le glycoside carbamoylé souhaité (figure 13).



*Figure 13. Représentation schématique de la synthèse utilisant un donneur de sucre carbamoylé.*

*(CC Servier Medical Art, <https://smart.servier.com/>)*

Cette méthode, également intéressante, nécessite toutefois l'intégration du carbamate souhaité directement sur le donneur de sucre. Ainsi, la préparation de différents glycosides portant des fonctions carbamates variées nécessite plus d'étapes de synthèse, puisqu'il faut préparer un donneur de sucre pour chaque fonction carbamate souhaitée. Étant donné l'impossibilité de synthétiser le composé souhaité par CT, cette méthode de glycosylation entre un donneur de sucre préalablement carbamoylé et l'aglycone a donc été privilégiée.

## 2.2 Synthèse de rhamnosides de triterpènes carbamoylés

### 2.2.1 Synthèse du donneur protégé par des benzoates

La première étape dans la préparation d'un rhamnoside de triterpène carbamoylé consistait à préparer un donneur de rhamnose portant le carbamate souhaité. Le schéma

rétrosynthétique général prévu pour la synthèse du donneur de rhamnose carbamoylé est présenté à la figure 14.

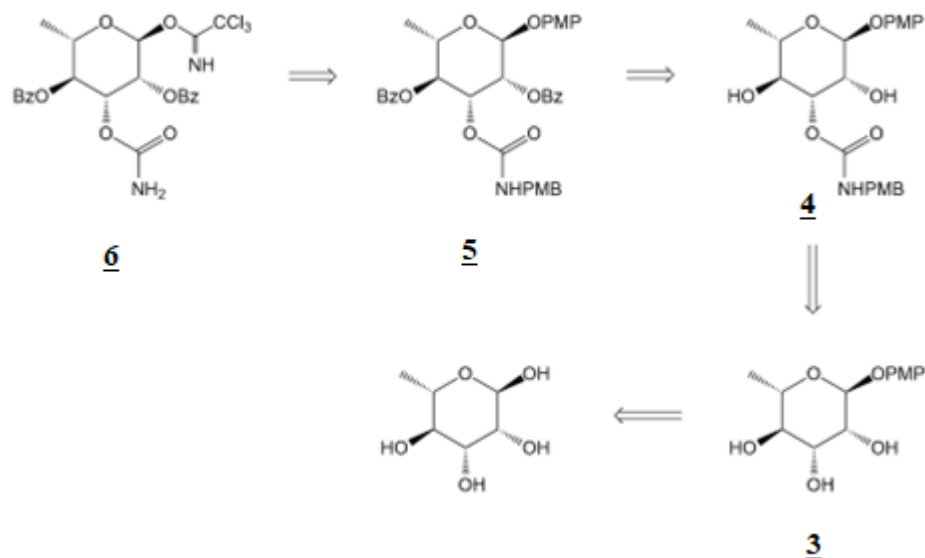


Figure 14. Schéma rétrosynthétique général de la synthèse du donneur de rhamnoside carbamoylé, 6.

Comme il est possible de le voir, le trichloroacétimidate 6 proviendrait de la déprotection simultanée du groupement 4-méthoxybenzyle sur le carbamate et du 4-méthoxyphényle en position anomérique, puis de l'activation de la position anomérique du composé 5 sous forme de TCA. Initialement, le carbamate avait été protégé avec un groupement *N*-benzyle. La déprotection de ce groupement s'est avérée infructueuse, ce qui a plutôt mené à la protection du carbamate par un 4-méthoxybenzyle pouvant être déprotégé simultanément avec le groupement 4-méthoxyphényle en position anomérique. Ceci sera discuté ultérieurement. Le composé 5 proviendrait pour sa part de la protection des positions 2 et 4 du sucre 4. Ce dernier serait obtenu suite à une réaction de carbamoylation site-sélective de la position 3 du sucre 3 avec un carbamate portant un 4-méthoxybenzyle. Le produit 3 proviendrait pour sa part de l'installation d'un groupement 4-méthoxyphényle sur la position anomérique du L-rhamnose.

Dans le cadre de ce projet, l'objectif était de greffer un rhamnose portant la fonction carbamate des bléomycines sur des triterpènes. Comme mentionné précédemment, pour

intégrer cette fonction carbamate sur un sucre, il était initialement prévu d'installer un *N*-benzyle carbamate, puis de le déprotéger par hydrogénation pour donner le sucre carbamoylé souhaité (Elferink *et al.* 2019). Un sucre portant un *N*-benzyle carbamate était déjà disponible au laboratoire et a donc été utilisé afin de tester cette possibilité. Diverses méthodes ont été testées afin de déprotéger le *N*-benzyle carbamate. Tout d'abord, une hydrogénation au Pd/C dans le méthanol (MeOH) et l'acétate d'éthyle (AcOEt) a été tentée, sans succès. Ce fut également le cas de deux autres tentatives d'hydrogénation catalysée par l'hydroxyde de palladium sur charbon (Pd(OH)<sub>2</sub>/C), l'une dans un mélange de MeOH et d'AcOEt, l'autre dans l'AcOEt seulement. Finalement, une dernière hydrogénation au Pd(OH)<sub>2</sub>/C dans l'AcOEt a été tentée, cette fois-ci à reflux, mais sans succès.

### 2.2.1.1 Préparation du réactif de carbamoylation 1

Suite à ces tentatives infructueuses de déprotection du *N*-benzyle carbamate, il a plutôt été envisagé d'utiliser un 4-méthoxybenzyle (PMB) pour protéger le carbamate et de le déprotéger au cérium ammonium nitrate (CAN) ultérieurement (figure 15) (Guo *et al.* 2016).

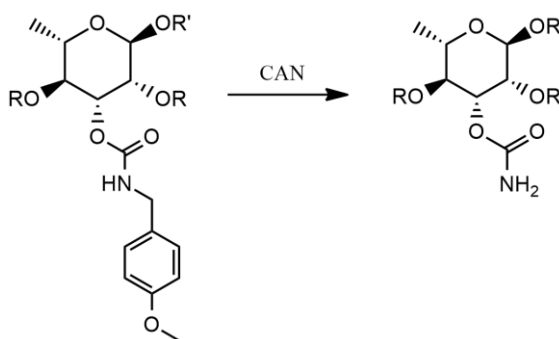


Figure 15. Déprotection du 4-méthoxybenzyle carbamate au CAN.



Pour tester cette possibilité, le réactif de carbamoylation portant la fonction PMB (**1**) a dû être synthétisé (figure 16).

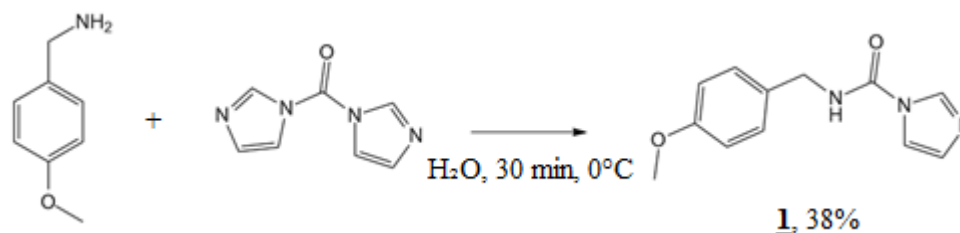


Figure 16. Synthèse du réactif de carbamoylation portant un 4-méthoxybenzyle (**1**).

Celui-ci a été synthétisé par une réaction d'addition-élimination entre du 4-méthoxybenzylamine et du 1,1'-carbonyldiimidazole dans l'eau avec un rendement de 38%. Le faible rendement peut être expliqué par la technique de purification, qui consistait simplement à filtrer et laver le précipité à l'eau froide. Une certaine perte de produit peut être observée lors de ces étapes. Une fois la synthèse terminée, des analyses de résonance magnétique nucléaire (RMN) ont permis de confirmer la structure du composé par la présence d'un triplet à 9.02 ppm correspondant au proton lié à l'azote de l'urée et trois singulets à 8.26, 7.70 et 7.03 ppm correspondant aux trois protons de l'imidazole (annexe 1). De plus, la présence du groupement PMB sur le réactif de carbamoylation a pu être confirmée par la présence de deux doublets intégrant chacun pour 2 H à 7.27 et 6.91 ppm correspondant aux protons aromatiques, un doublet de 2H à 4.39 ppm correspondant au CH<sub>2</sub> ainsi qu'un singulet de 3 H à 3.73 ppm correspondant au O-CH<sub>3</sub>. Les données RMN sont en accord avec la littérature (Duspara *et al.* 2012).

### 2.2.1.2 Synthèse du rhamnoside carbamoylé 4

Une fois le réactif de carbamoylation adéquat synthétisé, la synthèse du rhamnose portant un carbamate de 4-méthoxybenzyle et une fonction anomérique protégée par un groupement 4-méthoxyphényle a pu être réalisée (figure 17).

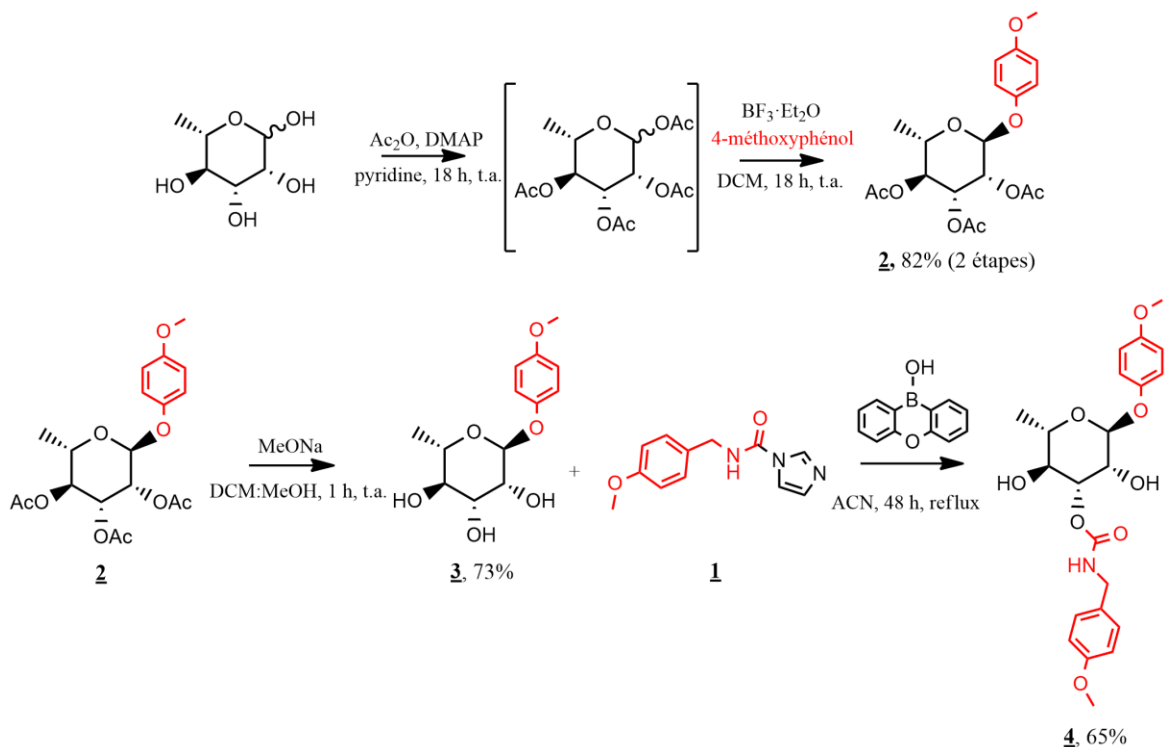


Figure 17. Synthèse du rhamnoside de 4-méthoxyphényle carbamoylé 4.

Dans un premier temps, du rhamnose de source commerciale a été protégé avec des groupements acétates grâce à de l'anhydride acétique ( $\text{Ac}_2\text{O}$ ) et de la 4-diméthylaminopyridine (DMAP) dans la pyridine. Dans cette réaction, la DMAP agit comme catalyseur en effectuant une attaque nucléophile sur le carbonyle de l'anhydride acétique. L'acyle pyridinium intermédiaire formé présentant un meilleur groupement partant grâce à la DMAP, la fonction hydroxyle du sucre attaque le carbonyle de l'intermédiaire, libérant le groupement partant et formant la liaison désirée avec l'acétate. Le proton excédentaire est ensuite capté par la pyridine. Le produit formé réagit par la suite avec du 4-méthoxyphénol (PMP) en présence de diéthylétherate de trifluorure de bore ( $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ) dans le DCM. Dans

cette réaction, le  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ , qui est un acide de Lewis en raison de la case électronique vacante sur l'atome de bore, agit comme un électrophile. Celui-ci subit donc une attaque de la part du carbonyle de l'acétate en position anomérique du sucre, formant un groupement partant qui est libéré pour former un ion oxonium. S'en suit une attaque de la fonction hydroxyle du PMP sur la position anomérique, ce qui forme le produit souhaité (**2**). La stéréosélectivité de la liaison est guidée par l'effet anchimérique de l'acétate en position 2 qui, étant vers le bas, oriente l'attaque du nucléophile vers le haut, formant l'anomère  $\alpha$  par glycosylation 1,2-*trans*. Le rendement obtenu sur ces deux étapes est de 82% et les analyses RMN ont permis de confirmer la structure du composé (annexe 2). En effet, les deux doublets intégrant chacun pour 2 H à 6.99 et 6.81 ppm correspondent aux protons aromatiques du PMP en position anomérique du sucre. Les signaux à 5.49, 5.41, 5.33, 5.13 et 4.00 ppm correspondent aux cinq protons du sucre, tandis que le singulet de 3 H à 3.76 ppm correspond au O-CH<sub>3</sub> du PMP. Finalement, les trois singulets de 3 H à 2.17, 2.05 et 2.01 ppm correspondent aux neuf protons des acétates alors que le doublet de 3 H à 1.20 ppm correspond au CH<sub>3</sub> en position 5 du sucre. Les données RMN sont en accord avec la littérature (Sarkar *et al.* 2003).

Une fois le produit **2** synthétisé, les acétates ont été déprotégés avec du méthanolate de sodium (MeONa) dans un mélange dichlorométhane (DCM) : MeOH par transestérification, formant le composé **3** avec un rendement de 73%. La structure de la molécule a pu être confirmée par les analyses RMN qui indiquent notamment la disparition des signaux des CH<sub>3</sub> des acétates (annexe 3). Les données sont en accord avec la littérature (Elsaidi et Lowary 2015).

Une fois les hydroxyles déprotégés sur le sucre, la carbamoylation a pu être réalisée par la réaction entre le rhamnose-PMP (**3**) et le réactif de carbamoylation (**1**) en présence du catalyseur acide borinique dans l'acétonitrile (ACN). La présence du diol 1,2-*cis* au niveau des hydroxyles 2 et 3 du rhamnose a donné lieu à la réaction de carbamoylation qui s'est effectuée sur l'hydroxyle 3 en position équatoriale selon le mécanisme détaillé au chapitre 1. Cette réaction a été réalisée avec un rendement de 65% et l'attribution des signaux RMN a permis de confirmer la structure du composé synthétisé (**4**) (annexe 4). En effet, l'ajout du groupement carbamate a pu être confirmé par la présence de quatre nouveaux protons

aromatiques, trois protons associés au groupement méthoxy (3.79 ppm), deux protons attribués au CH<sub>2</sub> benzylique (4.32 ppm) et un proton attribué au NH (5.43 ppm). Les corrélations COSY et HSQC ont permis de déterminer les déplacements chimiques de la position 3 du sucre (5.13 ppm en <sup>1</sup>H et 75.67 ppm en <sup>13</sup>C). Par la suite, une corrélation HMBC entre le proton 3 du sucre (5.13 ppm) et le carbone quaternaire caractéristique du carbamate (157.24 ppm) a permis de confirmer la présence du carbamate sur la position 3 du sucre.

### 2.2.1.3 Activation du sucre carbamoylé sous forme de TCA

Ensuite, trois étapes de synthèse ont mené à la préparation du TCA donneur de rhamnose carbamoylé, **6**. Ces étapes sont présentées à la figure 18.

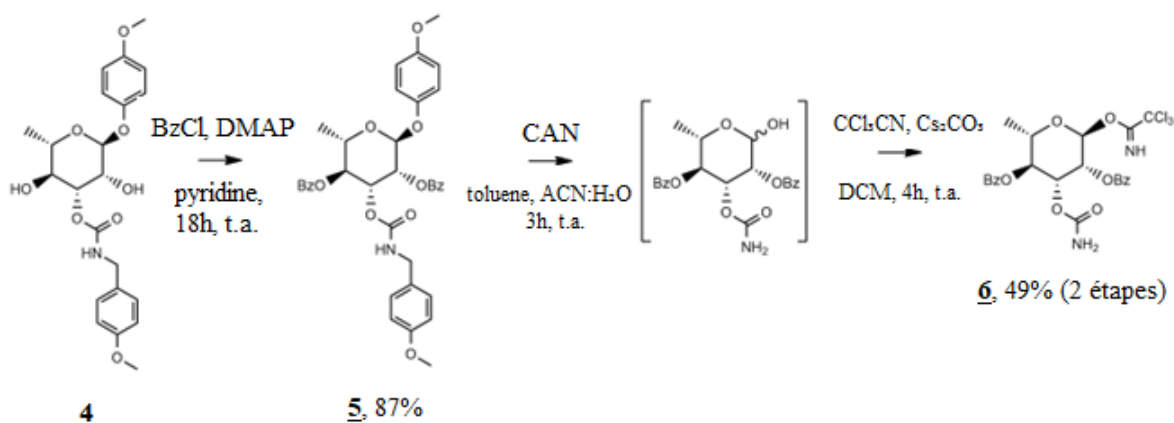


Figure 18. Synthèse du TCA de rhamnose carbamoylé (**6**).

Les positions 2 et 4 du composé **4** ont été protégées par des groupements benzoates avec du chlorure de benzoyle (BzCl) et de la DMAP dans la pyridine. Le mécanisme de cette réaction repose sur le même principe que la peracétylation présentée précédemment. Cette réaction a été réalisée avec un très bon rendement de 87%. La structure du composé **5** a pu être confirmée par les analyses RMN <sup>1</sup>H (annexe 5) qui indiquent la présence de 10 protons aromatiques supplémentaires correspondant à l'ajout des deux groupements benzoates. Par ailleurs, l'assignation des signaux a permis de déterminer le déplacement chimique des protons 2 (5.75 ppm) et 4 (5.53 ppm) du sucre. Chacun de ces deux signaux présente une

corrélation HMBC avec un carbone quaternaire associé au carbonyle des groupements benzoates ajoutés.

La synthèse du TCA (**6**) a ensuite été effectuée en deux étapes. Tout d'abord, la première étape visait à déprotéger simultanément le carbamate de 4-méthoxybenzyle et le groupement 4-méthoxyphényle anomérique à l'aide de CAN (Guo *et al.* 2016). Cette réaction a été réalisée dans un mélange de toluène, d'acétonitrile et d'eau. Par la suite, l'intermédiaire formé a été activé sous forme de TCA lors d'une réaction avec du trichloroacétonitrile ( $\text{CCl}_3\text{CN}$ ) et du carbonate de césium ( $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ ) dans le DCM. Dans cette réaction, le  $\text{CCl}_3\text{CN}$  subit une attaque nucléophile de la part de la position anomérique déprotonée par la base (le  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ ), ce qui forme le TCA. Le rendement obtenu sur ces deux étapes de synthèse est de 49%. Les analyses RMN ont permis de confirmer la structure du composé (annexe 6). Le singulet de 1 H à 8.79 ppm correspond au NH du TCA. D'autre part, il n'y a que 10 H aromatiques correspondant aux groupements benzoates et il n'y a plus de signaux associés au  $\text{CH}_2$  du PMB protégeant le carbamate. Le singulet large de 2H à 4.65 ppm peut être attribué aux 2 protons du  $\text{NH}_2$  du carbamate. Par ailleurs, le proton 3 du sucre a toujours une corrélation HMBC avec le carbone caractéristique du carbamate à 155.21 ppm, ce qui confirme la position inchangée du carbamate. Ces analyses permettent donc de confirmer que la déprotection des deux groupements en position 1 et 3 a été effectuée simultanément avec succès au CAN, puis que le TCA a bel et bien été synthétisé.

### **2.2.2 Essais de synthèse du 3-O-carbamoylrhamnoside d'acide bétulinique par glycosylation avec le trichloroacétimidate benzoylé **6****

Une fois le donneur de rhamnose carbamoylé synthétisé (**6**), la prochaine étape visait à synthétiser un rhamnoside de triterpène carbamoylé. En premier lieu, des tentatives de préparation d'un 3-O-rhamnoside de bétulinol carbamoylé ainsi qu'un 3-28-O-birhamnoside de bétulinol carbamoylé ont été réalisées. Pour ces essais, des glycosylations de Schmidt ont été effectuées entre les aglycones (le 28-O-acétate de bétulinol et le bétulinol) et le TCA **6**. Les synthèses des deux glycosides ont été réalisées avec succès, mais les déprotections se sont avérées plus complexes que prévu. Bien que diverses sources de la littérature réalisent

la déprotection de sucres carbamoylés avec du NaOH ou du MeONa (Boger et Honda 1994; Bhattacharya *et al.* 2014), les tentatives de déprotection avec ces bases ainsi qu'avec du LiOH ont été infructueuses dans le cas de la présente étude. Dans tous les cas, les analyses ont permis d'observer une dégradation du carbamate. Il est intéressant de noter que le groupe recherche de Hecht a utilisé du carbonate de potassium pour la déprotection de sucres carbamoylés (Yu *et al.* 2013), ce qui porte à se demander s'ils ont également observé certaines difficultés dans d'autres conditions.

Suite à ces essais infructueux sur les glycosides carbamoylés de bétulinol, une tentative de préparation d'un 3-*O*-carbamoylrhamnoside d'acide bétulinique a été réalisée. Au vu des résultats des études présentées au chapitre 1 soulignant les propriétés pharmacologiques prometteuses du rhamnoside d'acide bétulinique, la synthèse d'un rhamnoside carbamoylé d'acide bétulinique s'avérait très pertinente. Pour ce faire, une glycosylation de Schmidt a tout d'abord été réalisée entre du bétulinate de benzyle et le TCA (**6**) en présence de TMSOTf dans le DCM (figure 19). Dans cette réaction, le TMSOTf, qui est un acide de Lewis (Das et Mukhopadhyay 2016), subit une attaque nucléophile du TCA et la libération du groupement partant créé mène à la formation d'un ion oxonium qui peut subir une attaque de la fonction hydroxyle du triterpène. L'effet anchimérique engendré par la présence du groupement benzoate vers le bas en position 2 du sucre oriente l'attaque de l'hydroxyle vers le haut, ce qui forme l'anomère  $\alpha$ .

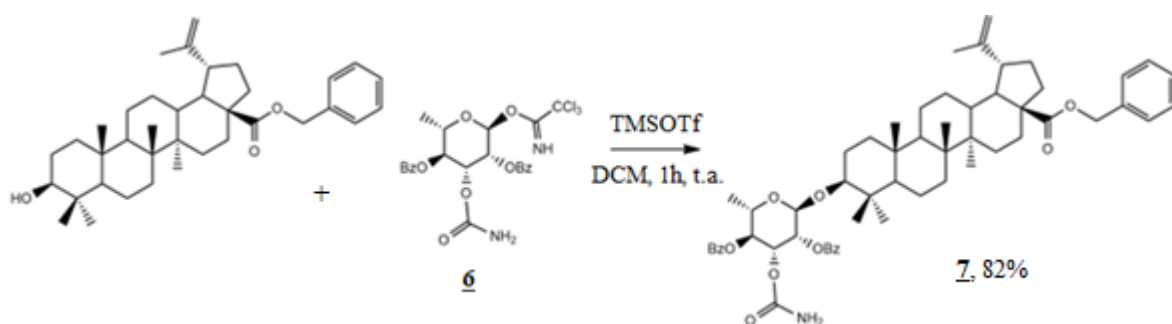


Figure 19. Synthèse du composé **7**.

Cette réaction a été réalisée avec un très bon rendement de 82% et les analyses RMN ont permis de confirmer la structure du composé **7** (annexe 7). En effet, il y a 15 H dans la région des aromatiques, ce qui correspond aux 5 H du groupement benzyle en position 28 du triterpène et aux 10 H des deux groupements benzoates protecteurs du sucre. Par ailleurs, la présence d'un doublet de 3 H à 1.29 ppm concorde avec le CH<sub>3</sub> du rhamnose. D'autre part, le proton anomérique du sucre (4.99 ppm) fait une corrélation HMBC avec le C-3 du triterpène (90.08 ppm), ce qui indique en effet la présence du sucre sur le bétulinate de benzyle et ce, à l'emplacement souhaité.

Par la suite, le groupement benzyle a été déprotégé par hydrogénation avec du Pd/C dans l'AcOEt avec un rendement de 81% (figure 20). La structure du composé a été confirmée par les analyses RMN (annexe 8). Dans cette réaction, le groupement benzyle se fixe à la surface du catalyseur où des atomes d'hydrogène sont attachés au palladium, ce qui permet un transfert d'hydrogène vers le groupement benzyle qui est libéré.

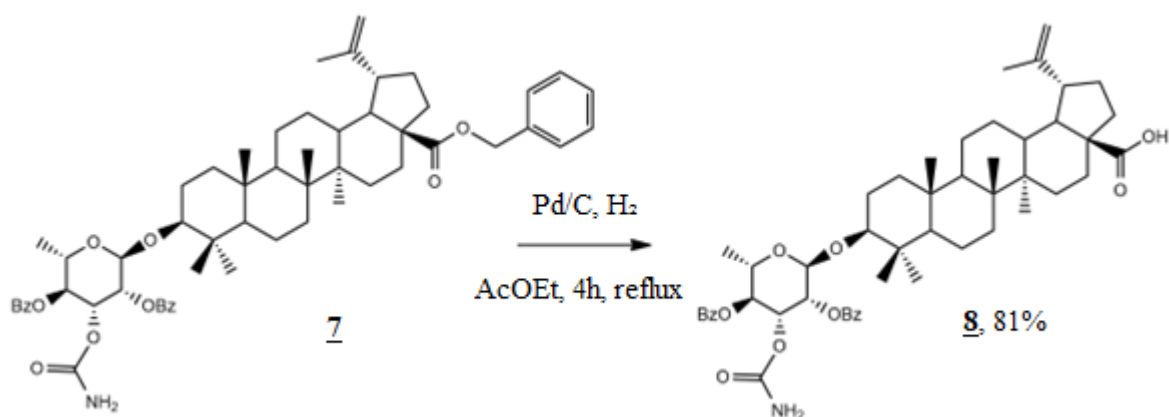


Figure 20. Synthèse du composé **8**.

Le spectre RMN <sup>1</sup>H (annexe 8) indique la disparition de 5 des 15 protons aromatiques, correspondant aux protons du groupement benzyle. Cela suggère en effet la perte du groupement benzyle sur le triterpène.

Finalement, les groupements benzoates ont été déprotégés au MeONa dans un mélange DCM : MeOH (figure 21). Lors de cette étape de déprotection, une isomérisation

du carbamate en position 2 du sucre a été observée, donnant un composé différent de celui initialement souhaité avec le carbamate en position 3.

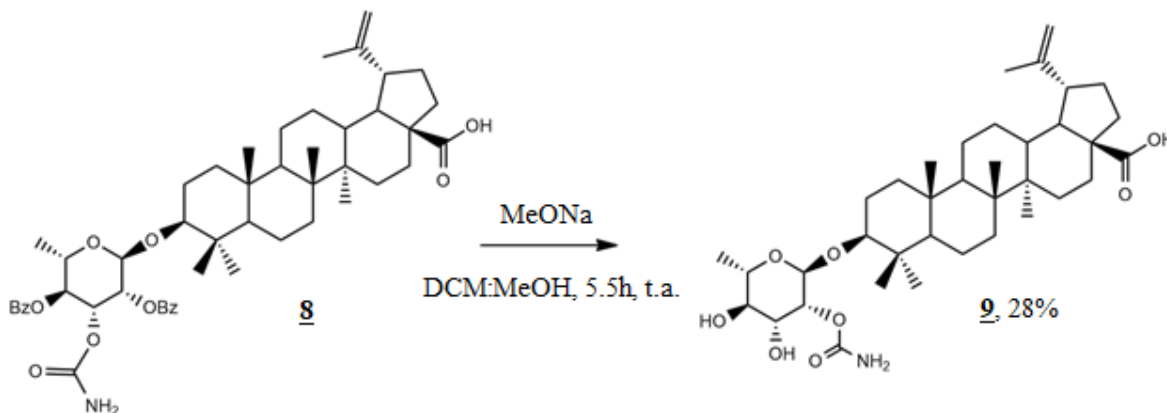


Figure 21. Déprotection du glycoside benzoylé **8** conduisant au produit d'isomérisation **9**.

Cette réaction a été réalisée avec un faible rendement de 28%. Ceci peut être en partie expliqué par des problèmes de solubilité durant cette réaction, ce qui pourrait avoir nuit à une conversion adéquate du produit. Par ailleurs, il a fallu deux purifications successives pour obtenir le produit **9**, la première en phase normale et la deuxième en phase inverse. Cela pourrait expliquer une certaine perte de rendement. Les analyses RMN (annexe 9) ont permis de détecter une isomérisation du carbamate comme il est possible de le voir à la figure 21. Suite à la déprotection des benzoates au MeONa, le carbamate s'est retrouvé en position 2 du sucre. En effet, l'assignation des signaux en RMN a permis de trouver le déplacement chimique du proton 2 (4.83 ppm) et du proton 3 du sucre (3.81 ppm). Le proton 2 est le plus déblindé, ce qui suggère la présence du carbamate sur cette position plutôt qu'en position 3. D'autre part, le proton 2 fait une corrélation HMBC avec le carbone caractéristique du carbamate à 158.20 ppm, ce qui confirme l'isomérisation du carbamate. Finalement, il est possible de noter la présence du signal de l'acide en position 28 à 179.57 ppm en RMN  $^{13}\text{C}$ .

Ceci pourrait être expliqué par le mécanisme d'isomérisation présenté à la figure 22. Un benzoate pourrait avoir subi une méthanolyse, formant un alcoolate qui aurait attaqué de manière intramoléculaire le carbamate, transférant ce dernier en position 2.



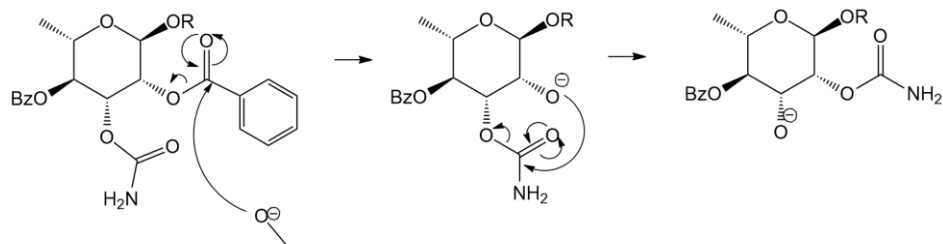


Figure 22. Hypothèse de mécanisme d'isomérisation intramoléculaire du carbamate.

La perte du carbamate en position 3 pourrait également être expliquée par le mécanisme de méthanolyse du carbamate présenté à la figure 23.

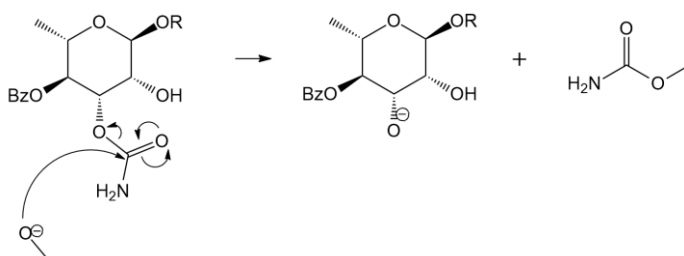


Figure 23. Hypothèse de mécanisme de méthanolyse du carbamate.

Ces deux mécanismes présentés aux figures 22 et 23 sont des hypothèses pouvant expliquer les résultats observés lors de la déprotection des benzoates en conditions basiques.

Tel que discuté au chapitre 1, une étude a déjà démontré que des composés portant le carbamate en position C-2 ou C-3 du sucre présentaient une meilleure liaison et internalisation au niveau des cellules cancéreuses (Madathil *et al.* 2014). Ainsi, bien que la synthèse du 2-*O*-carbamoylrhamnoside d'acide bétulinique n'était pas l'objectif souhaité, cela pourrait tout de même permettre d'évaluer l'influence de la position du carbamate sur les propriétés du glycoside.

### 2.2.3 Synthèse du donneur protégé par des AZMB

Tous ces essais témoignent du caractère particulièrement labile du carbamate. Les conditions de déprotection basiques testées se sont avérées incompatibles avec les glycosides carbamoylés étudiés, étant donné les dégradations et l'isomérisation observées. À cette étape

de l'étude, il devenait essentiel de trouver une façon de synthétiser le 3-*O*-carbamoylrhamnoside d'acide bétulinique afin d'évaluer l'impact de la carbamoylation en position 3 du sucre, comme c'est le cas pour le sucre caractéristique des bléomycines. Étant donné les conditions basiques plutôt drastiques de déprotection des groupements benzoates ou acétates, il est devenu nécessaire de trouver une alternative, telle que la protection du sucre par des groupements protecteurs pouvant être déprotégés en conditions neutres. C'est notamment le cas des groupements 2-(azidométhyle) benzoates (AZMB). En effet, des études ont démontré la possibilité d'utiliser des groupements protecteurs AZMB qui peuvent être clivés en conditions douces par hydrogénation catalytique au Pd/C en présence de formiate d'ammonium (NH<sub>4</sub>HCO<sub>2</sub>) (Wada *et al.* 2001; Huang et Xi 2012; Liu *et al.* 2016). Cette alternative a donc été étudiée pour la suite du projet.

### 2.2.3.1 Synthèse du groupement protecteur

Tout d'abord, l'acide 2-(azidométhyle) benzoïque a dû être synthétisé. La synthèse est présentée à la figure 24.

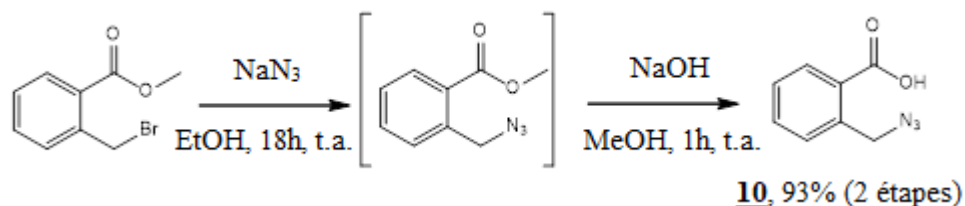


Figure 24. Synthèse de l'acide 2-(azidométhyle) benzoïque (**10**).

Le composé **10** a été synthétisé en deux étapes à partir du 2-(bromométhyle) benzoate de méthyle de source commerciale. Lors de la première étape, une azidation a été réalisée avec de l'azoture de sodium (NaN<sub>3</sub>) dans l'éthanol (EtOH). Cette réaction consiste en une simple substitution nucléophile du NaN<sub>3</sub> sur le groupement bromo-méthyle. Puis, l'ester a été saponifié avec l'aide de NaOH dans le MeOH pour former l'acide correspondant. Le rendement à l'issue de ces deux étapes de synthèse est de 93%, ce qui est excellent. La structure du composé **10** a pu être confirmée par les analyses RMN qui concordent avec la

littérature (Huang et Xi 2012). En effet, le spectre RMN  $^1\text{H}$  présente quatre signaux dans la région des aromatiques et un signal de 2 H pour le  $\text{CH}_2$  (annexe 10).

### 2.2.3.2 Activation du sucre carbamoylé sous forme de TCA

Le TCA de rhamnose carbamoylé protégé avec les AZMB a ensuite pu être préparé (figure 25).

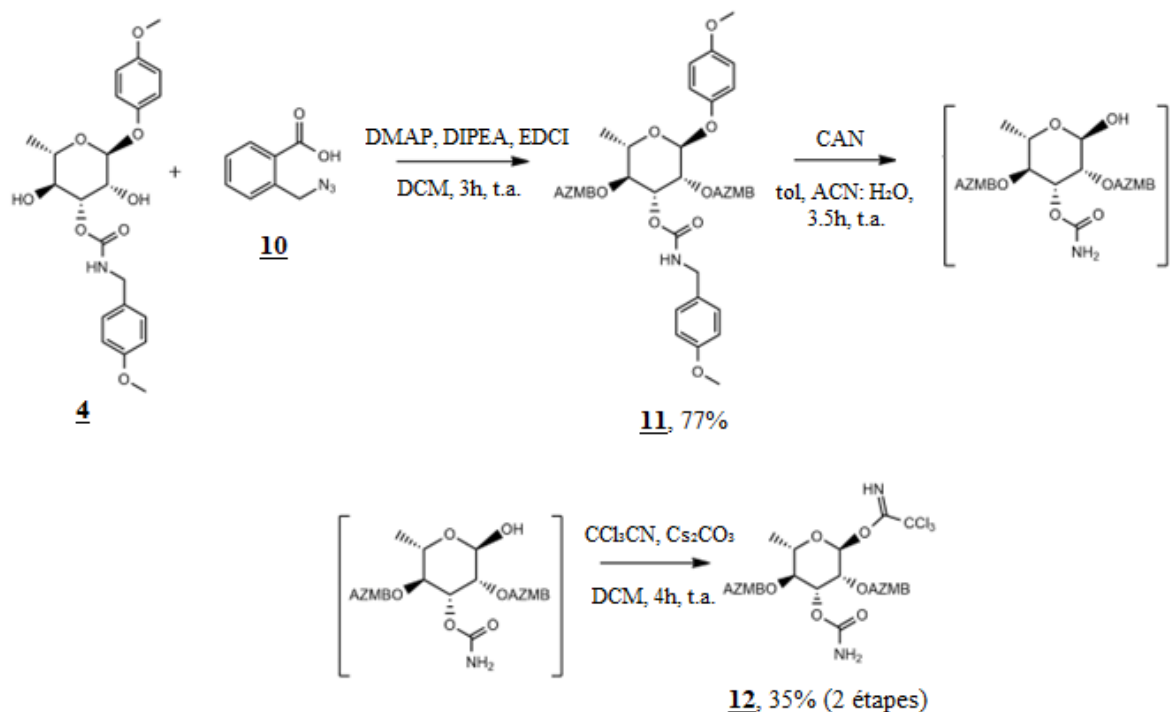


Figure 25. Synthèse du donneur de rhamnose carbamoylé protégé avec des AZMB (**12**).

Tout d'abord, le rhamnoside de 4-méthoxyphényle portant le carbamate de 4-méthoxybenzyle (**4**) synthétisé précédemment a été protégé avec les groupements AZMB (**10**) avec de la DMAP, de la DIPEA et de l'EDCI dans le DCM. Dans cette réaction, qui est une estérification de Steglich, l'acide 2-(azidométhyle) benzoïque est déprotonée par la DMAP, puis le carboxylate formé est activé par le carbodiimide (EDCI). Ensuite, une substitution nucléophile de la DMAP sur cet intermédiaire libère une urée et forme un acylpyridinium. Finalement, ce dernier est attaqué par la fonction alcool du sucre, ce qui libère la DMAP et mène au produit désiré (Neises et Steglich 1978). Cette réaction a été réalisée avec un rendement de 77% et la structure du composé **11** a pu être confirmée par les

analyses RMN (annexe 11). Le spectre RMN  $^1\text{H}$  indique la présence de 16 protons aromatiques, ce qui concorde avec l'ajout de deux groupements AZMB sur le composé **4**. Par ailleurs, les protons H-2 et H-4 du sucre sont davantage déblindés qu'avant la protection (le H-2 est passé de 4.21 ppm à 5.77 ppm alors que le H-4 est passé de 3.67 ppm à 5.51 ppm), ce qui suggère l'ajout d'un groupement électroattracteur à ces positions. Finalement, les protons H-2 et H-4 ont des corrélations HMBC avec des carbones quaternaires, ceux associés aux groupements protecteurs AZMB.

La synthèse du TCA (**12**) a ensuite été réalisée en deux étapes. Le PMP anomérique et le 4-méthoxybenzyle sur le carbamate ont été déprotégés au CAN dans le toluène et un mélange ACN :  $\text{H}_2\text{O}$  tel que décrit pour la synthèse du composé **6**. L'intermédiaire formé a ensuite été engagé dans une réaction avec du  $\text{CCl}_3\text{CN}$  et du  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  dans le DCM, ce qui a permis de former le TCA (**12**) selon le même mécanisme que pour la synthèse du composé **6**. Cette synthèse du TCA a été réalisée avec un rendement de 35% sur deux étapes. Une purification grossière de l'intermédiaire a été réalisée suite à la déprotection au CAN afin d'éliminer une partie des sous-produits formés. Toutefois, comme le produit n'était pas parfaitement pur, celui-ci n'a pas été caractérisé et a été engagé tel quel dans la réaction de synthèse du TCA, qui elle aussi a été suivie d'une chromatographie sur gel de silice. Cette double purification pourrait donc expliquer en partie le faible rendement obtenu sur ces deux étapes. Les analyses RMN ont permis de confirmer la structure du composé synthétisé (annexe 12). Tout d'abord, le carbamate est toujours sur la position 3 du sucre puisque le proton H-3 (5.59 ppm) entre toujours en corrélation HMBC avec le carbone caractéristique du carbamate (155.28 ppm). D'autre part, il y a présence d'un singulet de 1 H à 8.81 ppm correspondant au proton déblindé du TCA. Finalement, il n'y a désormais que 8 H aromatiques correspondant aux groupements AZMB, ce qui indique bel et bien la déprotection du carbamate et de la position anomérique.

#### **2.2.4 Synthèse du 3-O-carbamoylrhamnoside d'acide bétulinique**

Une fois le donneur de sucre synthétisé, la synthèse du glycoside a pu être réalisée. Les deux étapes menant à la synthèse du composé **14**, soit la glycosylation et la déprotection, sont présentées à la figure 26.

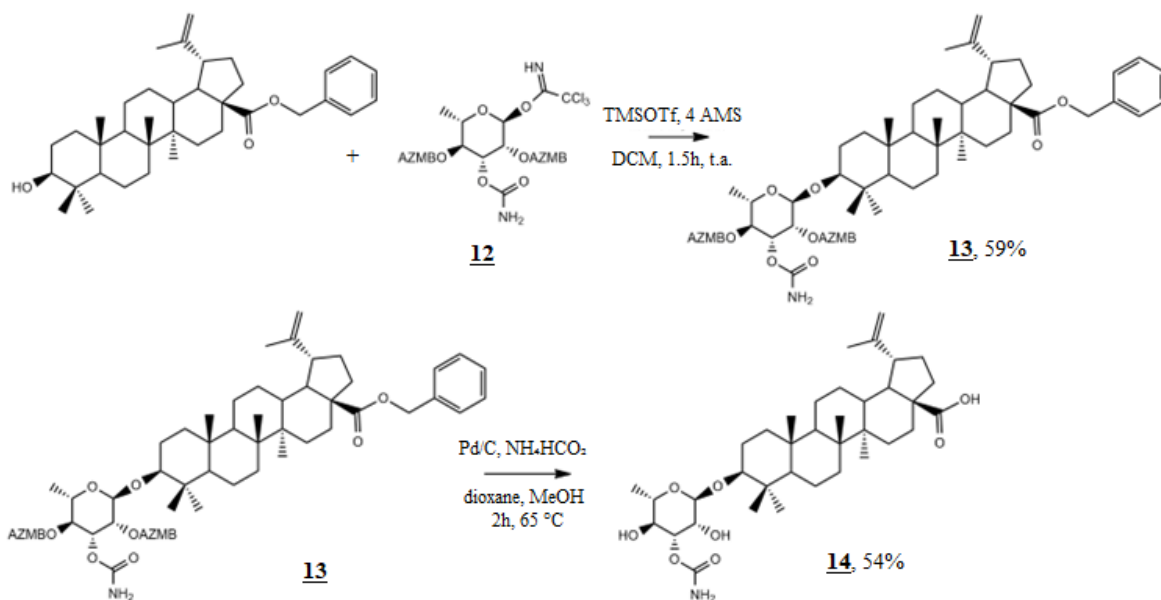


Figure 26. Synthèse du 3-O-carbamoylrhamnoside d'acide bétulinique (**14**).

La glycosylation entre le benzyle bétulinate et le composé **12** a été réalisée avec du TMSOTf dans le DCM de la même façon que pour le composé **7**. La stéréosélectivité de cette réaction est garantie par l'effet anchimérique du groupement substituant en position 2 du sucre. Cette réaction a été réalisée avec un rendement de 59% et les analyses RMN ont permis de confirmer la structure du composé formé (annexe 13). En effet, le spectre RMN <sup>1</sup>H indique la présence de 13 H aromatiques, ce qui correspond aux 5 H du benzyle et aux 8 H des deux groupements AZMB. Par ailleurs, le carbone anomérique du sucre (99.69 ppm) corrèle en HMBC avec le proton H-3 du benzyle bétulinate (3.16 ppm), ce qui indique que le sucre s'est bien fixé à l'endroit prévu.

La dernière étape pour l'obtention du composé **14**, soit la déprotection, a été réalisée au Pd/C en présence de NH<sub>4</sub>HCO<sub>2</sub> dans un mélange de dioxane et de MeOH à 65 °C. Dans cette réaction, dont le mécanisme est présenté à la figure 27, la décomposition du formiate d'ammonium libère du H<sub>2</sub> qui, au contact du Pd/C, permet la réduction de l'azoture de l'AZMB en amine. Cette dernière attaque ensuite le carbonyle de manière intramoléculaire, puis le groupement partant est libéré et un proton de l'amine est capté par l'alcool du sucre désormais déprotégé (figure 27).

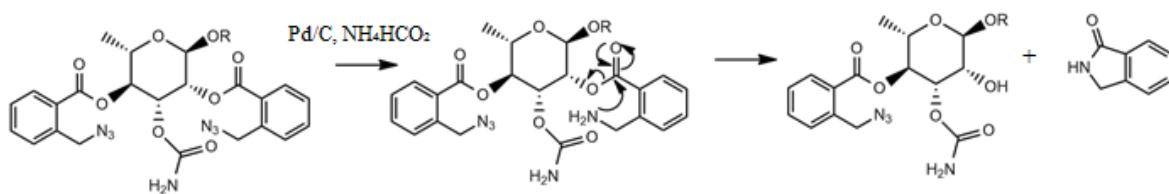


Figure 27. Mécanisme de déprotection d'un groupement AZMB en conditions neutres.

Cette méthode de déprotection se réalise donc en conditions douces et évite les conditions plus drastiques des déprotections classiques de transestérification ou d'hydrolyse basique. Cette réaction a été réalisée avec un rendement de 54% et cette fois-ci, les analyses RMN ont permis de confirmer la structure du composé synthétisé, le 3-*O*-carbamoylrhamnoside d'acide bétulinique (annexe 14). Il est important de noter que le groupement benzyle a été déprotégé en même temps que les groupements AZMB lors de cette réaction, ce qui a permis d'économiser une étape de synthèse. Le spectre RMN  $^1\text{H}$  indique tout d'abord la disparition des signaux dans la région des aromatiques, ce qui confirme la déprotection de tous les groupements. Par ailleurs, l'attribution des signaux permet d'observer que les protons H-2 et H-4 (4.00 ppm et 3.52 ppm respectivement) sont davantage blindés qu'avant la déprotection, ce qui indique la perte des groupements protecteurs sur ces positions. D'autre part, le proton anomérique (4.72 ppm) entre toujours en corrélation HMBC avec le carbone C-3 du triterpène (90.01 ppm), ce qui confirme que le sucre se trouve à l'emplacement prévu. De plus, le signal à 179.70 ppm en RMN  $^{13}\text{C}$  confirme la présence de la fonction acide. Finalement, le proton H-3 plus déblindé à 4.80 ppm corréle en HMBC avec le carbone caractéristique du carbamate (158.76 ppm), ce qui confirme que le carbamate est bel et bien demeuré sur la position 3 lors de cette déprotection, contrairement à ce qui s'était produit lors de la déprotection en conditions basiques du composé **9**. Ces résultats suggèrent donc que la protection du sucre par des groupements protecteurs AZMB pouvant être déprotégés en conditions douces est la méthode à privilégier dans la synthèse de glycosides de triterpènes carbamoylés.

## 2.3 Synthèse du rhamnoside d'acide bétulinique (témoin)

### 2.3.1 Synthèse du TCA

Afin de pouvoir évaluer l'influence de la carbamoylation sur les propriétés cytotoxiques du rhamnoside, le rhamnoside non carbamoylé d'acide bétulinique servant de témoin a été synthétisé. Tout d'abord le TCA donneur de rhamnose non carbamoylé a été synthétisé selon la figure 28.

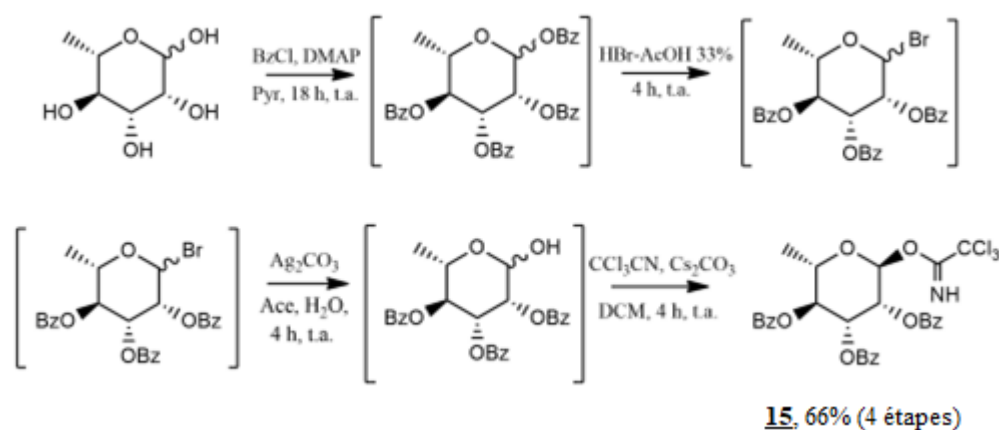


Figure 28. Synthèse du rhamnose TCA (**15**).

Le composé **15** a été synthétisé en 4 étapes à partir du rhamnose de source commerciale. La première étape, une perbenzoylation avec du BzCl et de la DMAP dans la pyridine a été effectuée de la même manière que pour la peracétylation du rhamnose présentée précédemment. L'intermédiaire formé a ensuite été engagé dans une bromation de la position anomérique avec du HBr 33% dans l'acide acétique. Lors de cette réaction, le groupement en position anomérique attaque le proton du HBr et est ensuite éliminé pour former un ion oxonium. Le brome attaque ensuite la position anomérique pour former l'intermédiaire souhaité. La position anomérique a ensuite été déprotégée avec de l'eau et du carbonate d'argent (Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). Dans cette réaction, le brome en position anomérique attaque l'argent, ce qui permet son élimination et génère un ion oxonium qui est attaqué par la fonction hydroxyle de l'eau, donnant ainsi un rhamnose perbenzoylé déprotégé en position anomérique. Par la suite, cette fonction hydroxyle en position anomérique réagit avec du

CCl<sub>3</sub>CN en présence d'une base comme le Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> pour former le TCA selon le même mécanisme que présenté pour la synthèse du composé **6**. Cette réaction menant au composé **15** a été réalisée avec un rendement de 66% sur 4 étapes. Le spectre RMN <sup>1</sup>H indique la présence du proton du TCA à 8.82 ppm (annexe 15). Par ailleurs, il concorde avec les données de la littérature (Ziegler *et al.* 1998).

### 2.3.2 Synthèse du glycoside

Suite à la synthèse du TCA (**15**), le glycoside a pu être synthétisé selon la figure 29. Une première étape de glycosylation a permis d'obtenir le glycoside protégé (**16**), qui a par la suite été déprotégé en deux étapes (la première pour le benzyle en position 28 et la deuxième pour les groupes benzoates du sucre) pour donner le composé **17**.

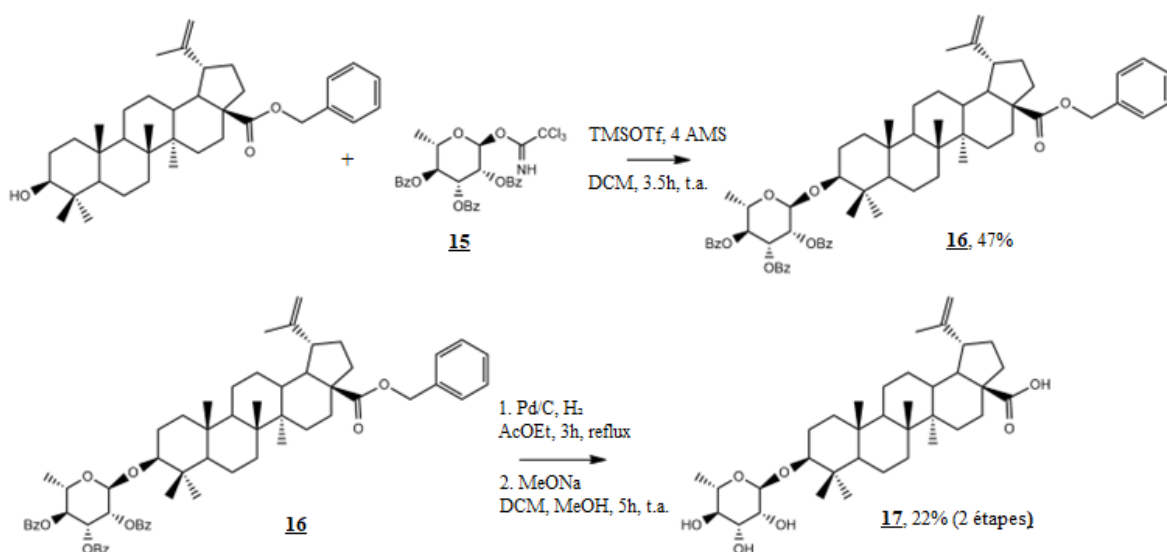


Figure 29. Synthèse du 3-O-rhamnoside d'acide bétulinique (**17**).



La glycosylation de Schmidt entre le benzyle bétulinate et le TCA **15** a été réalisée avec du TMSOTf dans le DCM, de la même manière que pour le composé **7**. Cette réaction a été réalisée avec un rendement de 47%. Une conversion incomplète pourrait être à l'origine de ce rendement moyen. Les données RMN du composé **16** concordent avec la littérature (annexe 16) (Sylla *et al.* 2019).

Le composé **16** a ensuite été engagé dans deux réactions successives. Tout d'abord, la déprotection du groupement benzyle sur le triterpène a été réalisée par hydrogénation catalytique avec du Pd/C dans l'AcOEt tel que décrit précédemment (synthèse du composé **8**). Finalement, les groupements benzoates sur le rhamnose ont été déprotégés par transestérification au MeONa dans un mélange de DCM et de MeOH. Le rendement obtenu sur ces deux étapes est de 22%, ce qui est relativement faible. Ceci pourrait être en partie expliqué par la nécessité de purifier le produit **17** en phase inverse suite à la purification en phase normale en raison de la difficulté à obtenir un produit pur en phase normale uniquement. Cette double purification pourrait avoir engendré une certaine perte de rendement. Les résultats RMN concordent avec la littérature (annexe 17), ce qui permet de confirmer la structure du témoin synthétisé (Gauthier *et al.* 2006).

## CONCLUSION

Cette étude a mené à la toute première synthèse d'un glycoside carbamoylé d'acide bétulinique. Lors de cette étude, des donneurs de rhamnose carbamoylés ont été synthétisés en s'appuyant sur des réactions originales se distinguant des approches classiques en chimie des sucres. En effet, les donneurs de rhamnose carbamoylés ont pu être synthétisés en utilisant une méthode de carbamoylation catalytique site-sélective évitant une séquence de protection/déprotection, en plus de contourner l'usage d'isocyanates ou une préactivation de l'alcool. Par ailleurs, les divers essais réalisés ont permis de déterminer une voie simple et simultanée de déprotection du groupement 4-méthoxyphényle anomérique et du groupement 4-méthoxybenzyle sur le carbamate, permettant une économie d'étapes dans la voie de synthèse. Suite à la glycosylation, des enjeux inattendus ont été mis en évidence lors de la déprotection des benzoates en conditions basiques. L'instabilité du carbamate a nécessité l'utilisation d'une méthode de déprotection alternative originale. Une voie de synthèse efficace reposant sur l'utilisation de groupements protecteurs AZMB pouvant être déprotégés en conditions neutres a été établie, permettant de conserver l'intégrité du glycoside carbamoylé. Finalement, l'objectif principal de cette maîtrise visant à développer une voie de synthèse d'un rhamnoside carbamoylé d'acide bétulinique a été atteint.

La cytotoxicité et la sélectivité du rhamnoside carbamoylé d'acide bétulinique synthétisé seront comparées à celles du rhamnoside non carbamoylé d'acide bétulinique ainsi que de l'acide bétulinique. Les résultats des tests biologiques réalisés sur ces produits seront disponibles prochainement. Les composés seront testés sur des cellules saines et cancéreuses pour lesquelles le motif 3-*O*-carbamoyl-D-mannose des bléomycines a démontré une internalisation sélective, soit les cellules cancéreuses du poumon A549, ainsi que sur les cellules saines correspondantes WI-38. Ces résultats permettront de mettre en évidence l'influence de la carbamoylation sur les propriétés du rhamnoside.

Les particularités reliées aux glycosides carbamoylés de triterpènes et les pistes de solution trouvées lors de cette étude ont établi les bases qui permettront par la suite de synthétiser rapidement une multitude d'autres dérivés de ce type. En effet, il serait pertinent

de poursuivre dans la même thématique en synthétisant une série de glycosides de triterpènes carbamoylés portant une variété de sucres différents. Il serait aussi pertinent de synthétiser des glycosides carbamoylés utilisant un aglycone différent de l'acide bétulinique, que ce soit d'autres triterpènes tels que le bétulinol ou tout simplement d'autres agents cytotoxiques prometteurs. Cette étude pourrait donc contribuer à la synthèse de nouveaux agents de chimiothérapie ciblée.

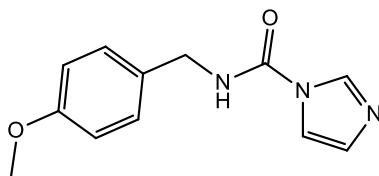
## **CHAPITRE 3 - PARTIE EXPÉRIMENTALE**

### 3.1 General informations

#### 3.1.1 Chemicals

Unless otherwise noted, all starting products, solvents and materials were purchased from commercial sources and were used as received without further purification. Unless otherwise specified, reactions were conducted under anhydrous argon atmosphere with anhydrous solvents. These were introduced using dry syringes and needles. Reactions were monitored by thin-layer chromatography (TLC) with normal phase silica gel 60 F<sub>254</sub> 0,25 mm pre-coated aluminum foil plates from MilliPore and then visualized under UV<sub>254</sub> light or revealed using ceric ammonium molybdate (CAM) solution. Products were purified by flash chromatography using normal phase silica gel 60 (15-40 μm) or using an automated flash chromatography system (B chi) and silica gel 60 (15-40 μm) pre-packed cartridges. NMR spectra were recorded with a Bruker Avance 400 spectrometer at 400 MHz for <sup>1</sup>H nuclei and 101 MHz for <sup>13</sup>C nuclei. Solvents used for NMR samples were deuterated chloroform, methanol or dimethyl sulfoxide. Chemical shifts were reported in ppm relative to the solvent residual peak (Fulmer *et al.* 2010) (in CDCl<sub>3</sub>, δ = 7.26 ppm for <sup>1</sup>H and 77.16 ppm for <sup>13</sup>C; in CD<sub>3</sub>OD, δ = 3.31 ppm for <sup>1</sup>H and 49.00 ppm for <sup>13</sup>C; in (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, δ = 2.50 ppm for <sup>1</sup>H and 39.52 ppm for <sup>13</sup>C). Coupling constants *J* were in Hertz (Hz). Multiplicities were reported using the following abbreviations: s=singlet; d=doublet; t=triplet; q=quartet; m=multiplet; br=broad. HRMS spectra were recorded with an Agilent 6224 MS-TOF mass spectrometer equipped with an electrospray source.

### 3.2 Synthesis of *N*-(4-Methoxybenzyl)-1*H*-imidazole-1-carboxamide (**1**)

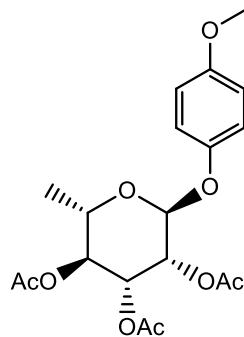


Chemical Formula: C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>  
Molecular Weight: 231,25 g/mol

To a solution of 4-methoxybenzylamine (2.06 g, 15 mmol) in water (150 mL) at 0 °C was added 1,1'-carbonyldiimidazole (2.92 g, 18 mmol) and the mixture was stirred 30 minutes at 0 °C. The precipitate was filtrated and washed with cold water to afford compound **1** as a white-off powder (1.32 g, 38%). *R<sub>f</sub>*=0.14 (dichloromethane/ethyl acetate 1:1); <sup>1</sup>H NMR ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, 400 MHz): δ 9.02 (t, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.27 (d, 2H, *J* = 8.5 Hz), 7.03 (s, 1H), 6.91 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz), 4.38 (d, 2H, *J* = 5.7 Hz), 3.73 (s, 3H). <sup>13</sup>C NMR ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, 101 MHz): δ 158.52, 148.90, 136.04, 130.44, 129.67, 128.84, 116.62, 113.87, 55.12, 43.03. NMR data were consistent with literature description (Duspara *et al.* 2012).

### 3.3 Synthesis of the donor of carbamate-bearing rhamnoside protected with benzoates **6**

#### 3.3.1 4-methoxyphenyl 2,3,4-triacetyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (**2**)

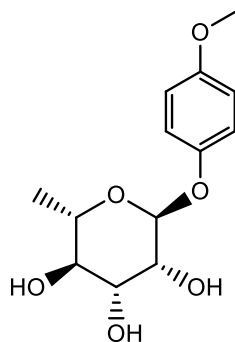


Chemical Formula: C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>O<sub>9</sub>  
Molecular Weight: 396,39 g/mol

To a mixture of L-rhamnose monohydrate (500 mg, 2.74 mmol) and pyridine (3 mL) at 0 °C (ice-water bath), DMAP was added (33.47 mg, 0.27 mmol). Ac<sub>2</sub>O (1.5 mL, 15.84 mmol) was then slowly added to the cooled solution and the mixture was stirred 18 h at room temperature. Afterwards, the mixture was diluted with dichloromethane (50 mL), washed with HCl 1M (3 X 50 mL) stirring the mixture 15-30 minutes each time to hydrolyse the excess of Ac<sub>2</sub>O, washed with saturated solution of NaHCO<sub>3</sub> (3 X 50 mL) and saturated aqueous solution of NaCl (10 mL). The organic layer was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and solvent was rotary evaporated.

This afforded crude peracetylated rhamnose was directly engaged in the next step. It was mixed with 4-methoxyphenol (883 mg, 7.12 mmol), dichloromethane (8 mL) and stirred for 10 minutes, then cooled at 0 °C (ice-water bath). Afterwards, boron trifluoride etherate (3 mL, 24.11 mmol) was slowly added with leak-proof glass syringe at 0 °C. Mixture was stirred 18 h at room temperature, then diluted with dichloromethane (15 mL), washed with saturated solution of NaHCO<sub>3</sub> (2 X 20 mL), water (2 X 20 mL) and saturated aqueous solution of NaCl (20 mL). The organic layer was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and solvent was rotary evaporated. The crude residue was purified with a low-pressure liquid chromatographic system (B chi) and silica gel using a gradient of ethyl acetate (from 0% to 5% in 10 minutes, from 5% to 10% in 10 minutes and from 10% to 20% in 40 minutes, debit of 50 mL/min) in hexane as the mobile phase to afford the compound **2** as a translucent oil (885 mg, 82% on two steps): *R<sub>f</sub>*=0.38 (hexane/ethyl acetate 7:3); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6.99 (d, 2H, *J* = 9.1 Hz), 6.81 (d, 2H, *J* = 9.1 Hz), 5.48 (dd, 1H, *J* = 10.1, 3.5 Hz), 5.41 (m, 1H), 5.33 (d, 1H, *J* = 1.5 Hz), 5.13 (t, 1H, *J* = 10.0 Hz), 4.00 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.19 (d, 3H, *J* = 6.3 Hz). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz): δ 170.20, 170.15, 170.13, 155.27, 149.97, 117.70, 114.71, 96.51, 71.08, 69.83, 69.02, 67.05, 55.70, 21.01, 20.90, 20.85, 17.51. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra data were consistent with literature (Sarkar *et al.* 2003).

### 3.3.2 (2S,3R,4R,5R,6S)-2-(4-methoxyphenoxy)-6-methyltetrahydro-2H-pyran-3,4,5-triol (**3**)

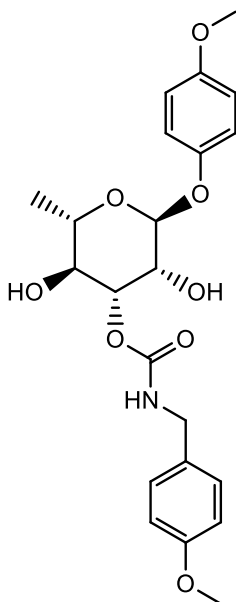


Chemical Formula: C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>  
Molecular Weight: 270,28 g/mol

A freshly prepared solution of NaOMe (0.6 M, 62 mg, 2.68 mmol of sodium in 4 mL of methanol) was added to a cooled mixture (ice-water bath) of **2** (885 mg, 2.23 mmol), dichloromethane (8 mL) and methanol (4 mL). The mixture was stirred 1 h at room temperature and controlled by TLC, then the reaction was neutralized to pH 7 with Amberlite resin and filtrated. The filtrate was rotary evaporated and the crude residue was purified with a low-pressure liquid chromatographic system (B chi) and silica gel using a gradient of methanol (from 0% to 10% in 40 minutes) in dichloromethane as the mobile phase to afford the compound **3** as a white foam (440 mg, 73%): *R<sub>f</sub>*=0.35 (dichloromethane/methanol 9:1); <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ 6.98 (d, 2H, *J* = 9.1 Hz), 6.82 (d, 2H, *J* = 9.1 Hz), 5.31 (s, 1H), 4.01 (m, 1H), 3.85 (dd, 1H, *J* = 9.5, 3.3 Hz), 3.68 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.47 (t, 1H, *J* = 9.5 Hz), 1.24 (d, 3H, *J* = 6.2 Hz). <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 101 MHz): δ 156.31, 151.71, 118.78,

115.52, 100.58, 73.80, 72.17, 72.06, 70.38, 55.99, 18.00. NMR data were consistent with literature description (Elsaidi et Lowary 2015).

### 3.3.3 (2S,3R,4R,5S,6S)-3,5-dihydroxy-2-(4-methoxyphenoxy)-6-methyltetrahydro-2H-pyran-4-yl 4-methoxybenzylcarbamate (**4**)

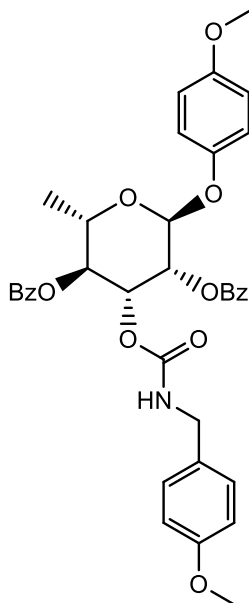


Chemical Formula: C<sub>22</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>8</sub>  
Molecular Weight: 433,45 g/mol

A mixture of **3** (503.8 mg, 1.86 mmol), **1** (603.4 mg, 2.61 mmol), the catalyst dibenzoxaborininol (54.8 mg, 0.28 mmol) and ACN (18.6 mL) was stirred 48 h at reflux. The solvent was then rotary evaporated and the crude residue was purified with a low-pressure liquid chromatographic system (B chi) and silica gel using a gradient of ethyl acetate (from 0% to 30% in 20 minutes, from 30% to 50% in 30 minutes and from 50% to 60% in 10 minutes, debit of 60 mL/min) in dichloromethane as the mobile phase to afford the compound **4** as a white foam (524 mg, 65%):  $R_f=0.50$  (dichloromethane/ethyl acetate 1:1);  $[\alpha]_D^{20} -127.7$  ( $c$  0.1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); HRMS (ESI)  $m/z$  calcd for C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>NO<sub>8</sub> [M + H]<sup>+</sup> (pending) ; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  7.22 (d, 2H,  $J = 8.2$  Hz, ArH), 6.99 (d, 2H,  $J = 8.8$  Hz, ArH), 6.87 (d, 2H,  $J = 8.3$  Hz, ArH), 6.82 (d, 2H,  $J = 8.7$  Hz, ArH), 5.43 (t, 1H,  $J = 5.9$  Hz, NH), 5.37 (br s, 1H, H-1), 5.13 (dd, 1H,  $J = 9.7, 2.5$  Hz, H-3), 4.32 (d, 2H,  $J = 5.6$  Hz, ArCH<sub>2</sub>), 4.21 (br s, 1H, H-2), 3.83 (m, 1H, H-5), 3.79 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.77 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.67 (m, 1H, H-4), 3.28 (d, 1H,  $J = 4.8$  Hz, OH), 2.47 (d, 1H,  $J = 4.5$  Hz, OH), 1.30 (d, 3H,  $J = 6.0$  Hz, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz):  $\delta$  159.31, 157.24, 155.09, 150.22, 129.94, 129.20, 117.62, 114.76, 114.28, 98.35, 75.67, 71.87, 70.18, 69.51, 55.79, 55.45, 45.01, 17.66.



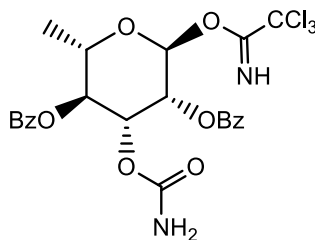
**3.3.4 (2S,3R,4R,5S,6S)-4-(((4-methoxybenzyl)carbamoyl)oxy)-2-(4-methoxyphenoxy)-6-methyltetrahydro-2H-pyran-3,5-diyl dibenzoate (**5**)**



Chemical Formula: C<sub>36</sub>H<sub>35</sub>NO<sub>10</sub>  
Molecular Weight: 641,66 g/mol

Compound **4** (871.5 mg, 2.01 mmol) was dissolved in dry pyridine (15 mL) and DMAP (24.6 mg, 0.20 mmol) was added. Then, benzoyl chloride (0.93 mL, 8.04 mmol) was slowly added to the cooled solution (ice-water bath). The mixture was stirred overnight at room temperature. Afterwards, the mixture was diluted with dichloromethane (100 mL), washed with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3N (3 X 75 mL), saturated solution of NaHCO<sub>3</sub> (3 X 75 mL) and saturated aqueous solution of NaCl (75 mL). The organic layer was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and solvent was rotary evaporated. The crude residue was purified by flash chromatography over silica gel using a gradient of ethyl acetate (from 0% to 30%) in hexane as the mobile phase to afford the compound **5** as a white powder (1.12 g, 87%): *R<sub>f</sub>*=0.33 (hexane/ethyl acetate 7:3); [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +36.8 (*c* 0.1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); HRMS (ESI) *m/z* calcd for C<sub>36</sub>H<sub>36</sub>NO<sub>10</sub> [M + H]<sup>+</sup> (pending); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 8.13 (d, 2H, *J* = 7.4 Hz, *ArH*), 8.07 (d, 2H, *J* = 7.5 Hz, *ArH*), 7.61 (t, 2H, *J* = 7.4 Hz, *ArH*), 7.49 (m, 4H, *ArH*), 7.08 (d, 2H, *J* = 9.0 Hz, *ArH*), 6.91 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz, *ArH*), 6.85 (d, 2H, *J* = 9.1 Hz, *ArH*), 6.61 (d, 2H, *J* = 8.5 Hz, *ArH*), 5.82 (dd, 1H, *J* = 10.2, 3.2 Hz, *H*-3), 5.75 (br s, 1H, *H*-2), 5.56 (s, 1H, *H*-1), 5.53 (m, 1H, *H*-4), 4.90 (t, 1H, *J* = 5.7 Hz, *NH*), 4.26 (m, 1H, *H*-5), 4.15 (m, 2H, *ArCH*<sub>2</sub>), 3.78 (s, 3H, *OCH*<sub>3</sub>), 3.72 (s, 3H, *OCH*<sub>3</sub>), 1.31 (d, 3H, *J* = 6.2 Hz, *CH*<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz): δ 166.08, 165.66, 158.92, 155.29, 155.25, 150.24, 133.68, 133.56, 130.28, 130.13, 130.09, 129.51, 129.49, 128.72, 128.70, 128.67, 128.61, 117.75, 114.80, 113.96, 96.69, 72.35, 71.28, 69.78, 67.51, 55.80, 55.35, 44.56, 17.81.

### 3.3.5 (2S,3S,4R,5R,6S)-4-(carbamoyloxy)-2-methyl-6-(2,2,2-trichloro-1-iminoethoxy)tetrahydro-2H-pyran-3,5-diyl dibenzoate (**6**)



Chemical Formula: C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>

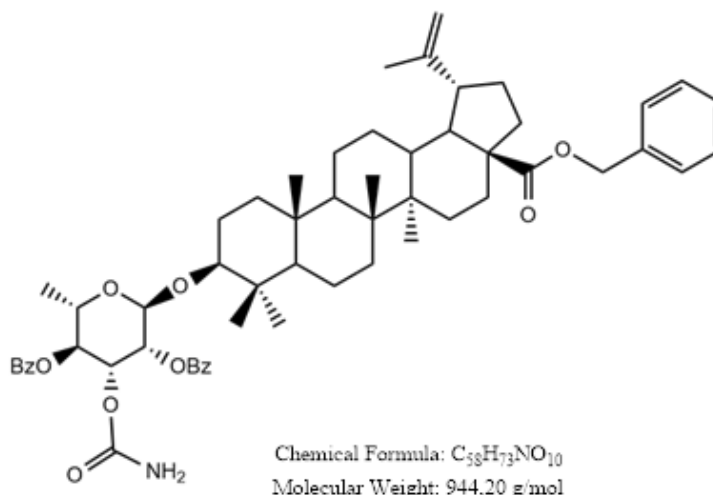
Molecular Weight: 559,78 g/mol

The product **6** was obtained after two steps (deprotection of anomeric position, then synthesis of trichloroacetimidate). First, compound **5** (1.08 g, 1.69 mmol) was dissolved in toluene (10 mL), then a premixed solution of ACN (8 mL) and water (5.3 mL) was added. Cerium ammonium nitrate (CAN) (5.6 g, 10.13 mmol) was then added to the cooled (ice-water bath) solution. Mixture was stirred 3 h at room temperature, afterwards it was diluted with ethyl acetate (100 mL), washed with water (80 mL), saturated solution of NaHCO<sub>3</sub> (80 mL) and saturated aqueous solution of NaCl (80 mL). The organic layer was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and solvent was rotary evaporated. The crude residue was purified by flash chromatography over silica gel using a gradient of ethyl acetate (from 0% to 50%) in hexane as the mobile phase. As the product obtained was not perfectly pure, the next step was engaged on this residue without further purification.

Crude product obtained to the last step was dissolved in dichloromethane (12 mL), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (47.8 mg; 0.15 mmol) was added, followed by CCl<sub>3</sub>CN (0.294 mL; 2.94 mmol). Reaction was stirred 4 h at room temperature. Then, mixture was quenched with NH<sub>4</sub>Cl (12.5 mL) and diluted with water (19 mL), then aqueous phase was extracted with dichloromethane (3 X 30 mL). The organic layer was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and solvent was rotary evaporated. The crude residue was purified with a low-pressure liquid chromatographic system (B chi) and silica gel using a gradient of ethyl acetate (from 0% to 40% in 25 min, debit of 30 mL/min) in hexane as the mobile phase to afford the compound **6** as an off-white foam (467 mg, 49% on two steps): *R<sub>f</sub>*=0.70 (hexane/ethyl acetate 1:1); [α]<sup>20</sup><sub>D</sub> +50.9 (*c* 0.1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); HRMS (ESI) *m/z* calcd for C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub> [M + H]<sup>+</sup> (pending); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 8.79 (s, 1H, NH), 8.13 (d, 2H, *J* = 7.1 Hz, ArH), 8.06 (d, 2H, *J* = 7.1 Hz, ArH), 7.57-7.65 (m, 2H, ArH), 7.52 (d, 2H, *J* = 7.9 Hz, ArH), 7.47 (dd, 2H, *J* = 14.0, 6.1 Hz, ArH), 6.41 (d, 1H, *J* = 1.8 Hz, *H*-1), 5.78 (m, 1H, *H*-2), 5.62-5.54 (m, 2H, *H*-3, *H*-4), 4.55 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 4.31 (m, 1H, *H*-5), 1.37 (d, 3H, *J* = 6.2 Hz, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz): δ 165.98, 165.39, 160.23, 155.12, 133.84, 133.69, 130.19, 130.03, 129.28, 129.18, 128.78, 128.69, 94.92, 90.85, 71.35, 69.95, 69.80, 69.46, 17.84.

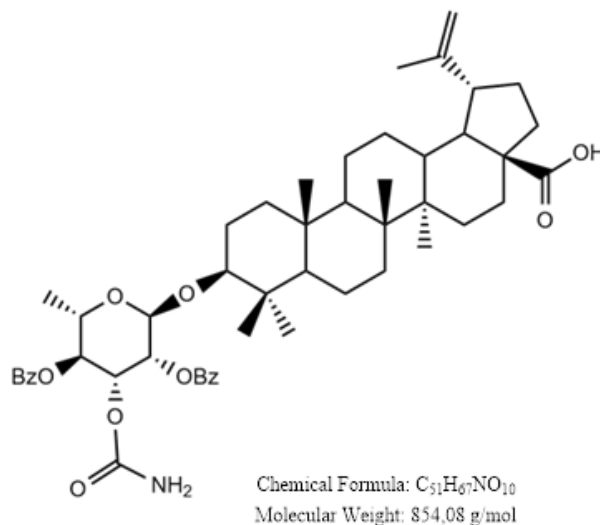
### 3.4 Synthesis of the betulinic acid 2-*O*-carbamoylrhamnoside **7**

#### 3.4.1 (3*R*,4*R*,5*S*,6*S*)-2-(((1*R*,3*aS*,5*aR*,5*bR*,9*S*,11*aR*)-3*a*-((benzyloxy)carbonyl)-5*a*,5*b*,8,8,11*a*-pentamethyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1*H*-cyclopenta[*a*]chrysen-9-yl)oxy)-4-(carbamoyloxy)-6-methyltetrahydro-2*H*-pyran-3,5-diyl dibenzoate (**7**)



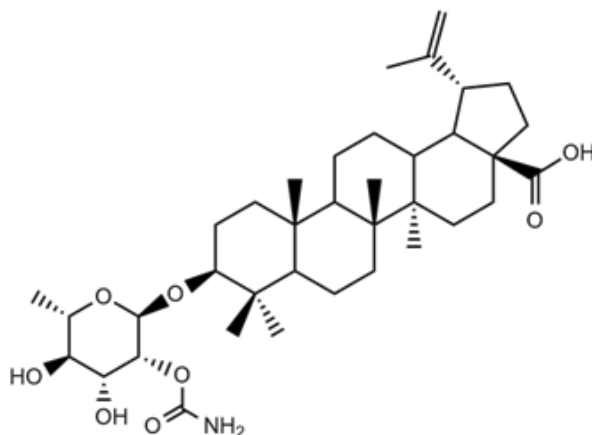
A mixture of benzyl betulate (103.9 mg, 0.19 mmol), donor **6** (132.8 mg, 0.24 mmol), 4 Å molecular sieves and dichloromethane (6.5 mL) was stirred 30 minutes at room temperature. Then, TMSOTf (3.4 μL, 0.02 mmol) was added to the cooled solution (ice-bath water at 10 °C). The reaction was stirred 1 h at room temperature and controlled by TLC. Then, mixture was quenched with Et<sub>3</sub>N (4 μL), filtered and solvent was rotary evaporated. The crude residue was purified with a low-pressure liquid chromatographic system (B chi) and silica gel using a gradient of ethyl acetate (from 0% to 40% in 30 minutes, debit of 40 mL/min) in hexane as the mobile phase to afford the compound **7** as a white powder (147 mg, 82%): *R<sub>f</sub>*=0.36 (hexane/ethyl acetate 7:3); [α]<sup>20</sup><sub>D</sub> +55.6 (*c* 0.05, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); HRMS (ESI) *m/z* calcd for C<sub>58</sub>H<sub>74</sub>NO<sub>10</sub> [M + H]<sup>+</sup> (pending); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 8.12 (d, 2H, *J* = 7.4 Hz, *ArH*), 8.06 (d, 2H, *J* = 7.4 Hz, *ArH*), 7.58 (m, 2H, *ArH*), 7.50-7.43 (m, 4H, *ArH*), 7.38-7.30 (m, 5H, *ArH*), 5.53-5.50 (m, 2H, H-2', H-3'), 5.46 (t, 2H, *J* = 10 Hz, H-4'), 5.13 (dd, 2H, *J* = 28.2, 12.3 Hz, CH<sub>2</sub>-Bn), 4.99 (s, 1H, H-1'), 4.72 (s, 1H, H-29a), 4.68 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 4.59 (s, 1H, H-29b), 4.22 (m, 1H, H-5'), 3.15 (m, 1H, H-3), 3.02 (td, 1H, *J* = 10.8, 4.6 Hz, H-19), 2.28 (d, 1H, *J* = 12.5 Hz, H-16a), 2.19 (td, 1H, *J* = 12.6, 3.2 Hz, H-13), 1.67 (s, 3H, H-30), 1.29 (d, 3H, *J* = 6.2 Hz, H-6'), 1.00 (s, 3H, H-23), 0.94 (s, 3H, H-27), 0.88 (s, 3H, H-24), 0.85 (s, 3H, H-25), 0.77 (s, 3H, H-26), 0.69 (d, 1H, *J* = 9.1 Hz, H-5), 1.93-1.09 (m, 20 H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz): δ 175.92, 166.13, 165.78, 155.64, 150.66, 136.59, 133.52, 133.46, 130.03, 129.95, 129.69, 129.58, 128.65, 128.59, 128.35, 128.17, 109.69, 99.91, 90.08, 72.37, 71.54, 70.38, 66.86, 65.83, 56.65, 55.63, 50.62, 49.56, 47.05, 42.50, 40.78, 39.23, 38.78, 38.30, 37.03, 34.38, 32.22, 30.69, 29.66, 28.30, 25.74, 25.63, 21.02, 19.46, 18.37, 17.62, 16.47, 16.27, 15.94, 14.77.

**3.4.2 (1R,3aS,5aR,5bR,9S,11aR)-9-(((3R,4R,5S,6S)-3,5-bis(benzoyloxy)-4-(carbamoyloxy)-6-methyltetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-cyclopenta[a]chrysene-3a-carboxylic acid (**8**)**



First, a mixture of compound **7** (147 mg, 0.16 mmol), ethyl acetate (34.5 mL) and Pd/C (34 mg, 0.016 mmol) was put under H<sub>2</sub> atmosphere. Then, H<sub>2</sub> was bubbled in the solvent at 0 °C (ice-water bath) for 15 minutes. Afterwards, the mixture was stirred 4 h at reflux and followed by TLC. Thereafter, the mixture was filtered through a bed of Celite and rinsed with ethyl acetate. The filtrate was then rotary evaporated. The crude residue was purified by flash chromatography over silica gel using a gradient of ethyl acetate (from 0% to 50%) in hexane as the mobile phase to afford the compound **8** as a white powder (108 mg, 81%): *R<sub>f</sub>*=0.52 (hexane/ethyl acetate 1:1); [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +32.6 (*c* 0.1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); HRMS (ESI) *m/z* calcd for C<sub>51</sub>H<sub>68</sub>NO<sub>10</sub> [M + H]<sup>+</sup> (pending); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 8.12 (d, 2H, *J* = 7.3 Hz, *ArH*), 8.07 (d, 2H, *J* = 7.4 Hz, *ArH*), 7.63-7.56 (m, 2H, *ArH*), 7.51-7.44 (m, 4H, *ArH*), 5.55 (m, 1H, H-3'), 5.52 (s, 1H, H-2'), 5.46 (t, 1H, *J* = 9.6 Hz, H-4'), 5.00 (s, 1H, H-1'), 4.73 (s, 1H, H-29a), 4.63 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 4.60 (s, 1H, H-29b), 4.22 (m, 1H, H-5'), 3.16 (m, 1H, H-3), 2.99 (td, 1H, *J* = 10.6, 4.3 Hz, H-19), 2.27 (d, 1H, *J* = 12.6 Hz, H-16a), 2.20 (d, 1H, *J* = 10.9 Hz, H-13), 1.68 (s, 3H, H-30), 1.29 (d, 3H, *J* = 5.9 Hz, H-6'), 1.01 (s, 3H, H-23), 0.96 (s, 3H, H-27), 0.92 (s, 3H, H-24), 0.88 (s, 3H, H-25), 0.86 (s, 3H, H-26), 0.70 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz, H-5), 1.97-1.17 (m, 22 H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz): δ 180.77, 166.40, 166.28, 165.93, 155.77, 150.71, 133.70, 133.64, 130.19, 130.11, 129.76, 129.62, 128.79, 128.74, 109.94, 100.06, 90.21, 72.44, 71.65, 70.48, 66.97, 65.99, 56.50, 55.71, 50.65, 49.40, 47.12, 42.64, 40.90, 39.38, 38.86, 38.52, 37.27, 37.15, 34.47, 32.37, 30.73, 29.88, 28.43, 25.89, 25.66, 21.08, 19.56, 18.48, 17.75, 16.63, 16.42, 16.17, 14.91.

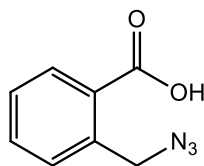
**3.4.3 (1R,3aS,5aR,5bR,9S,11aR)-9-(((3R,4R,5R,6S)-3-(carbamoyloxy)-4,5-dihydroxy-6-methyltetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-cyclopenta[a]chrysene-3a-carboxylic acid (**9**)**



Chemical Formula: C<sub>37</sub>H<sub>56</sub>NO<sub>8</sub>  
Molecular Weight: 645,87 g/mol

A freshly prepared solution of NaOMe (0.35 M, 3 mg, 0.13 mmol of sodium in 0.4 mL of methanol) was added to a cooled mixture (ice-water bath) of **8** (37.5 mg, 0.04 mmol), dichloromethane (0.75 mL) and methanol (0.35 mL). The mixture was stirred 5,5 h at room temperature, then the reaction was neutralized to pH 7 with Amberlite resin and filtrated. The filtrate was rotary evaporated and the crude residue was purified by flash chromatography over silica gel using a gradient of methanol (from 0% to 15%) in dichloromethane as the mobile phase, then purified again by reversed-phase flash chromatography SPE (3 g cartridge) using a gradient of methanol (from 50% to 80%) in water as the mobile phase to afford the glycoside **9** as a white powder (8 mg, 28%):  $R_f=0.24$  (dichloromethane/methanol 9:1);  $[\alpha]_D^{20} -20.5$  ( $c$  0.1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 1:1); HRMS (ESI)  $m/z$  calcd for C<sub>37</sub>H<sub>60</sub>NO<sub>8</sub> [M + H]<sup>+</sup> (pending); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>:CD<sub>3</sub>OD 1:1, 400 MHz):  $\delta$  4.83 (m, 1H, H-2'), 4.80 (br s, 1H, H-1'), 4.68 (br s, 1H, H-29a), 4.55 (br s, 1H, H-29b), 3.81 (dd, 1H,  $J = 9.6, 3.5$  Hz, H-3'), 3.76-3.70 (m, 1H, H-5'), 3.35 (d, 1H,  $J = 10.6$  Hz, H-4'), 3.05 (dd, 1H,  $J = 11.3, 4.8$  Hz, H-3), 2.98 (td, 1H,  $J = 10.7, 4.4$  Hz, H-19), 2.26-2.20 (m, 2H, H-16a, H-13), 1.66 (s, 3H, H-30), 1.23 (d, 3H,  $J = 6.3$  Hz, H-6'), 0.95 (s, 3H, H-23), 0.91 (s, 6H, H-27, H-24), 0.81 (s, 3H, H-25), 0.73 (s, 3H, H-26), 0.68 (d, 1H,  $J = 10.2$  Hz, H-5), 1.94-0.85 (m, 26 H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>:CD<sub>3</sub>OD 1:1, 101 MHz):  $\delta$  179.57, 158.20, 151.21, 109.84, 100.79, 89.91, 74.00, 73.59, 70.21, 68.97, 56.78, 56.08, 51.09, 49.76, 47.59, 42.95, 41.22, 39.50, 39.20, 38.86, 37.62, 37.43, 34.84, 32.79, 31.09, 30.17, 28.34, 26.08, 26.03, 21.43, 19.54, 18.73, 17.61, 16.47, 16.27, 15.00.

### 3.5 Synthesis of protecting group 2-(azidomethyl) benzoic acid (AZMBOH) (**10**)



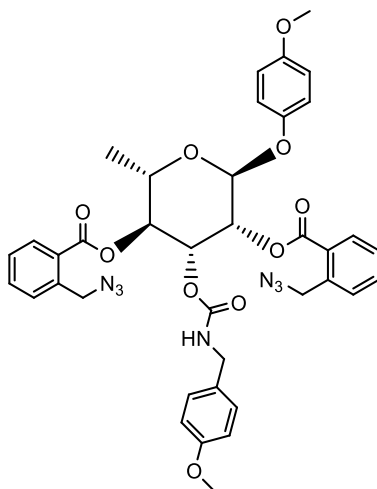
Chemical Formula: C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>

Molecular Weight: 177,16 g/mol

A mixture of methyl 2-(bromomethyl) benzoate (2.3 g, 10 mmol), anhydrous ethanol (50 mL) and NaN<sub>3</sub> (975 mg, 15 mmol) was stirred 18 h at room temperature. Then, the reaction was diluted with ethyl acetate (250 mL), washed with H<sub>2</sub>O (2 X 250 mL) and saturated aqueous solution of NaCl (250 mL). The organic layer was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and solvent was rotary evaporated. Then, the crude residue was dissolved with methanol (25 mL) and NaOH 2N (25 mL) was added at 0 °C. The mixture was stirred vigorously 1 h at room temperature. Afterwards, HCl 1N was added until the solution reached a pH of 1. Then, the aqueous phase was extracted with dichloromethane (4 X 75 mL). The organic layer was finally dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and solvent was rotary evaporated to afford the compound **10** as a white powder (1.7 g, 93% on two steps). *R<sub>f</sub>*=0.55 (hexane/ethyl acetate 7:3); <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ 8.02 (dd, 1H, *J* = 12.2, 6.1 Hz), 7.57 (td, 1H, *J* = 7.6, 1.4 Hz), 7.48 (d, 1H), 7.44 (td, 1H, *J* = 7.7, 1.3 Hz), 4.79 (s, 2H). <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 101 MHz): δ 169.92, 138.48, 133.60, 132.34, 131.35, 131.02, 129.28, 53.91. NMR data were consistent with literature description (Huang et Xi 2012).

### 3.6 Synthesis of the donor of carbamate-bearing rhamnoside protected with AZMB **12**

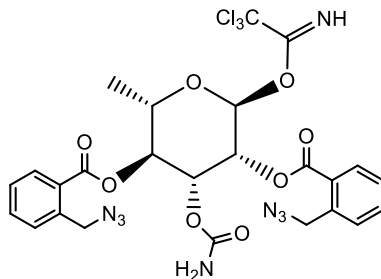
#### 3.6.1 (2S,3R,4R,5S,6S)-4-(((4-methoxybenzyl)carbamoyl)oxy)-2-(4-methoxyphenoxy)-6-methyltetrahydro-2H-pyran-3,5-diyl bis(2-(azidomethyl)benzoate) (**11**)



Chemical Formula: C<sub>38</sub>H<sub>37</sub>N<sub>7</sub>O<sub>10</sub>  
Molecular Weight: 751,74 g/mol

To a mixture of **4** (520 mg, 1.2 mmol), AZMBOH (**10**) (637 mg, 3.6 mmol) and dichloromethane (7.2 mL) was added DMAP (572 mg, 4.7 mmol), DIPEA (1.7 mL, 9.9 mmol) and EDCI (1.1 g, 5.9 mmol). The reaction was stirred 3 h at room temperature. Then, the mixture was diluted with ethyl acetate (50 mL) and washed with a saturated solution of NaHCO<sub>3</sub> (50 mL), water (50 mL) and a saturated aqueous solution of NaCl (50 mL). The organic layer was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and solvent was rotary evaporated. This afforded the compound **11** as a translucent oil (693 mg, 77%):  $R_f=0.77$  (hexane/ethyl acetate 1:1);  $[\alpha]_D^{20} +23.9$  ( $c$  0.1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); HRMS (ESI)  $m/z$  calcd for C<sub>38</sub>H<sub>38</sub>N<sub>7</sub>O<sub>10</sub> [M + H]<sup>+</sup> (pending); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  8.14 (d, 1H,  $J = 7.7$  Hz, ArH), 8.04 (d, 1H, 7.8 Hz, ArH), 7.60 (m, 2H, ArH), 7.51 (m, 3H, ArH), 7.42 (t, 1H,  $J = 7.5$  Hz, ArH), 7.08 (d, 2H,  $J = 9.0$  Hz, ArH), 7.01 (d, 2H,  $J = 8.4$  Hz, ArH), 6.86 (d, 2H,  $J = 8.9$  Hz, ArH), 6.68 (d, 2H,  $J = 8.4$  Hz, ArH), 5.80 (dd, 1H,  $J = 10.0, 3.2$  Hz, H-3), 5.77 (br s, 1H, H-2), 5.57 (br s, 1H, H-1), 5.51 (t, 1H,  $J = 9.9$  Hz, H-4), 5.15 (t, 1H,  $J = 5.8$  Hz, NH), 4.86-4.74 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-N<sub>3</sub>), 4.26 (m, 1H, H-5), 4.20 (d, 2H,  $J = 5.8$  Hz, ArCH<sub>2</sub>), 3.78 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.74 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 1.32 (d, 3H,  $J = 6.1$  Hz, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz):  $\delta$  165.83, 165.71, 158.98, 155.33, 155.19, 150.15, 137.70, 137.47, 133.38, 133.26, 131.73, 131.44, 130.23, 130.09, 130.06, 128.79, 128.65, 128.53, 128.25, 128.10, 117.75, 114.79, 113.96, 96.58, 72.27, 71.40, 69.73, 67.30, 55.76, 55.32, 53.11, 53.05, 44.61, 17.73.

**3.6.2 (2S,3S,4R,5R,6S)-4-(carbamoyloxy)-2-methyl-6-(2,2,2-trichloro-1-iminoethoxy)tetrahydro-2H-pyran-3,5-diyl bis(2-(azidomethyl)benzoate) (**12**)**



Chemical Formula: C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>8</sub>O<sub>8</sub>

Molecular Weight: 669,86 g/mol

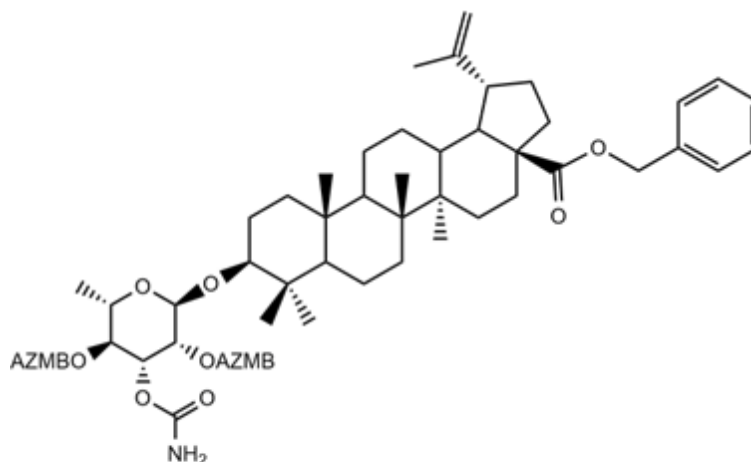
This compound was obtained after two steps (the deprotection of anomeric position and carbamate, then the synthesis of the trichloroacetimidate). First, to a solution of **11** (672 mg, 0.89 mmol) and toluene (5.3 mL) was added a mixture of ACN (4.2 mL) and water (2.8 mL). Then, CAN (2.9 g, 5.4 mmol) was added to the cooled mixture (ice-water bath) and reaction was stirred 3,5 h at room temperature. The solution was diluted with ethyl acetate (50 mL), washed with water (40 mL), a saturated solution of NaHCO<sub>3</sub> (40 mL) and a saturated aqueous solution of NaCl (40 mL). The organic layer was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and solvent was rotary evaporated. The crude residue was purified by flash chromatography over silica gel using a gradient of ethyl acetate (from 0% to 40%) in hexane as the mobile phase. As the product obtained was not perfectly pure, the next step was engaged on this residue without further purification.

This crude intermediate was solubilized with dichloromethane (4.6 mL), then trichloroacetonitrile (114 μL, 1.1 mmol) and Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (18.5 mg, 0.06 mmol) were added. The mixture was stirred 4 h at room temperature. The reaction was quenched with NH<sub>4</sub>Cl (10 mL) and the organic phase was extracted with dichloromethane (3 X 10 mL). The organic layer was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and solvent was rotary evaporated. The crude residue was purified with a low-pressure liquid chromatographic system (B chi) and silica gel using a gradient of ethyl acetate (from 0% to 35% in 30 minutes, debit of 30 mL/min) in hexane as the mobile phase to afford the compound **12** as a white-off foam (208 mg, 35% on two steps): *R*<sub>f</sub>=0.67 (hexane/ethyl acetate 1:1); [α]<sup>20</sup><sub>D</sub>+22.2 (*c* 0.1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); HRMS (ESI) *m/z* calcd for C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>8</sub>O<sub>8</sub> [M + H]<sup>+</sup> (pending); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 8.81 (s, 1H, NH), 8.13 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz, ArH), 8.00 (d, 1H, *J* = 7.6 Hz, ArH), 7.62 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz, ArH), 7.46-7.57 (m, 4H, ArH), 7.42 (t, 1H, *J* = 7.6 Hz, ArH), 6.42 (br s, 1H, H-1), 5.78 (dd, 1H, *J* = 2.7, 2.1 Hz, H-2), 5.59 (dd, 1H, *J* = 10.2, 3.2 Hz, H-3), 5.54 (t, 1H, *J* = 9.8 Hz, H-4), 4.89-4.76 (m, 6H, NH<sub>2</sub>, 2CH<sub>2</sub>), 4.30 (m, 1H, H-5), 1.37 (d, 3H, *J* = 6.2 Hz, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz): δ 165.73, 165.41, 160.08, 155.28, 137.51, 137.50, 133.47, 133.25, 131.67, 131.21, 130.26, 130.20, 128.64, 128.52, 128.10, 127.94, 94.65, 90.73, 71.39, 69.77, 69.62, 69.52, 53.06, 52.96, 17.72.



### 3.7 Synthesis of the betulinic acid 3-*O*-carbamoylrhamnoside **14**

#### 3.7.1 (2R,3R,4R,5S,6S)-2-(((1R,3aS,5aR,5bR,9S,11aR)-3a-((benzyloxy)carbonyl)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-cyclopenta[*a*]chrysen-9-yl)oxy)-4-(carbamoyloxy)-6-methyltetrahydro-2H-pyran-3,5-diyl bis(2-(azidomethyl)benzoate) (**13**)



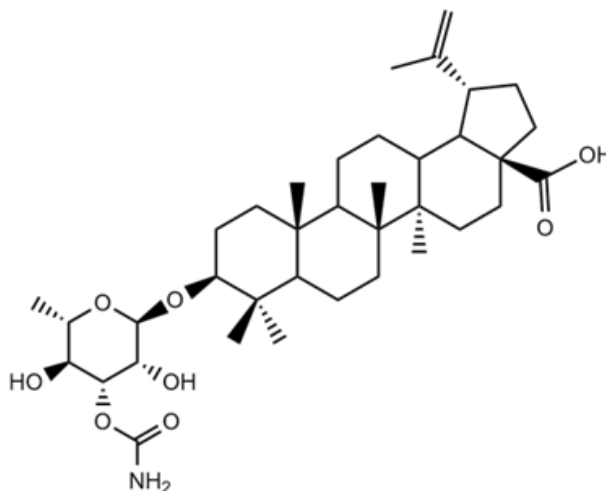
Chemical Formula: C<sub>60</sub>H<sub>75</sub>N<sub>7</sub>O<sub>10</sub>

Molecular Weight: 1054.28 g/mol

A mixture of benzyl betulinate (65 mg, 0.12 mmol), donor **12** (100 mg, 0.15 mmol), 4 Å molecular sieves and dichloromethane (4 mL) was stirred 1 h at room temperature. Then, TMSOTf (4.3 μL, 0.02 mmol) was added to the cooled solution (ice-bath water at 10 °C). The reaction was stirred 1.5 h at room temperature and controlled by TLC. Then, mixture was quenched with Et<sub>3</sub>N (6 μL), filtered and solvent was rotary evaporated. The crude residue was purified with a low-pressure liquid chromatographic system (B chi) and silica gel using a gradient of ethyl acetate (from 0% to 40% in 40 minutes, debit of 28 mL/min) in hexane as the mobile phase to afford the compound **13** as a white powder (70.5 mg, 59%): *R<sub>f</sub>*=0.32 (hexane/ethyl acetate 7:3); [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>+43.3 (*c* 0.05, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); HRMS (ESI) *m/z* calcd for C<sub>60</sub>H<sub>76</sub>N<sub>7</sub>O<sub>10</sub> [M + H]<sup>+</sup> (pending); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 8.13 (d, 1H, *J* = 7.3 Hz, *ArH*), 8.02 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz, *ArH*), 7.62-7.47 (m, 5H, *ArH*), 7.43-7.34 (m, 6H, *ArH*), 5.53 (m, 2H, H-2', H-3'), 5.43 (t, 1H, *J* = 9.6 Hz, H-4'), 5.12 (dd, 2H, *J* = 25.4, 12.3 Hz, CH<sub>2</sub>-Bn), 5.01 (s, 1H, H-1'), 4.90-4.72 (m, 7H, NH<sub>2</sub>, 2x CH<sub>2</sub>-N<sub>3</sub>, H-29a), 4.59 (br s, 1H, H-29b), 4.22 (m, 1H, H-5'), 3.16 (t, 1H, *J* = 7.8 Hz, H-3), 3.02 (td, 1H, *J* = 11.3, 4.9 Hz, H-19), 2.28 (d, 1H, *J* = 11.7 Hz, H-16a), 2.18 (t, 1H, *J* = 12.5 Hz, H-13), 1.67 (s, 3H, H-30), 1.30 (d, 3H, *J* = 5.8 Hz, H-6'), 1.00 (s, 3H, H-23), 0.94 (s, 3H, H-27), 0.86 (s, 3H, H-24), 0.83 (s, 3H, H-25), 0.76 (s, 3H, H-26), 0.68 (d, 1H, *J* = 6.4 Hz, H-5), 1.93-1.08 (m, 21 H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz): δ 175.89, 165.92, 165.89, 155.46, 150.67, 137.50, 137.29, 136.56, 133.23, 133.13, 131.69, 131.25, 130.15, 130.07, 128.58, 128.49, 128.35, 128.16, 109.69, 99.69, 90.18, 72.41, 71.76, 70.20, 66.64, 65.81, 56.61, 55.58, 53.11, 52.99, 50.57, 49.51, 47.01,

42.45, 40.73, 39.20, 38.73, 38.24, 36.99, 34.33, 32.18, 30.64, 29.63, 28.28, 25.67, 25.59, 20.97, 19.44, 18.33, 17.57, 16.44, 16.26, 15.90, 14.74.

**3.7.2 (1R,3aS,5aR,5bR,9S,11aR)-9-(((2S,3R,4R,5S)-4-(carbamoyloxy)-3,5-dihydroxytetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-cyclopenta[a]chrysene-3a-carboxylic acid (**14**)**

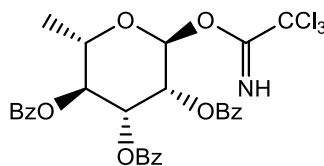


Chemical Formula: C<sub>36</sub>H<sub>57</sub>NO<sub>8</sub>  
Molecular Weight: 631.84 g/mol

Compound **13** (70 mg, 0.07 mmol) was solubilized with dioxane (3.3 mL), then methanol (6.5 mL), ammonium formate (50.2 mg, 0.8 mmol) and Pd/C (14 mg, 0.007 mmol) were added. The mixture was stirred 2 h at 65 °C, then passed through a bed of silica conditioned with dichloromethane. The silica was washed several times with a solution of dichloromethane/methanol 75:25. The filtrate was then rotary evaporated. The crude residue was purified by flash chromatography over silica gel using a gradient of methanol (from 0% to 10%) in dichloromethane as the mobile phase to afford compound **14** as a white-off powder (23 mg, 54%):  $R_f=0.24$  (dichloromethane/methanol 9:1);  $[\alpha]_D^{20}-25.6$  ( $c$  0.04, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 1:1); HRMS (ESI)  $m/z$  calcd for C<sub>36</sub>H<sub>58</sub>NO<sub>8</sub> [M + H]<sup>+</sup> (pending); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>:CD<sub>3</sub>OD 1:1, 400 MHz):  $\delta$  4.81 (dd, 1H,  $J=9.9, 3.1$  Hz, H-3'), 4.72 (br s, 1H, H-1'), 4.69 (br s, 1H, H-29a), 4.56 (br s, 1H, H-29b), 4.00 (br s, 1H, H-2'), 3.80 (m, 1H, H-5'), 3.52 (t, 1H,  $J=9.7$  Hz, H-4'), 3.05 (dd, 1H,  $J=11.4, 4.7$  Hz, H-3), 2.99 (m, 1H, H-19), 2.23 (m, 2H, H-16a, H-13), 1.66 (s, 3H, H-30), 1.26 (d, 3H  $J=6.3$  Hz, H-6'), 0.96 (s, 3H, H-23), 0.92 (s, 3H, H-27), 0.89 (s, 3H, H-24), 0.82 (s, 3H, H-25), 0.75 (s, 3H, H-26), 0.68 (d, 1H  $J=9.7$  Hz, H-5), 1.91-1.00 (m, 24 H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>:CD<sub>3</sub>OD 1:1, 101 MHz):  $\delta$  179.70, 158.76, 151.28, 109.89, 103.34, 90.01, 75.63, 71.19, 70.09, 69.35, 56.19, 51.22, 47.69, 43.03, 41.31, 39.63, 39.32, 38.96, 37.53, 34.94, 32.88, 31.17, 30.25, 28.41, 26.17, 26.12, 21.51, 19.56, 18.83, 17.64, 16.55, 16.48, 16.33, 15.04.

### 3.8 Synthesis of the rhamnoside donor **15**

#### 3.8.1 (2S,3S,4R,5R,6S)-2-methyl-6-(2,2,2-trichloro-1-iminoethoxy)tetrahydro-2H-pyran-3,4,5-triyl tribenzoate (**15**)



Chemical Formula: C<sub>29</sub>H<sub>24</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>8</sub>

Molecular Weight: 620,86 g/mol

Compound **15** was obtained after four steps. First, benzoyl chloride (3.6 mL, 30.74 mmol) was slowly added to a cooled solution (ice-water bath) of L-rhamnose (700 mg, 3.84 mmol) in anhydrous pyridine (5.4 mL) with DMAP (4-dimethylaminopyridine) (46.95 mg, 0.38 mmol). The mixture was stirred overnight at room temperature and then quenched with methanol (10 mL), then stirred again for 15 minutes. Afterwards, the mixture was diluted with dichloromethane (100 mL), washed with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3N (3 X 30 mL), saturated solution of NaHCO<sub>3</sub> (3 X 20 mL) and saturated aqueous solution of NaCl (3 X 20 mL). The organic layer was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and solvent was rotary evaporated.

This afforded crude perbenzoylated rhamnose was then directly engaged in the next step for bromination of anomeric position. A mixture of the crude residue and HBr 33% in AcOH (3.51 mL, 19.38 mmol) was stirred 4 h at room temperature and controlled by TLC. The mixture was diluted with dichloromethane (40 mL), washed with a saturated solution of NaHCO<sub>3</sub> (4 X 20 mL) and a saturated aqueous solution of NaCl (3 X 20 mL). The organic layer was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and solvent was rotary evaporated.

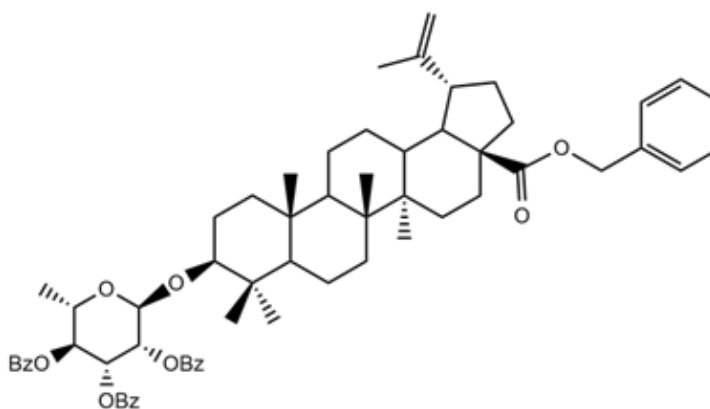
This residue was then directly engaged in the next step for basic hydrolysis. A mixture this crude residue, acetone (10.5 mL), water (0.42 mL) and Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2.13 g, 7.73 mmol) was stirred 4 h at room temperature in the shade (flask covered with aluminum paper). Thereafter, the mixture was filtered through a bed of Celite. The solvents of the filtrate were then rotary evaporated. The crude residue was purified by flash chromatography over silica gel using a gradient of ethyl acetate (from 0% to 40%) in hexane as the mobile phase.

This product (1.3 g; 2.71 mmol) was then dissolved in dichloromethane (20 mL). Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (88.3 mg; 0.27 mmol) was added, followed by CCl<sub>3</sub>CN (0.54 mL; 5.43 mmol). Reaction was stirred 4 h at room temperature. Then, mixture was quenched with NH<sub>4</sub>Cl (15 mL) and washed with dichloromethane (3 X 15 mL). The organic layer was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and solvent was rotary evaporated. The crude residue was purified by flash chromatography over silica gel using a gradient of ethyl acetate (from 0% to 20%) in hexane as the mobile phase to afford the compound **15** as a white solid (1.57 g, 66% on four steps): *R*<sub>f</sub>=0.61 (hexane/ethyl acetate 7:3); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 8.82 (s, 1H), 8.11 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz), 7.99 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz), 7.82 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz), 7.63 (t, 1H, *J* = 7.4 Hz), 7.51 (m, 3H), 7.41 (m, 3H), 7.27 (t, 2H, *J* = 7.8 Hz), 6.49 (s, 1H), 5.9 (m, 2H), 5.78 (t, 1H, *J* = 9.9

Hz), 4.40 (m, 1H), 1.42 (d, 3H,  $J = 6.2$  Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta$  165.82, 165.62, 165.42, 160.19, 133.83, 133.61, 133.39, 130.14, 129.92, 129.83, 129.16, 129.13, 129.06, 128.79, 128.60, 128.47, 94.87, 90.88, 71.12, 69.79, 69.27, 17.89.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra data were consistent with literature (Ziegler *et al.* 1998).

### 3.9 Synthesis of 3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl betulinic acid **17**

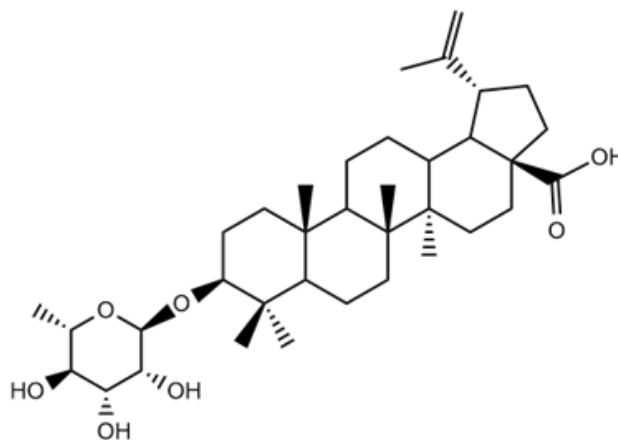
#### 3.9.1 (2R,3R,4R,5S,6S)-2-(((1R,3aS,5aR,5bR,9S,11aR)-3a-((benzyloxy)carbonyl)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-cyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)-6-methyltetrahydro-2H-pyran-3,4,5-triyl tribenzoate (**16**)



Chemical Formula:  $\text{C}_{64}\text{H}_{76}\text{O}_{10}$   
Molecular Weight: 1005,28 g/mol

A mixture of benzyl betulinate (71 mg, 0.13 mmol), donor **15** (100 mg, 0.16 mmol), 4 Å molecular sieves and dichloromethane (4.5 mL) was stirred 30 minutes at room temperature. Then, TMSOTf (2.3  $\mu\text{L}$ , 0.013 mmol) was added to the cooled solution (ice-water bath at 10  $^{\circ}\text{C}$ ). The reaction was stirred 3.5 h at room temperature and controlled by TLC. Then, mixture was quenched with  $\text{Et}_3\text{N}$  (4  $\mu\text{L}$ ), filtered and solvent was rotary evaporated. The crude residue was purified by flash chromatography over silica gel using a gradient of ethyl acetate (from 0% to 20%) in hexane as the mobile phase to afford the compound **16** as a translucent oil (61 mg, 47%):  $R_f=0.71$  (hexane/ethyl acetate 8:2);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  8.11 (d, 2H), 7.99 (d, 2H), 7.84 (d, 2H), 7.61 (t, 1H), 7.49 (m, 3H), 7.32-7.44 (m, 8H), 7.26 (t, 2H), 5.83 (dd, 1H), 5.68 (t, 1H), 5.65 (d, 1H), 5.15 (d, 1H), 5.11 (d, 1H), 5.08 (br s, 1H), 4.74 (br s, 1H), 4.60 (br s, 1H), 4.31 (m, 1H), 3.20 (t, 1H), 3.03 (td, 1H), 2.30 (br d, 1H), 2.20 (td, 1H), 1.68 (s, 3H), 1.34 (d, 3H), 1.04 (s, 3H), 0.95 (s, 3H), 0.93 (s, 3H), 0.87 (s, 3H), 0.78 (s, 3H), 0.70 (br d, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta$  175.93, 165.97, 165.82, 165.71, 150.71, 133.40, 130.01, 129.86, 129.79, 129.46, 128.68, 128.61, 128.52, 128.38, 128.19, 109.72, 99.85, 90.17, 72.08, 71.33, 70.31, 66.87, 65.85, 56.65, 55.64, 50.61, 49.55, 47.05, 42.50, 40.78, 39.26, 38.29, 37.05, 32.21, 28.36, 25.63, 21.03, 19.47, 17.69, 16.51, 16.31, 15.94, 14.79. NMR data were consistent with literature description (Sylla *et al.* 2019).

**3.9.2 (1R,3aS,5aR,5bR,9S,11aR)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(prop-1-en-2-yl)-9-(((2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyltetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)icosahydro-1H-cyclopenta[a]chrysene-3a-carboxylic acid (**17**)**



Chemical Formula: C<sub>36</sub>H<sub>58</sub>O<sub>7</sub>  
Molecular Weight: 602.84 g/mol

Compound **17** was obtained after two steps. First, a mixture of compound **16** (61 mg, 0.06 mmol), ethyl acetate (13 mL) and Pd/C (13 mg, 0.006 mmol) was put under H<sub>2</sub> atmosphere. Then, H<sub>2</sub> was bubbled in the solvent at 0 °C (ice-water bath) for 15 minutes. Afterwards, mixture was stirred 3 h at reflux and followed by TLC. Thereafter, the mixture was filtered through a bed of Celite and rinsed with ethyl acetate. The filtrate was then rotary evaporated.

A freshly prepared solution of NaOMe 0.3 M (3.7 mg, 0.16 mmol of sodium in 0.5 mL of methanol) was added to a cooled mixture (ice-water bath) of the crude 3-*O*-(2,3,4-Tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -rhamnopyranosyl) betulinic acid obtained to the last step, dichloromethane (1 mL) and methanol (0.5 mL). The mixture was stirred 5 h at room temperature and controlled by TLC, then the reaction was neutralized to pH 7 with Amberlite resin and filtrated. The filtrate was rotary evaporated and the crude residue was purified with a low-pressure liquid chromatographic system (B chi) and silica gel using a gradient of methanol (from 0% to 10% in 30 minutes, debit of 20 mL/min) in dichloromethane as the mobile phase. This purification was followed by reversed-phase flash chromatography (1 g SPE cartridge) using a gradient of methanol (from 50% to 90%) in water as the mobile phase to afford the compound **17** as a white powder (8 mg, 22% on two steps):  $R_f$ =0.24 (hexane/ethyl acetate 3:7); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>:CD<sub>3</sub>OD 1:1, 400 MHz):  $\delta$  4.72 (br s, 1H), 4.69 (br s, 1H), 4.56 (br s, 1H), 3.84 (m, 1H), 3.71 (m, 1H), 3.66 (dd, 1H), 3.35 (t, 1H), 3.05 (dd, 1H), 2.98 (m, 1H), 1.66 (s, 3H), 1.23 (d, 3H), 0.96 (s, 3H), 0.92 (s, 3H), 0.89 (s, 3H), 0.81 (s, 3H), 0.72 (s, 3H), 2.3-0.67 (m, 28 H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>:CD<sub>3</sub>OD 1:1, 101 MHz):  $\delta$  151.28, 109.88, 103.44, 89.87, 73.56, 72.02, 71.68, 68.98, 56.17, 51.21, 49.63, 47.68, 43.02, 41.30, 39.61, 39.31, 38.95, 37.52, 34.93, 28.41, 26.17, 26.12, 19.56, 18.83, 17.57, 16.53, 16.50, 16.33, 15.04. NMR data were consistent with literature description (Gauthier *et al.* 2006).

## RÉFÉRENCES

- Alsarrafi J, Petitpoisson L et Pichette A. 2021. Catalytic Site-Selective Carbamoylation of Pyranosides. *Org Lett.* 23 : 6052-6056.
- Bansagi J, Wilson-Konderka C, Debrauwer V, Narayanan P et Batey RA. 2022. N-Alkyl Carbamoylimidazoles as Isocyanate Equivalents: Exploration of the Reaction Scope for the Synthesis of Ureas, Hydantoins, Carbamates, Thiocarbamates, and Oxazolidinones. *J. Org. Chem.* 87 : 11329-11349.
- Bhattacharya C, Yu Z, Rishel MJ et Hecht SM. 2014. The Carbamoylmannose Moiety of Bleomycin Mediates Selective Tumor Cell Targeting. *Biochemistry.* 53 : 3264-3266.
- Boger DL et Honda T. 1994. Total Synthesis of Bleomycin A<sub>2</sub> and Related Agents. 4. Synthesis of the Disaccharide Subunit 2-O-(3-O-Carbamoyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyl)-L-gulopyranose and Completion of the Total Synthesis of Bleomycin A<sub>2</sub>. *J. Am. Chem. Soc.* 116 : 5647-5656.
- Boger DL et Cai H. 1999. Bleomycin: Synthetic and Mechanistic Studies. *Angew. Chem., Int. Ed.* 38 : 448-476.
- Brenner DR, Poirier A, Woods RR, Ellison LF, Billette JM, Demers AA, Zhang SX, Yao C, Finley C, Fitzgerald N, Saint-Jacques N, Shack L, Turner D et Holmes E. 2022. Projected estimates of cancer in Canada in 2022. *Can. Med. Assoc. J.* 194 : E601-e607.
- Burlison JA, Neckers L, Smith AB, Maxwell A et Blagg BSJ. 2006. Novobiocin: Redesigning a DNA Gyrase Inhibitor for Selective Inhibition of Hsp90. *J. Am. Chem. Soc.* 128 : 15529-15536.
- Canada PHA. 2018. Cancer in Canada. Public Health Agency of Canada, [Ottawa].
- Chan L et Taylor MS. 2011. Regioselective alkylation of carbohydrate derivatives catalyzed by a diarylborinic acid derivative. *Org Lett.* 13 : 3090-3093.
- Chapuis JC, Schmaltz RM, Tsosie KS, Belohlavek M et Hecht SM. 2009. Carbohydrate dependent targeting of cancer cells by bleomycin-microbubble conjugates. *J. Am. Chem. Soc.* 131 : 2438-2439.
- Chidambaram M, Manavalan R et Kathiresan K. 2011. Nanotherapeutics to Overcome Conventional Cancer Chemotherapy Limitations. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 14 : 67-77.
- Compton C. 2020a. The Nature and Origins of Cancer. Dans : Compton C éd. Cancer: The Enemy from Within: A Comprehensive Textbook of Cancer's Causes, Complexities and Consequences. Springer International Publishing, Cham, p. 1-23.

Compton C. 2020b. Cancer Initiation, Promotion, and Progression and the Acquisition of Key Behavioral Traits. Dans : Compton C éd. *Cancer: The Enemy from Within: A Comprehensive Textbook of Cancer's Causes, Complexities and Consequences*. Springer International Publishing, Cham, p. 25-48.

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

Dagenais GR, Leong DP, Rangarajan S, Lanas F, Lopez-Jaramillo P, Gupta R, Diaz R, Avezum A, Oliveira GBF, Wielgosz A, Parambath SR, Mony P, Alhabib KF, Temizhan A, Ismail N, Chifamba J, Yeates K, Khatib R, Rahman O, Zatonska K, Kazmi K, Wei L, Zhu J, Rosengren A, Vijayakumar K, Kaur M, Mohan V, Yusufali A, Kelishadi R, Teo KK, Joseph P et Yusuf S. 2020. Variations in common diseases, hospital admissions, and deaths in middle-aged adults in 21 countries from five continents (PURE): a prospective cohort study. *Lancet (London, England)*, 395 : 785-794.

Das R et Mukhopadhyay B. 2016. Chemical *O*-Glycosylations: An Overview. *ChemistryOpen*, 5 : 401-433.

Deng S, Yu B, Lou Y et Hui Y. 1999. First Total Synthesis of an Exceptionally Potent Antitumor Saponin, OSW-1. *J. Org. Chem.* 64 : 202-208.

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

Dimakos V et Taylor MS. 2018. Site-Selective Functionalization of Hydroxyl Groups in Carbohydrate Derivatives. *Chem. Rev.* 118 : 11457-11517.

Donnelly A et Blagg BS. 2008. Novobiocin and additional inhibitors of the Hsp90 C-terminal nucleotide-binding pocket. *Curr. Med. Chem.* 15 : 2702-2717.

Duspara PA, Islam MS, Lough AJ et Batey RA. 2012. Synthesis and Reactivity of *N*-Alkyl Carbamoylimidazoles: Development of *N*-Methyl Carbamoylimidazole as a Methyl Isocyanate Equivalent. *J. Org. Chem.* 77 : 10362-10368.

Elferink H, Geurts K, Jue S, MacCormick S, Veeneman G et Boltje TJ. 2019. Synthesis and cellular uptake of carbamoylated mannose derivatives. *Carbohydr. Res.* 481 : 67-71.

Elsaidi HRH et Lowary TL. 2015. Effect of phenolic glycolipids from *Mycobacterium kansasii* on proinflammatory cytokine release. A structure-activity relationship study. *Chem. Sci.* 6 : 3161-3172.

Fulmer GR, Miller AJM, Sherden NH, Gottlieb HE, Nudelman A, Stoltz BM, Bercaw JE et Goldberg KI. 2010. NMR Chemical Shifts of Trace Impurities: Common Laboratory Solvents, Organics, and Gases in Deuterated Solvents Relevant to the Organometallic Chemist. *Organometallics.* 29 : 2176-2179.

- Galmarini D, Galmarini CM et Galmarini FC. 2012. Cancer chemotherapy: a critical analysis of its 60 years of history. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 84 : 181-199.
- Gauthier C. 2006. Glycosidation de triterpènes pentacycliques de type lupane et évaluation *in vitro* de leur potentiel anticancéreux. Mémoire de maîtrise, Université du Québec à Chicoutimi, Saguenay, 219 p.
- Gauthier C, Legault J, Piochon-Gauthier M et Pichette A. 2011. Advances in the synthesis and pharmacological activity of lupane-type triterpenoid saponins. *Phytochem. Rev.* 10 : 521-544.
- Gauthier C, Legault J, Lebrun M, Dufour P et Pichette A. 2006. Glycosidation of lupane-type triterpenoids as potent *in vitro* cytotoxic agents. *Bioorg. Med. Chem.* 14 : 6713-6725.
- Gauthier C, Legault J, Lavoie S, Rondeau S, Tremblay S et Pichette A. 2009. Synthesis and cytotoxicity of bidesmosidic betulin and betulinic acid saponins. *J. Nat. Prod.* 72 : 72-81.
- Guo W, Laserna V, Rintjema J et Kleij AW. 2016. Catalytic One-Pot Oxetane to Carbamate Conversions: Formal Synthesis of Drug Relevant Molecules. *Adv. Synth. Catal.* 358 : 1602-1607.
- Hastings KG, Boothroyd DB, Kappahn K, Hu J, Rehkopf DH, Cullen MR et Palaniappan L. 2018. Socioeconomic Differences in the Epidemiologic Transition From Heart Disease to Cancer as the Leading Cause of Death in the United States, 2003 to 2015: An Observational Study. *Ann. Intern. Med.* 169 : 836-844.
- Hecht SM. 2000. Bleomycin: New Perspectives on the Mechanism of Action. *J. Nat. Prod.* 63 : 158-168.
- Huang J et Xi Z. 2012. Chemical synthesis of bioactive siRNA in solution phase by using 2-(azidomethyl)benzoyl as 3'-hydroxyl group protecting group. *Tetrahedron Lett.* 53 : 3654-3657.
- Jackson SE. 2013. Hsp90: structure and function. *Top Curr Chem.* 328 : 155-240.
- Jean F-I. 1992. Analyse de produits naturels de *Taxus canadensis*. Mémoire de maîtrise, Université du Québec à Chicoutimi, Saguenay, 104 p.
- Kroemer G et Pouyssegur J. 2008. Tumor Cell Metabolism: Cancer's Achilles' Heel. *Cancer Cell.* 13 : 472-482.
- Lee D, Williamson CL, Chan L et Taylor MS. 2012. Regioselective, Borinic Acid-Catalyzed Monoacylation, Sulfonylation and Alkylation of Diols and Carbohydrates: Expansion of Substrate Scope and Mechanistic Studies. *J. Am. Chem. Soc.* 134 : 8260-8267.
- Legigan T, Clarhaut J, Tranoy-Opalinski I, Monvoisin A, Renoux B, Thomas M, Le Pape A, Lerondel S et Papot S. 2012. The First Generation of  $\beta$ -Galactosidase-Responsive Prodrugs



- Designed for the Selective Treatment of Solid Tumors in Prodrug Monotherapy. *Angew. Chem. Int. Ed.* 51 : 11606-11610.
- Liberti MV et Locasale JW. 2016. The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? *Trends Biochem. Sci.* 41 : 211-218.
- Liu H, Liao J-X, Hu Y, Tu Y-H et Sun J-S. 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. *Org. Lett.* 18 : 1294-1297.
- Liu Z, Huang P, Law S, Tian H, Leung W et Xu C. 2018. Preventive Effect of Curcumin Against Chemotherapy-Induced Side-Effects. *Front Pharmacol.* 9 : 1374.
- Love RR, Leventhal H, Easterling DV et Nerenz DR. 1989. Side effects and emotional distress during cancer chemotherapy. *Cancer.* 63 : 604-612.
- Low PS, Henne WA et Doorneweerd DD. 2008. Discovery and development of folic-acid-based receptor targeting for imaging and therapy of cancer and inflammatory diseases. *Acc. Chem. Res.* 41 : 120-129.
- Madathil MM, Bhattacharya C, Yu Z, Paul R, Rishel MJ et Hecht SM. 2014. Modified bleomycin disaccharides exhibiting improved tumor cell targeting. *Biochemistry.* 53 : 6800-6810.
- Marcu MG, Schulte TW et Neckers L. 2000. Novobiocin and related coumarins and depletion of heat shock protein 90-dependent signaling proteins. *J. Natl. Cancer Inst.* 92 : 242-248.
- McCune LM et Johns T. 2002. Antioxidant activity in medicinal plants associated with the symptoms of diabetes mellitus used by the Indigenous Peoples of the North American boreal forest. *J. Ethnopharmacol.* 82 : 197-205.
- McMillan SC. 1992. Carcinogenesis. *Semin. Oncol. Nurs.* 8 : 10-19.
- Mihoub M, Pichette A, Sylla B, Gauthier C et Legault J. 2018. Bidesmosidic betulin saponin bearing L-rhamnopyranoside moieties induces apoptosis and inhibition of lung cancer cells growth in vitro and in vivo. *PLoS one.* 13 : e0193386.
- Mukherjee R, Kumar V, Srivastava SK, Agarwal SK et Burman AC. 2006. Betulinic acid derivatives as anticancer agents: structure activity relationship. *Anticancer Agents Med. Chem.* 6 : 271-279.
- Neises B et Steglich W. 1978. Simple Method for the Esterification of Carboxylic Acids. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 17 : 522-524.
- Omran AR. 1971. The epidemiologic transition: A theory of the epidemiology of population change. *The Milbank Memorial Fund Quarterly.* 49 : 509-538.

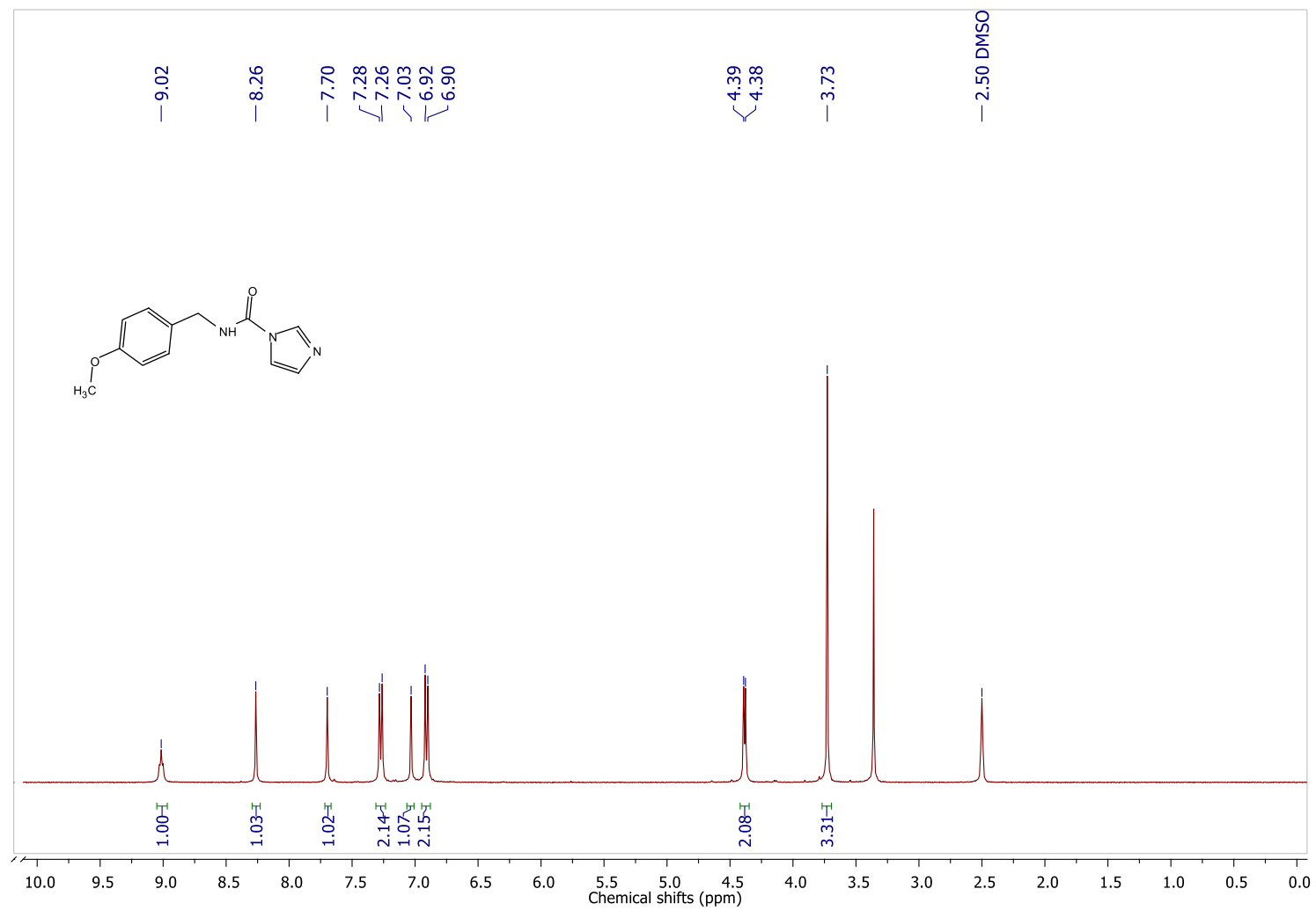
- Oshitari T, Shibasaki M, Yoshizawa T, Tomita M, Takao K-i et Kobayashi S. 1997. Synthesis of 2-O-(3-O-carbamoyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyl)-L-gulopyranose: Sugar moiety of antitumor antibiotic bleomycin. *Tetrahedron*. 53 : 10993-11006.
- Padiya KJ, Gavade S, Kardile B, Tiwari M, Bajare S, Mane M, Gaware V, Varghese S, Harel D et Kurhade S. 2012. Unprecedented "In Water" imidazole carbonylation: paradigm shift for preparation of urea and carbamate. *Org. Lett.* 14 : 2814-2817.
- Pérez-Herrero E et Fernández-Medarde A. 2015. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 93 : 52-79.
- Petitpoisson L. 2021. Développement d'une méthode de carbamoylation catalytique site-sélective en vue de la synthèse de glycosides dédiés à la chimiothérapie ciblée. Mémoire de maîtrise, Université du Québec à Chicoutimi, Saguenay, 108 p.
- Pisha E, Chai H, Lee IS, Chagwedera TE, Farnsworth NR, Cordell GA, Beecher CW, Fong HH, Kinghorn AD, Brown DM et al. 1995. Discovery of betulinic acid as a selective inhibitor of human melanoma that functions by induction of apoptosis. *Nat. Med.* 1 : 1046-1051.
- Rastogi S, Pandey MM et Kumar Singh Rawat A. 2015. Medicinal plants of the genus *Betula*-traditional uses and a phytochemical-pharmacological review. *J. Ethnopharmacol.* 159 : 62-83.
- Razungles J, Cavallès V, Jalaguier S et Teyssier C. 2013. L'effet Warburg. *Med. Sci. (Paris)*, 29 : 1026-1033.
- Roy B et Hecht SM. 2014. Hairpin DNA sequences bound strongly by bleomycin exhibit enhanced double-strand cleavage. *J. Am. Chem. Soc.* 136 : 4382-4393.
- Sarkar K, Mukherjee I et Roy N. 2003. Synthesis of the Trisaccharide Repeating Unit of the O-Antigen Related to the Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Type O26:H. *J. Carbohydr. Chem.* 22 : 95-107.
- Schmidt RR et Michel J. 1980. Facile Synthesis of  $\alpha$ - and  $\beta$ -O-Glycosyl Imidates; Preparation of Glycosides and Disaccharides. *Angew. Chem, Int. Ed. Engl.* 19 : 731-732.
- Schroeder BR, Ghare MI, Bhattacharya C, Paul R, Yu Z, Zaleski PA, Bozeman TC, Rishel MJ et Hecht SM. 2014. The disaccharide moiety of bleomycin facilitates uptake by cancer cells. *J. Am. Chem. Soc.* 136 : 13641-13656.
- Seyfried TN et Shelton LM. 2010. Cancer as a metabolic disease. *Nutr. Metab.* 7 : 7.
- Siddiqui I, Sanna V, Ahmad N, Sechi M et Mukhtar H. 2015. Resveratrol nanoformulation for cancer prevention and therapy. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1348.

- Sievers EL et Senter PD. 2013. Antibody-drug conjugates in cancer therapy. *Annu. Rev. Med.* 64 : 15-29.
- Silverstein MJ, Verma RC, Greenfield L et Morton DL. 1976. <sup>111</sup>Indium-bleomycin breast and axilla imaging. *Cancer.* 37 : 36-42.
- Sone H, Kigoshi H et Yamada K. 1996. Aurisides A and B, Cytotoxic Macrolide Glycosides from the Japanese Sea Hare *Dolabella auricularia*. *J. Org. Chem.* 61 : 8956-8960.
- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A et Bray F. 2021. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: Cancer J. Clin.* 71 : 209-249.
- Sylla B, Lavoie S, Legault J, Gauthier C et Pichette A. 2019. Synthesis, cytotoxicity and anti-inflammatory activity of rhamnose-containing ursolic and betulinic acid saponins. *RSC Advances.* 9 : 39743-39757.
- Uprety Y, Asselin H, Dhakal A et Julien N. 2012. Traditional use of medicinal plants in the boreal forest of Canada: review and perspectives. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 8 : 7.
- Wada T, Ohkubo A, Mochizuki A et Sekine M. 2001. 2-(Azidomethyl)benzoyl as a new protecting group in nucleosides. *Tetrahedron Lett.* 42 : 1069-1072.
- Wang P, Li C-X, Wang G-F et Li Y-X. 2006. Synthesis of an Ursolic Acid Saponin with *N*-Acetylglucosamine-containing Trisaccharide Residue. *Chin. J. Chem.* 24 : 1421-1426.
- Warburg O, Wind F et Negelein E. 1927. The metabolism of tumors in the body. *J. Gen. Physiol.* 8 : 519-530.
- Yu Z, Schmaltz RM, Bozeman TC, Paul R, Tsosie KS, Hecht SM et Rishel MJ. 2013. Selective tumor cell targeting by the disaccharide moiety of bleomycin. *J. Am. Chem. Soc.* 135 : 2883-2886.
- Zhao H, Moroni E, Colombo G et Blagg BS. 2014. Identification of a new scaffold for hsp90 C-terminal inhibition. *ACS Med. Chem. Lett.* 5 : 84-88.
- Ziegler T, Bien F et Jurisch C. 1998. Chemoenzymatic synthesis of enantiomerically pure alkene 1,2-diols and glycosides thereof. *Tetrahedron Asymmetry.* 9 : 765-780.

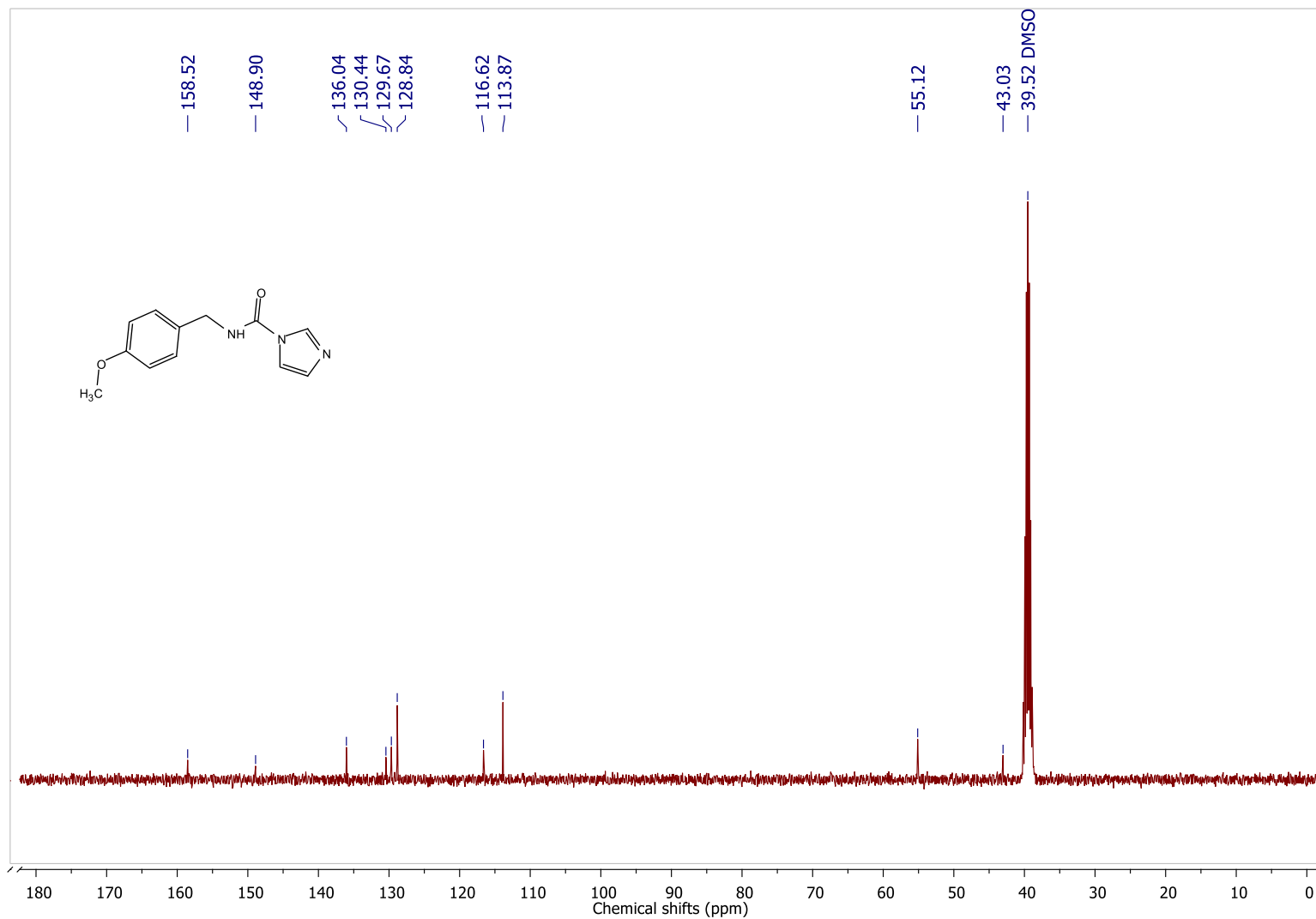
## **ANNEXES – SPECTRES RMN**

## Annexe 1: $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR Spectra of compound **1**

### 1. $^1\text{H}$ NMR spectrum of compound **1**

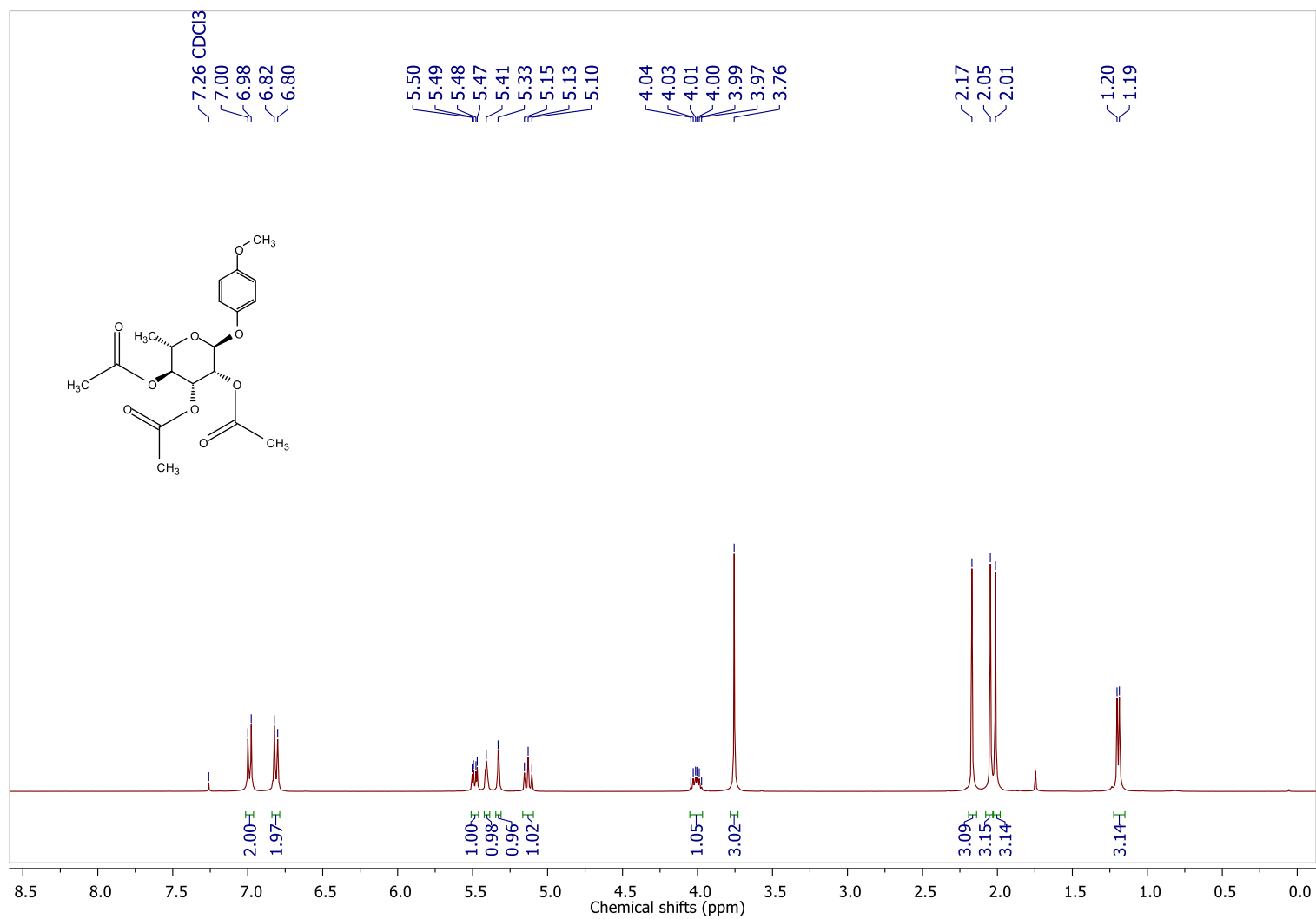


2.  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of compound 1

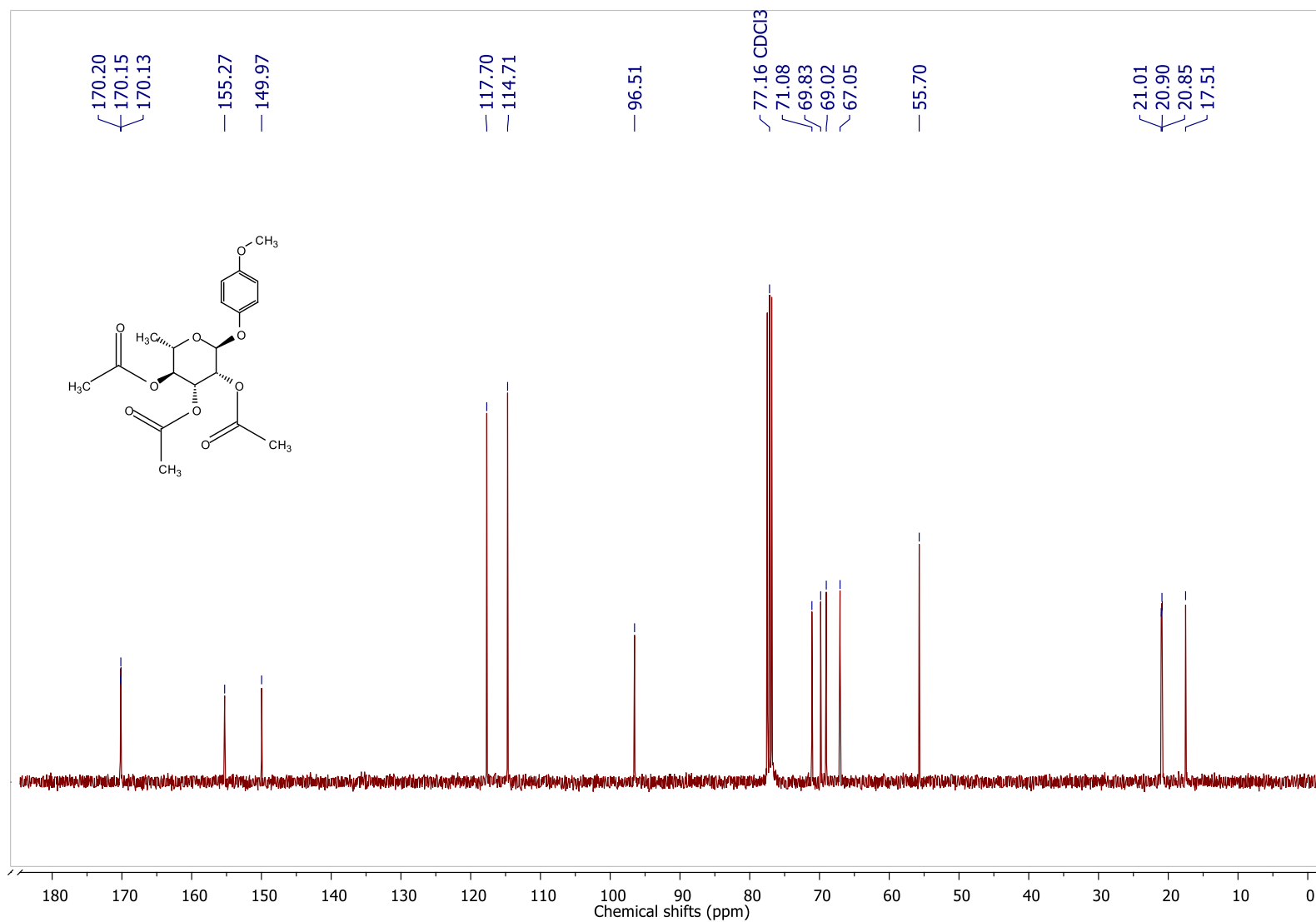


## Annexe 2: $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR Spectra of compound **2**

### 1. $^1\text{H}$ NMR spectrum of compound **2**



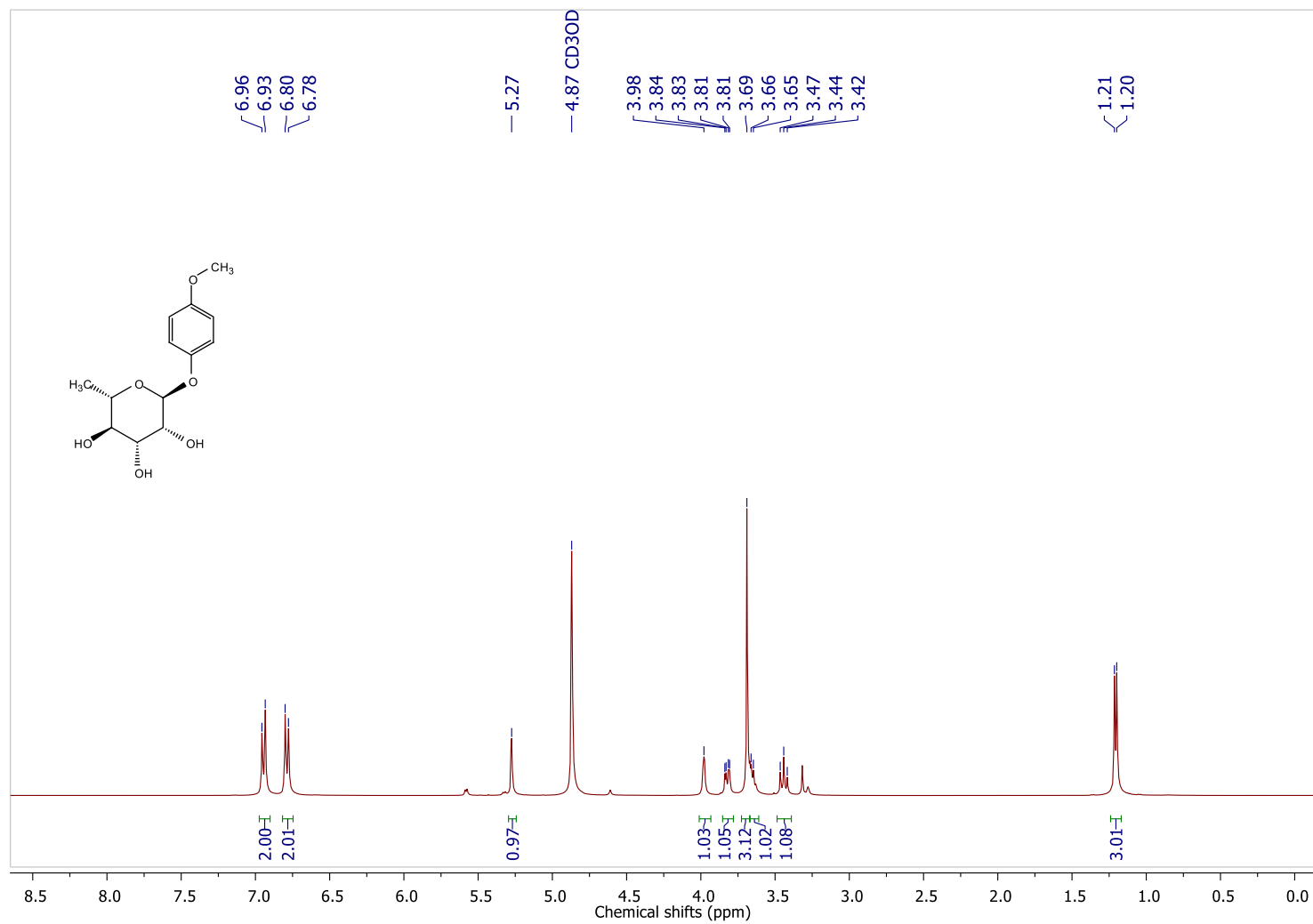
## 2. $^{13}\text{C}$ NMR spectrum of compound 2



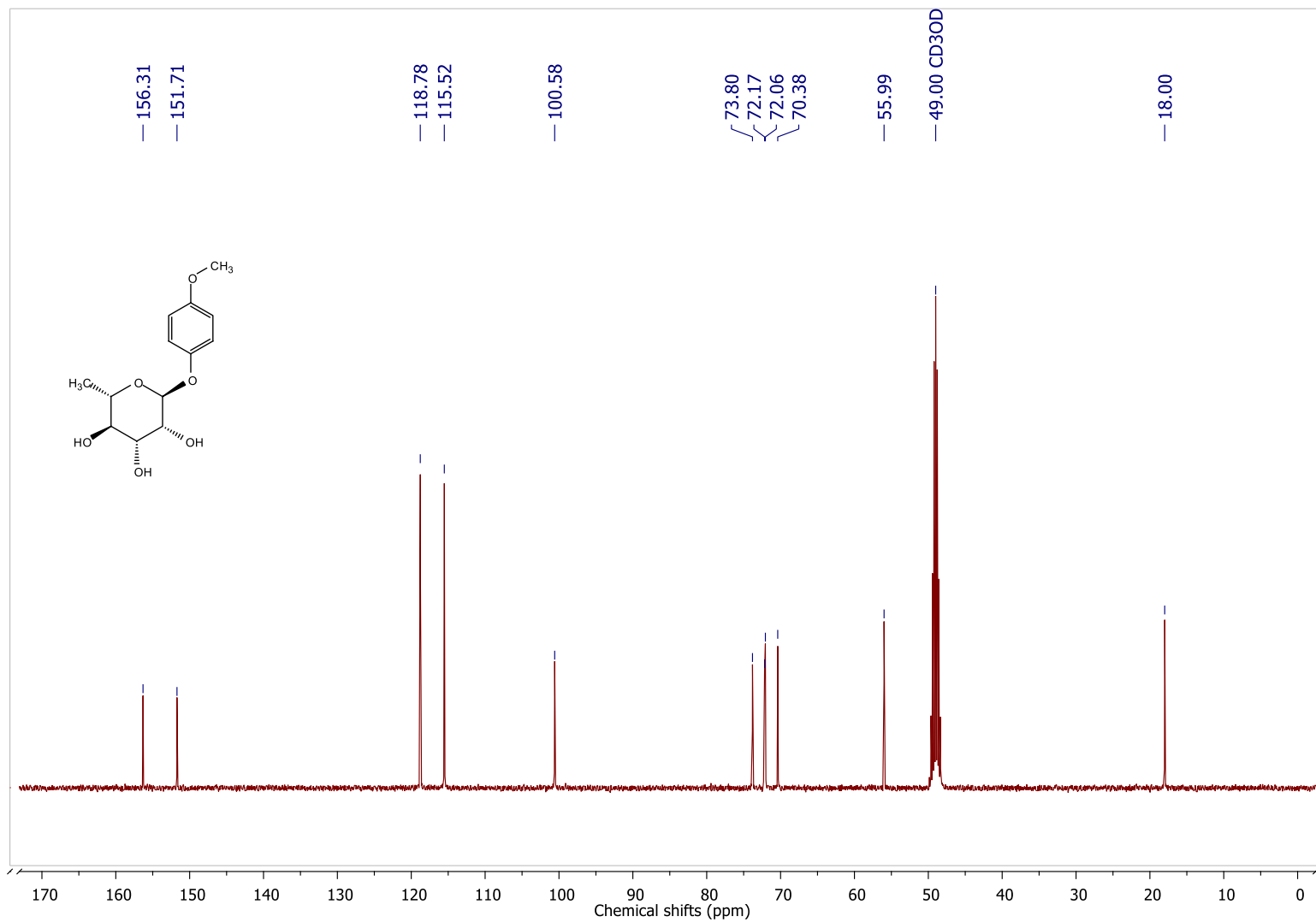


## Annexe 3: $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR Spectra of compound **3**

### 1. $^1\text{H}$ NMR spectrum of compound **3**

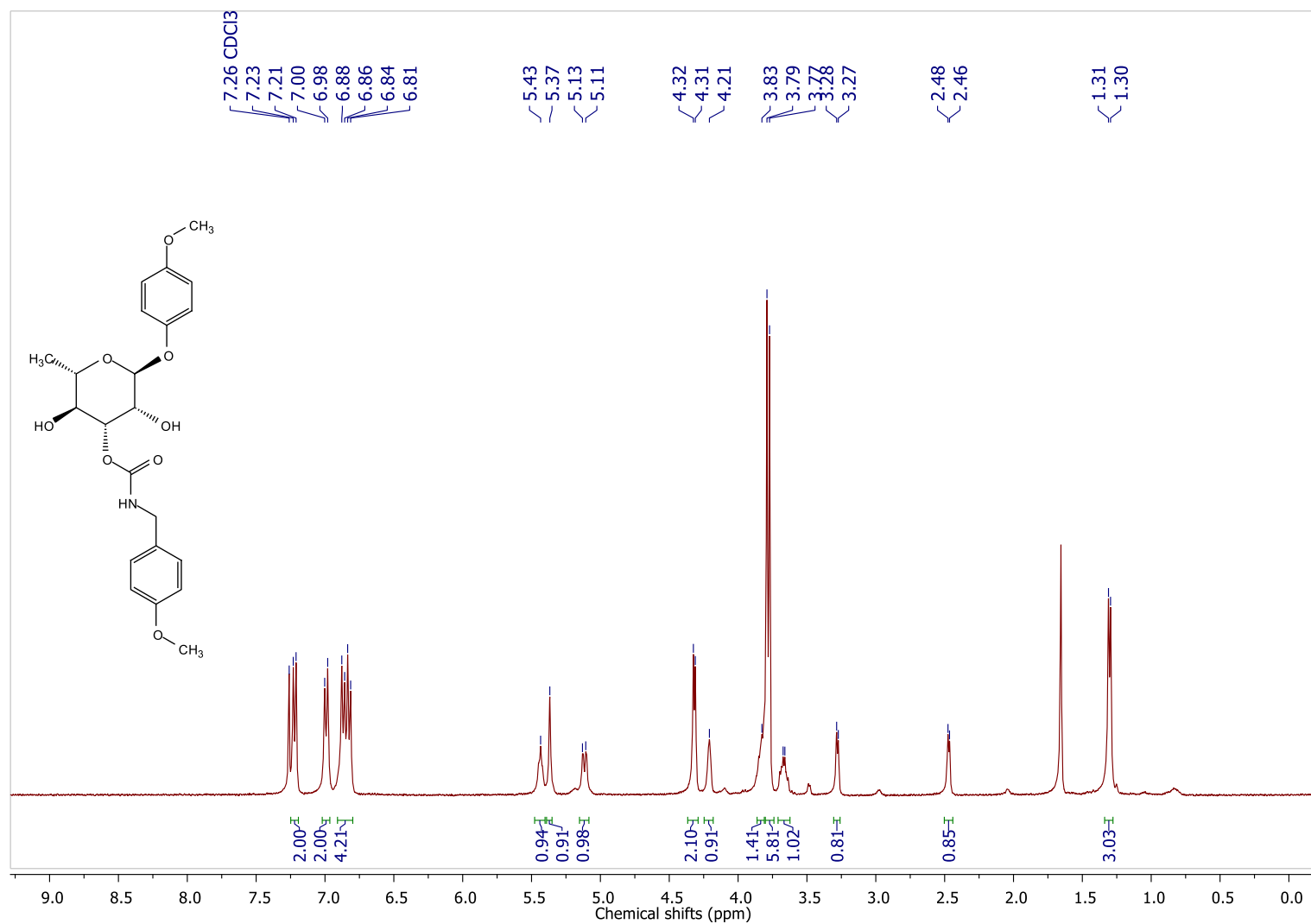


## 2. $^{13}\text{C}$ NMR spectrum of compound 3

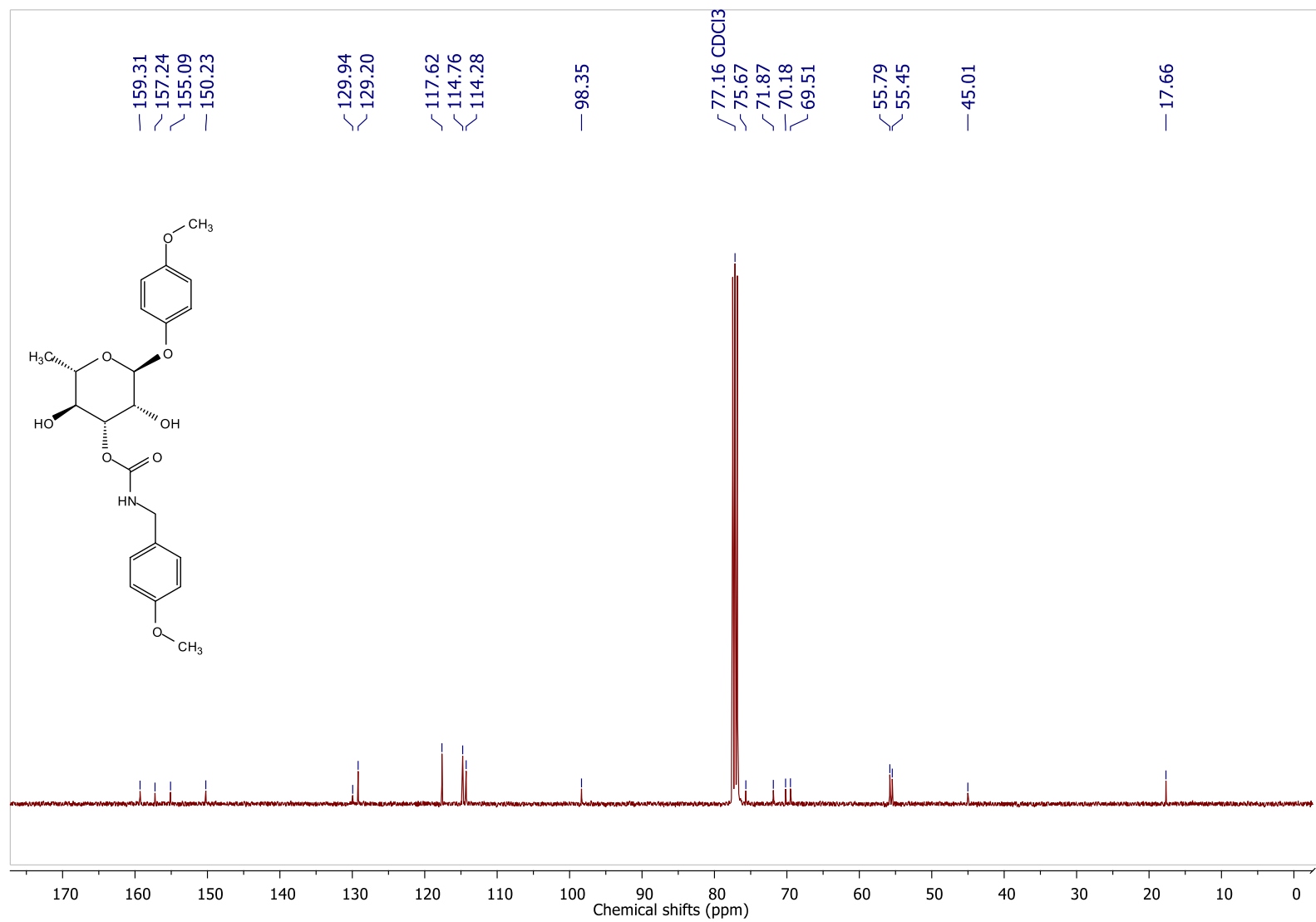


## Annexe 4: $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC and HMBC NMR Spectra of compound **4**

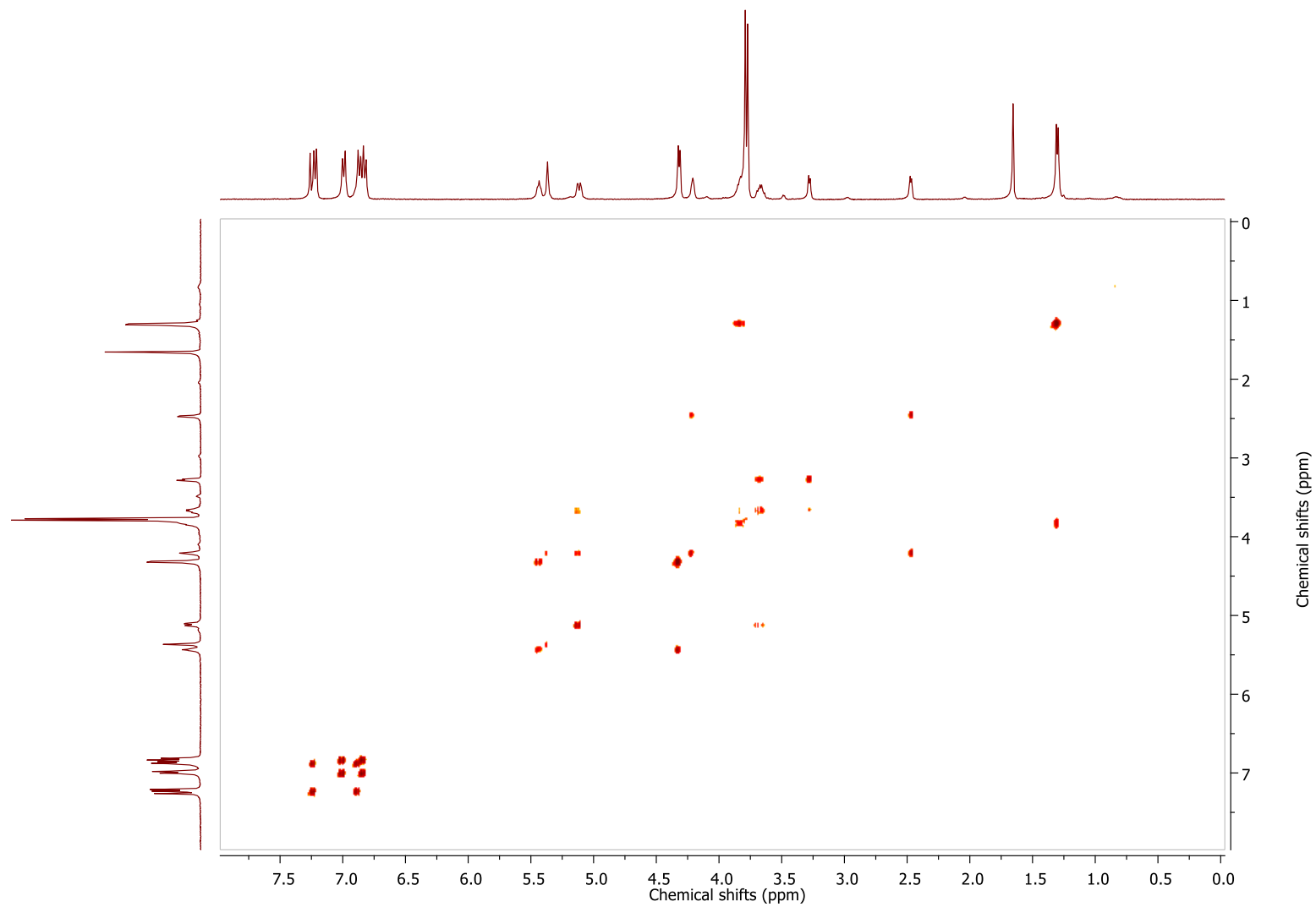
### 1. $^1\text{H}$ NMR spectrum of compound **4**



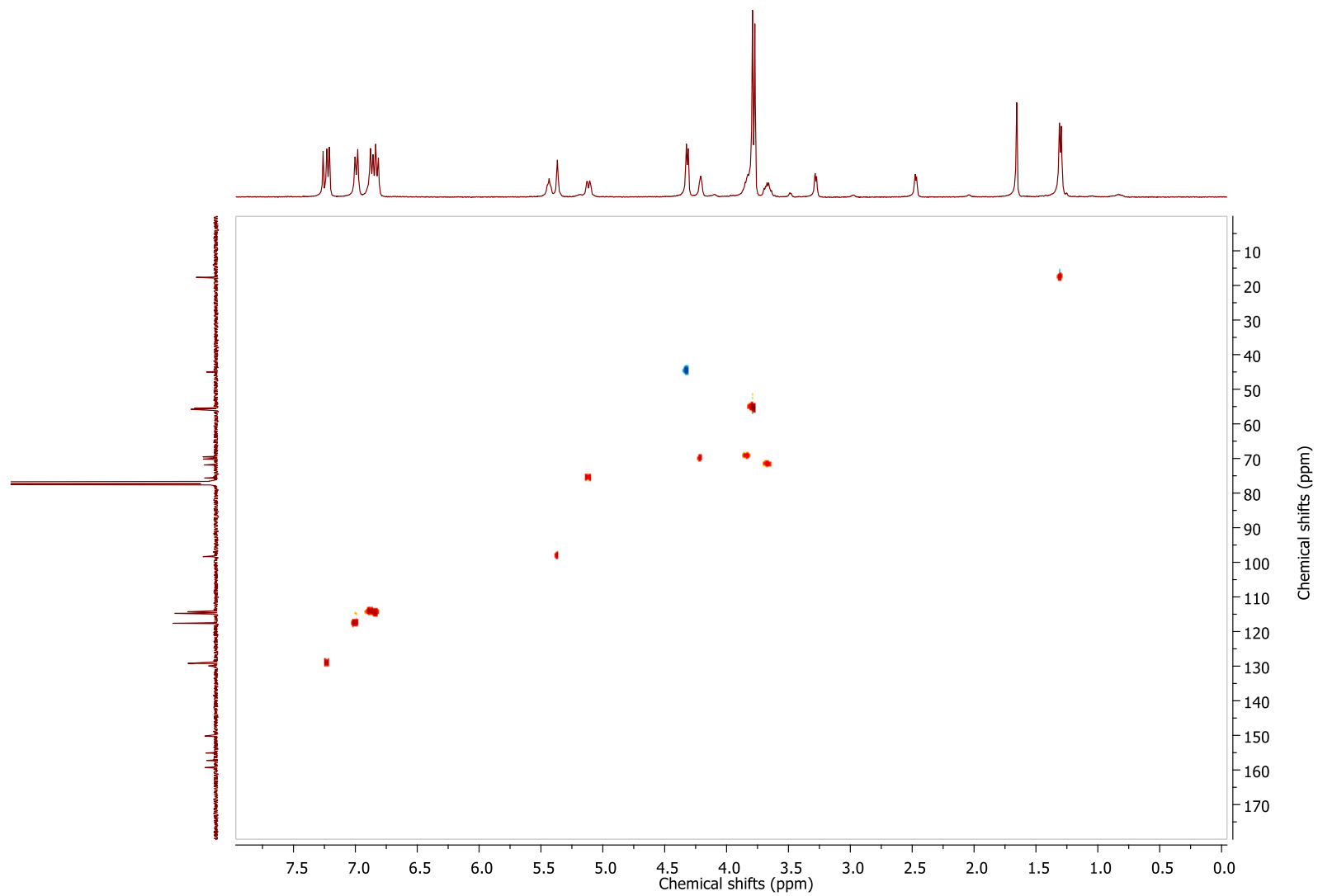
## 2. $^{13}\text{C}$ NMR spectrum of compound 4



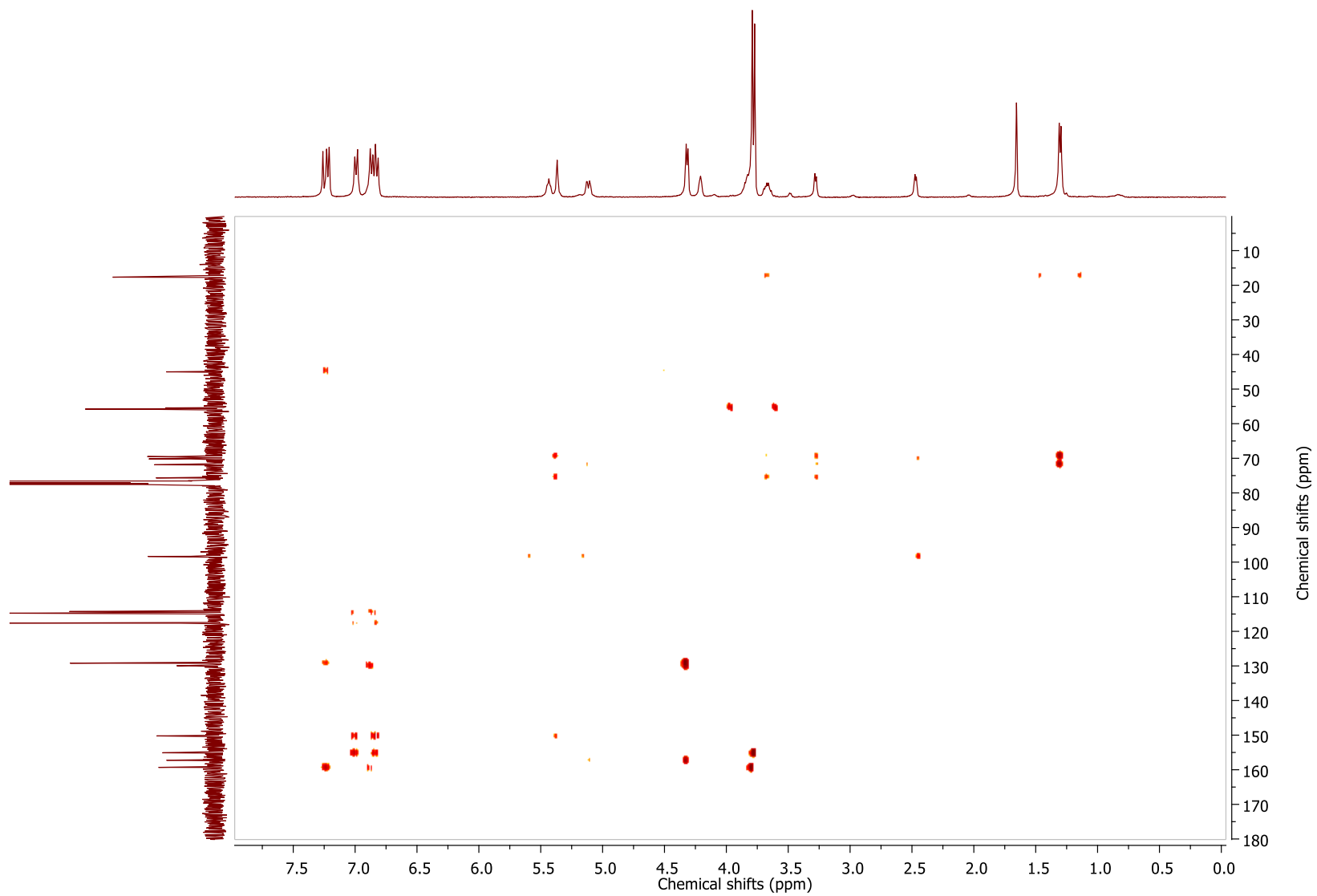
### 3. COSY NMR spectrum of compound 4



#### 4. HSQC NMR spectrum of compound 4

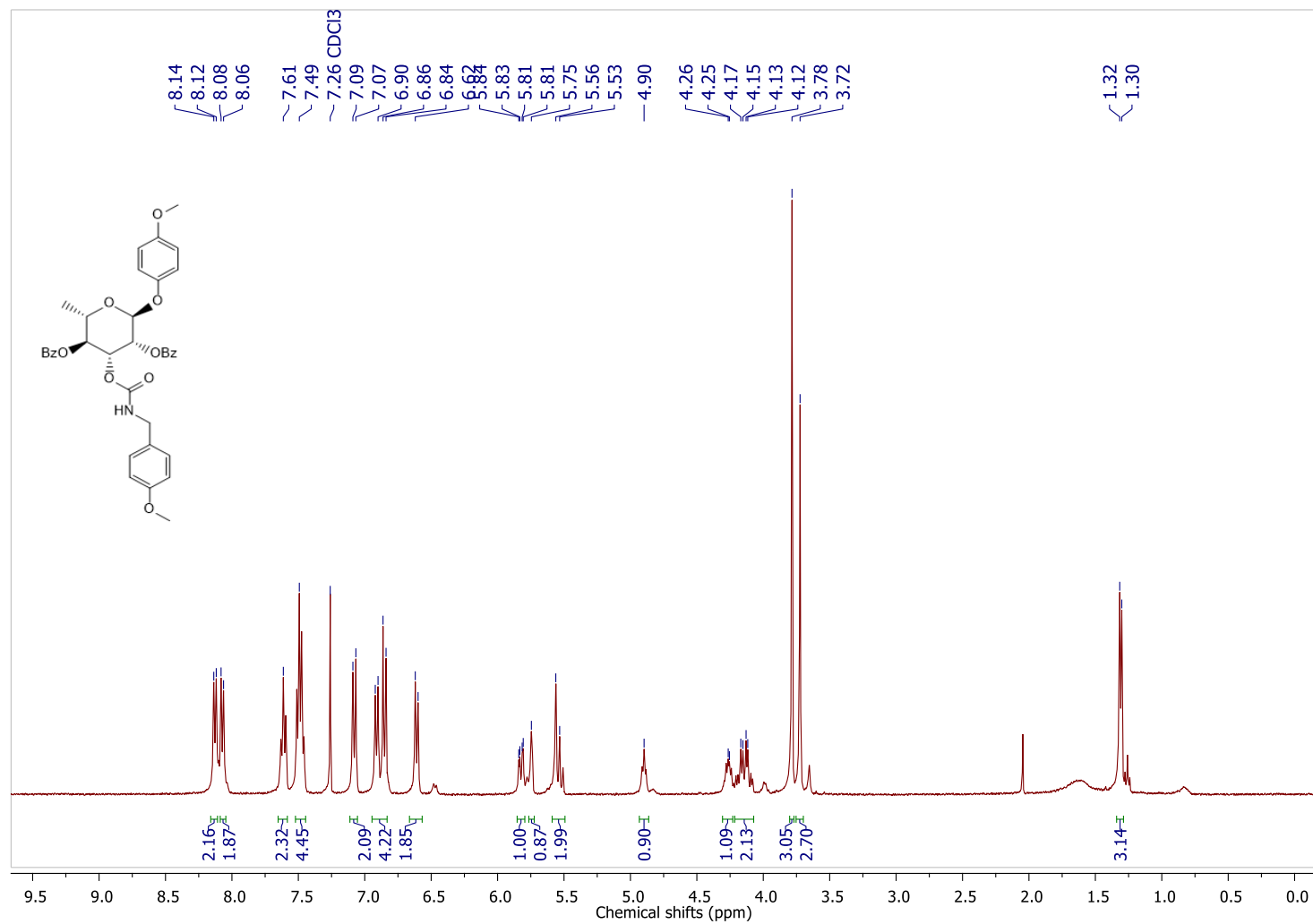


## 5. HMBC NMR spectrum of compound 4



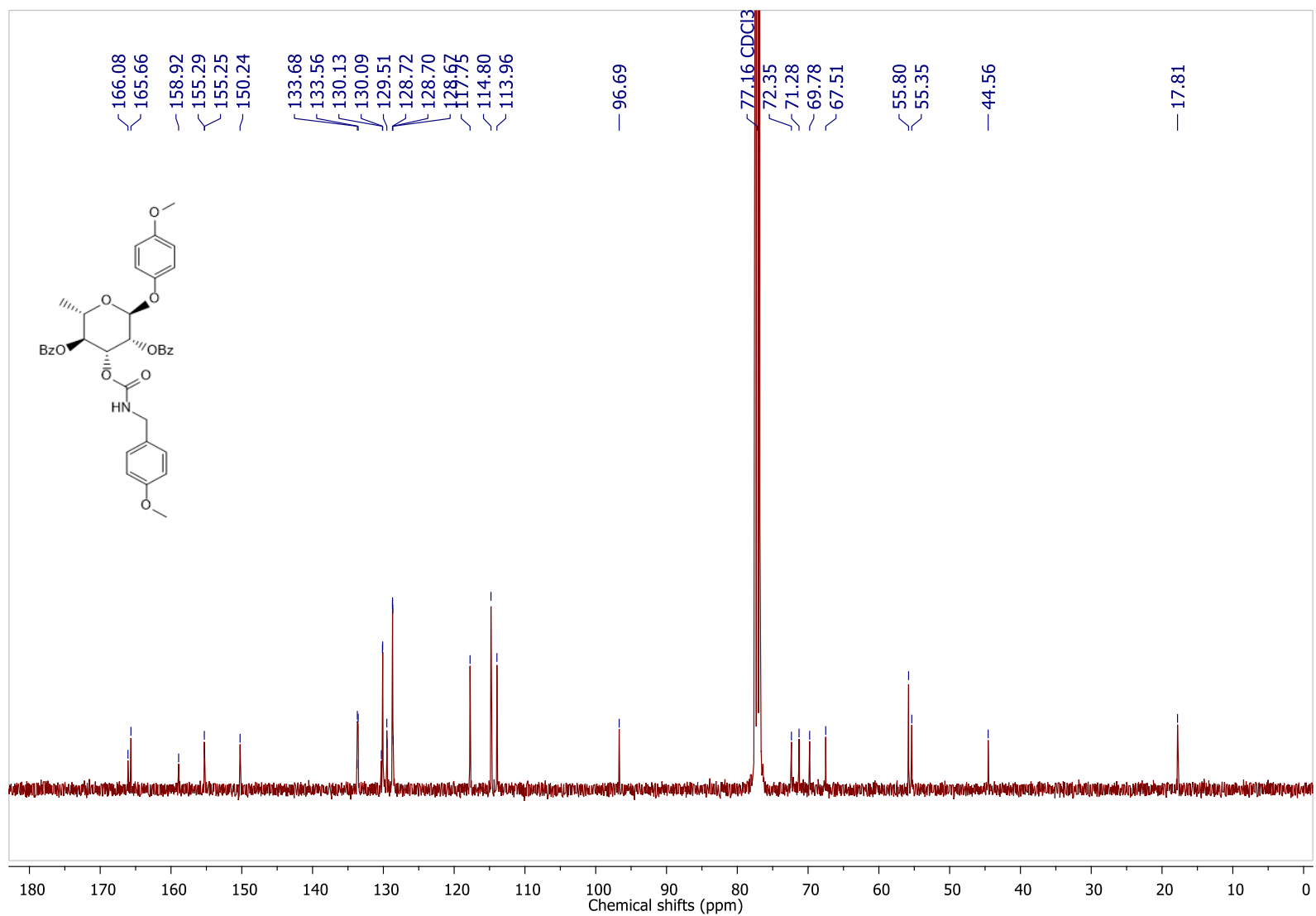
## Annexe 5: $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC and HMBC NMR Spectra of compound **5**

### 1. $^1\text{H}$ NMR spectrum of compound **5**

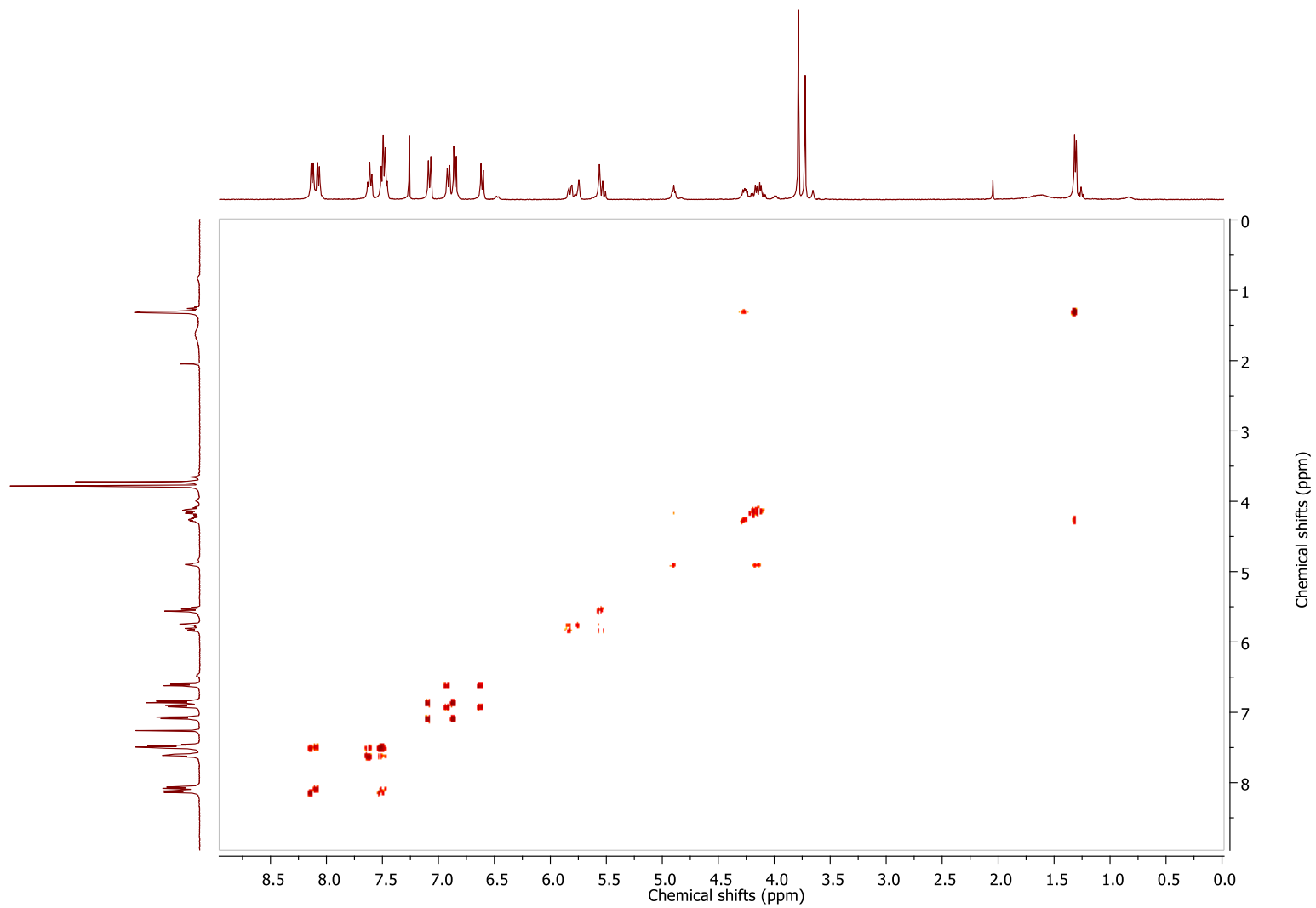




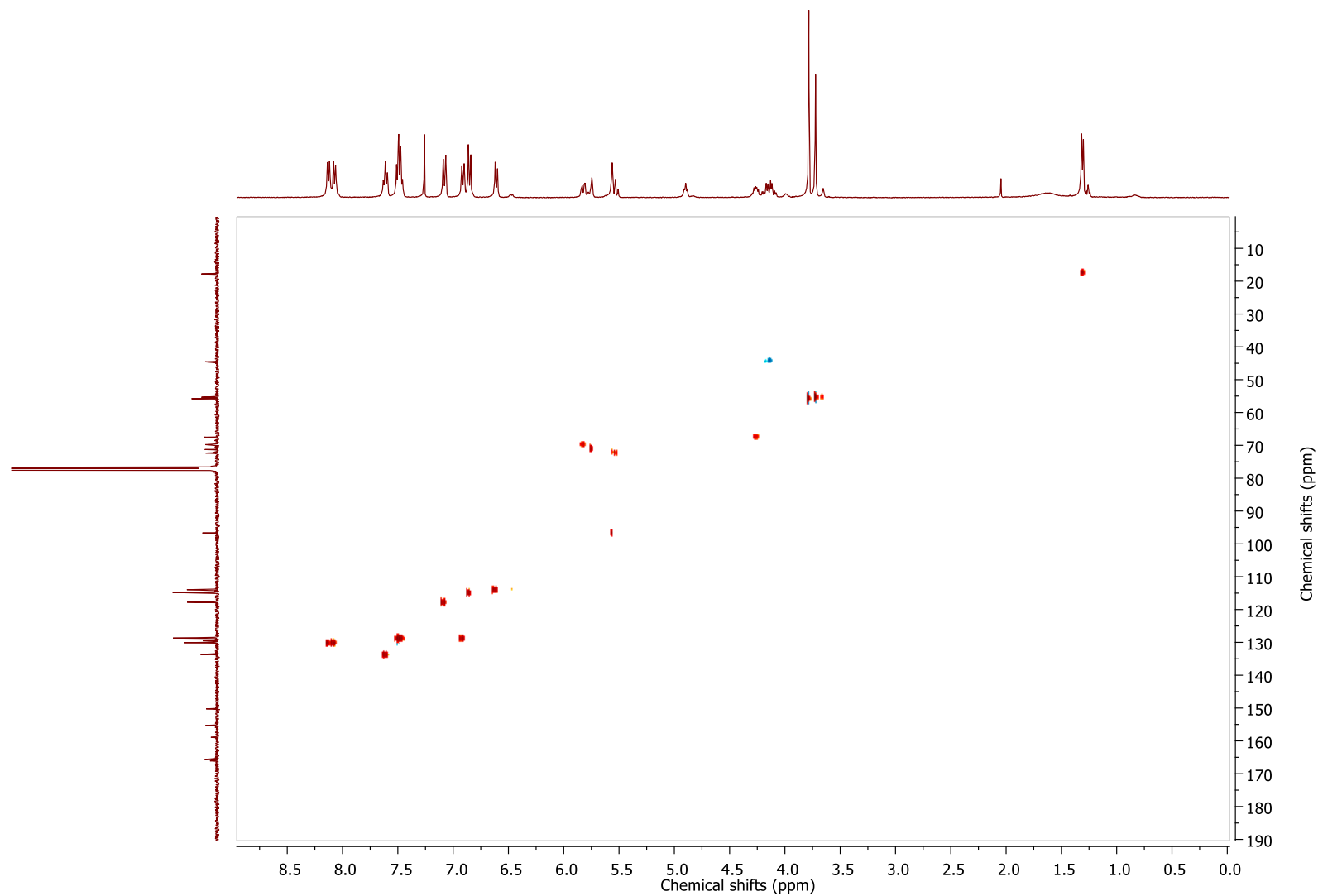
## 2. $^{13}\text{C}$ NMR spectrum of compound **5**



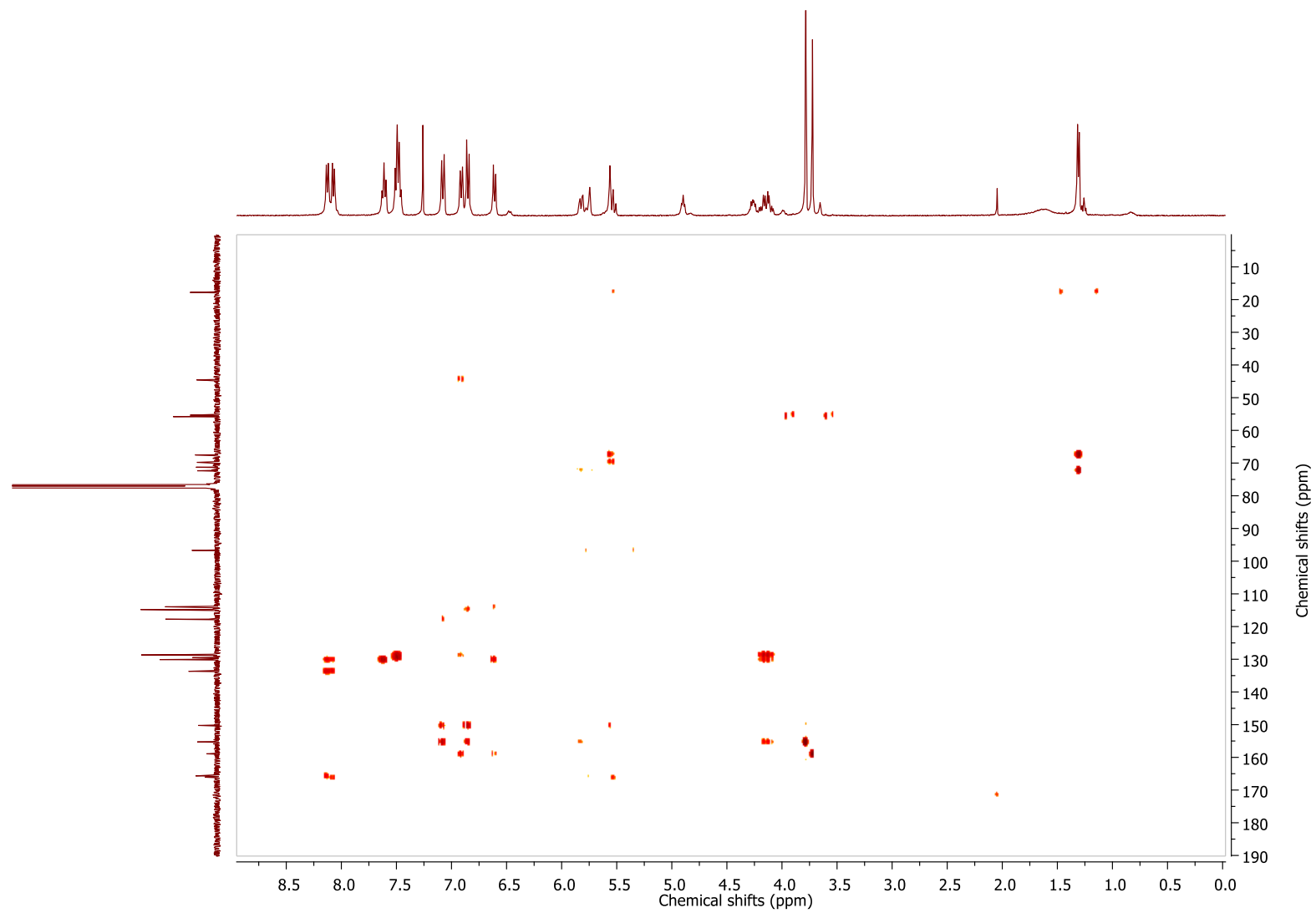
### 3. COSY NMR spectrum of compound 5



#### 4. HSQC NMR spectrum of compound 5

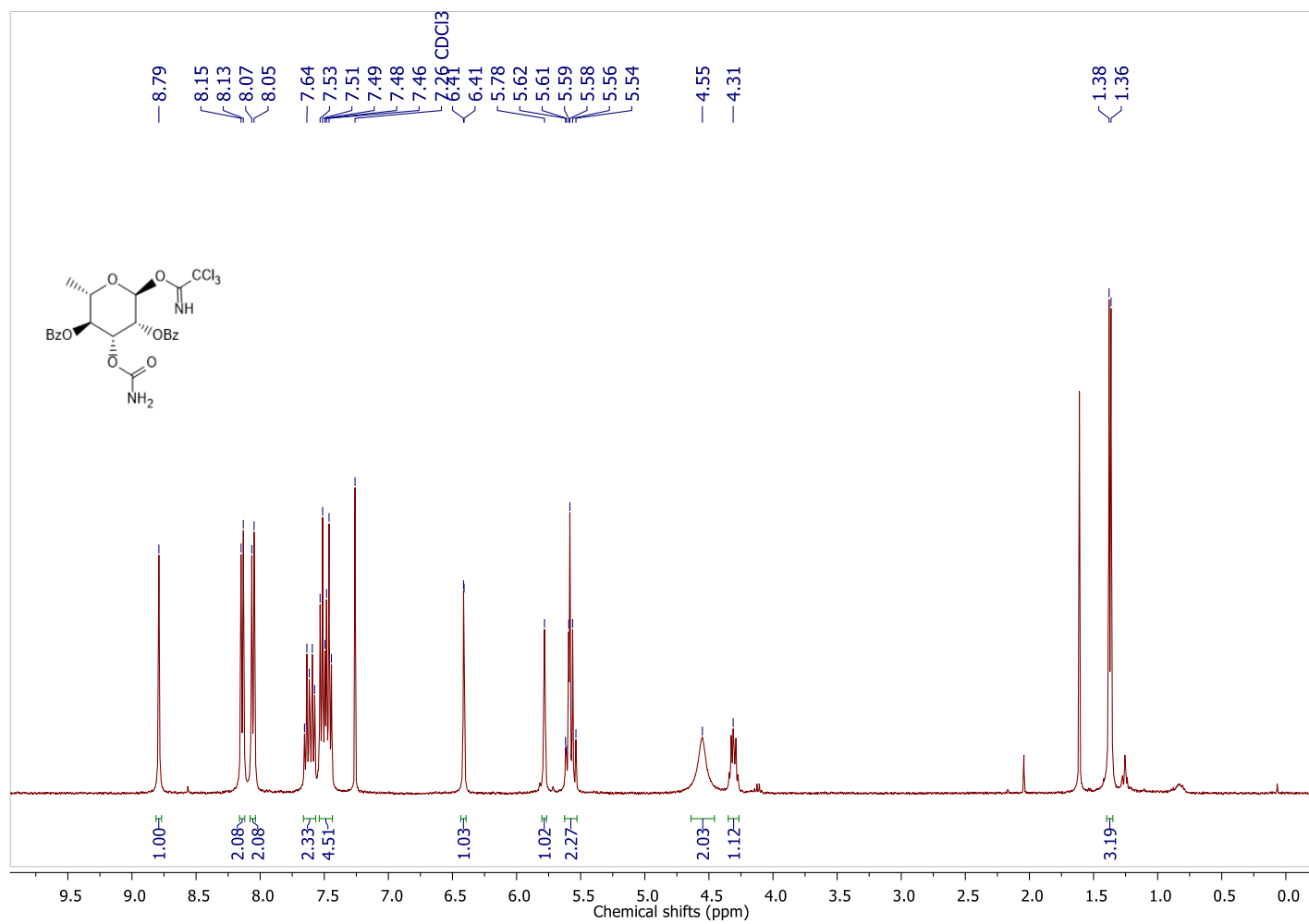


## 5. HMBC NMR spectrum of compound 5

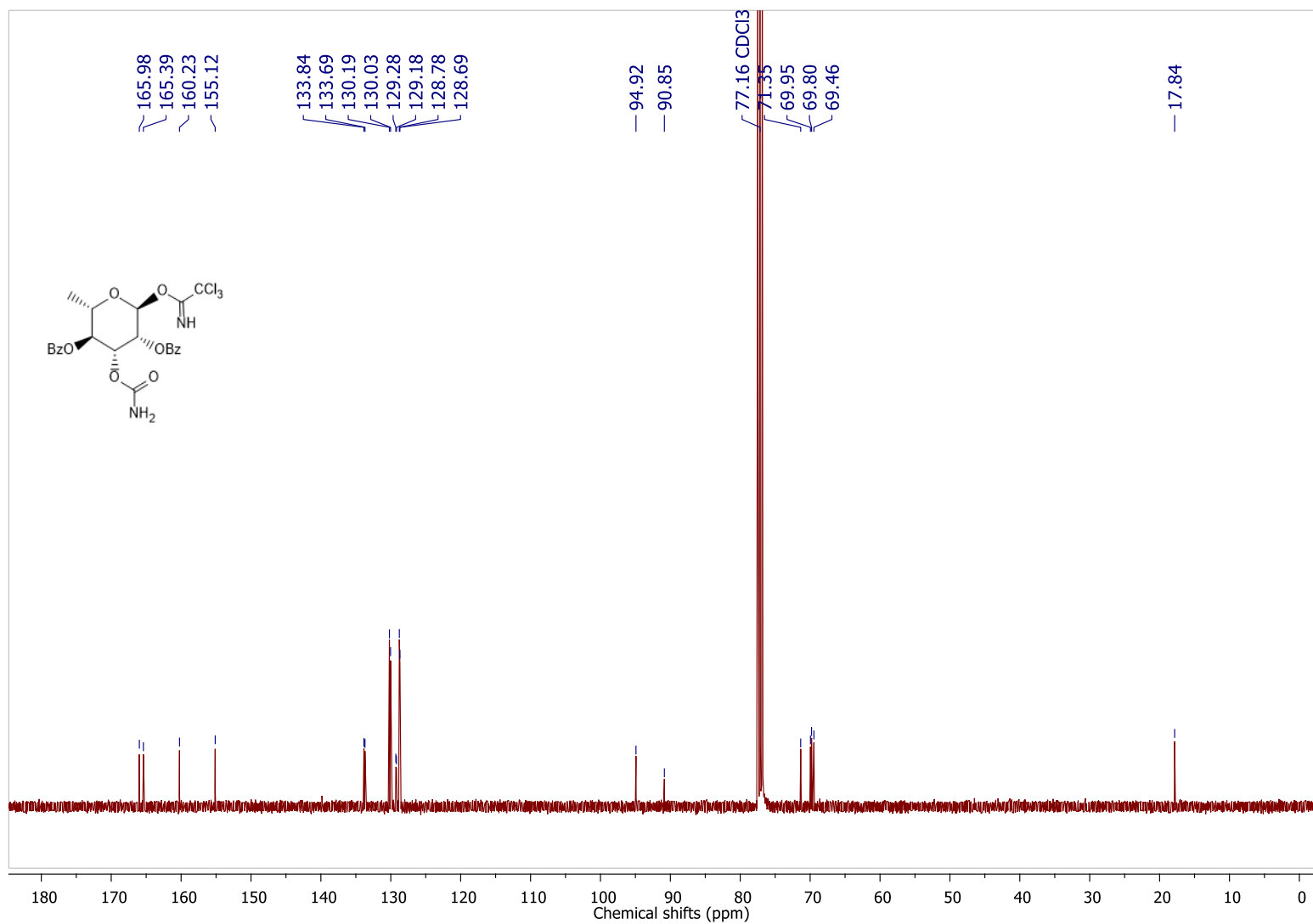


## Annexe 6: $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC and HMBC NMR Spectra of compound **6**

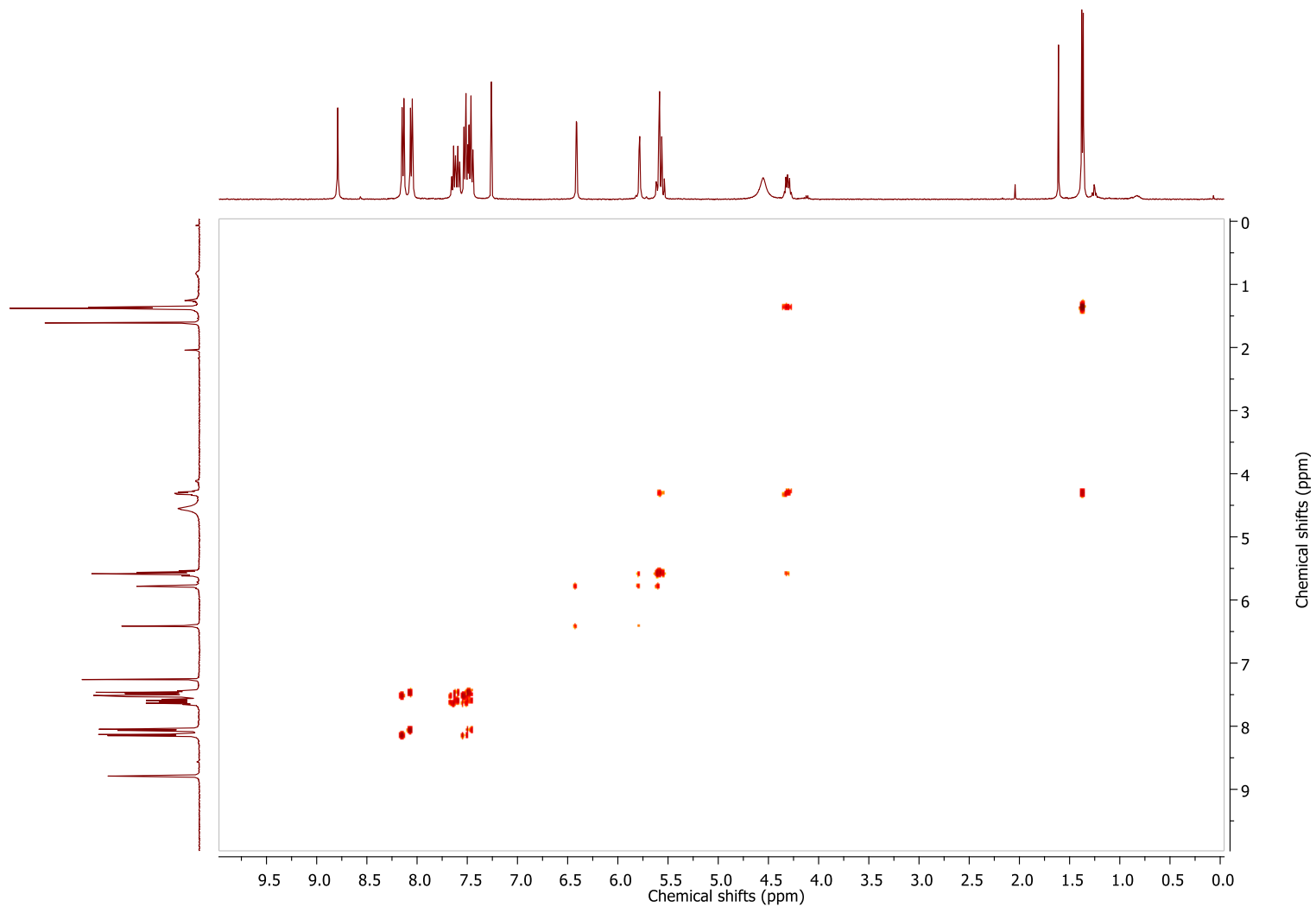
### 1. $^1\text{H}$ NMR spectrum of compound **6**



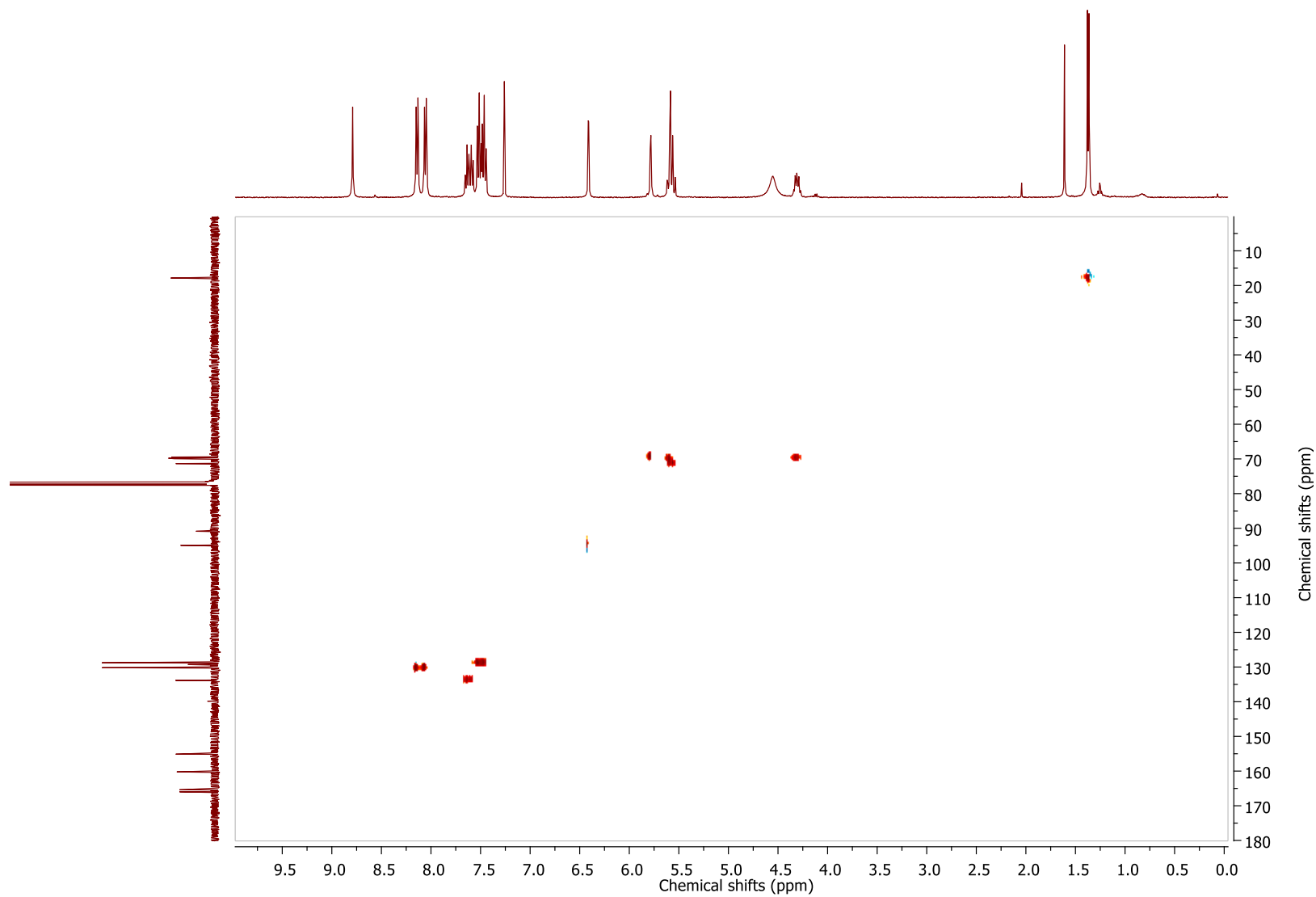
## 2. $^{13}\text{C}$ NMR spectrum of compound **6**



### 3. COSY NMR spectrum of compound 6

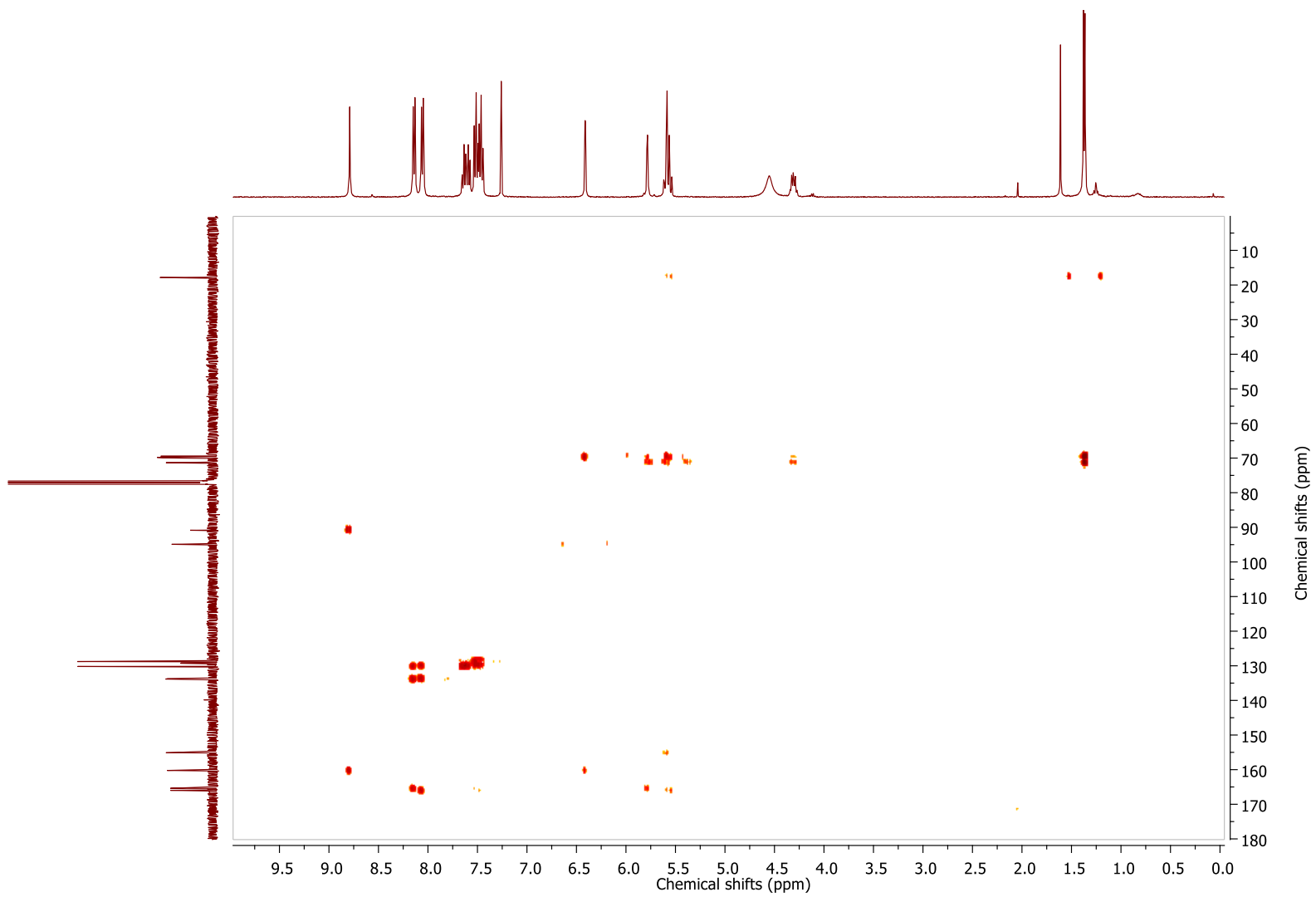


#### 4. HSQC NMR spectrum of compound 6



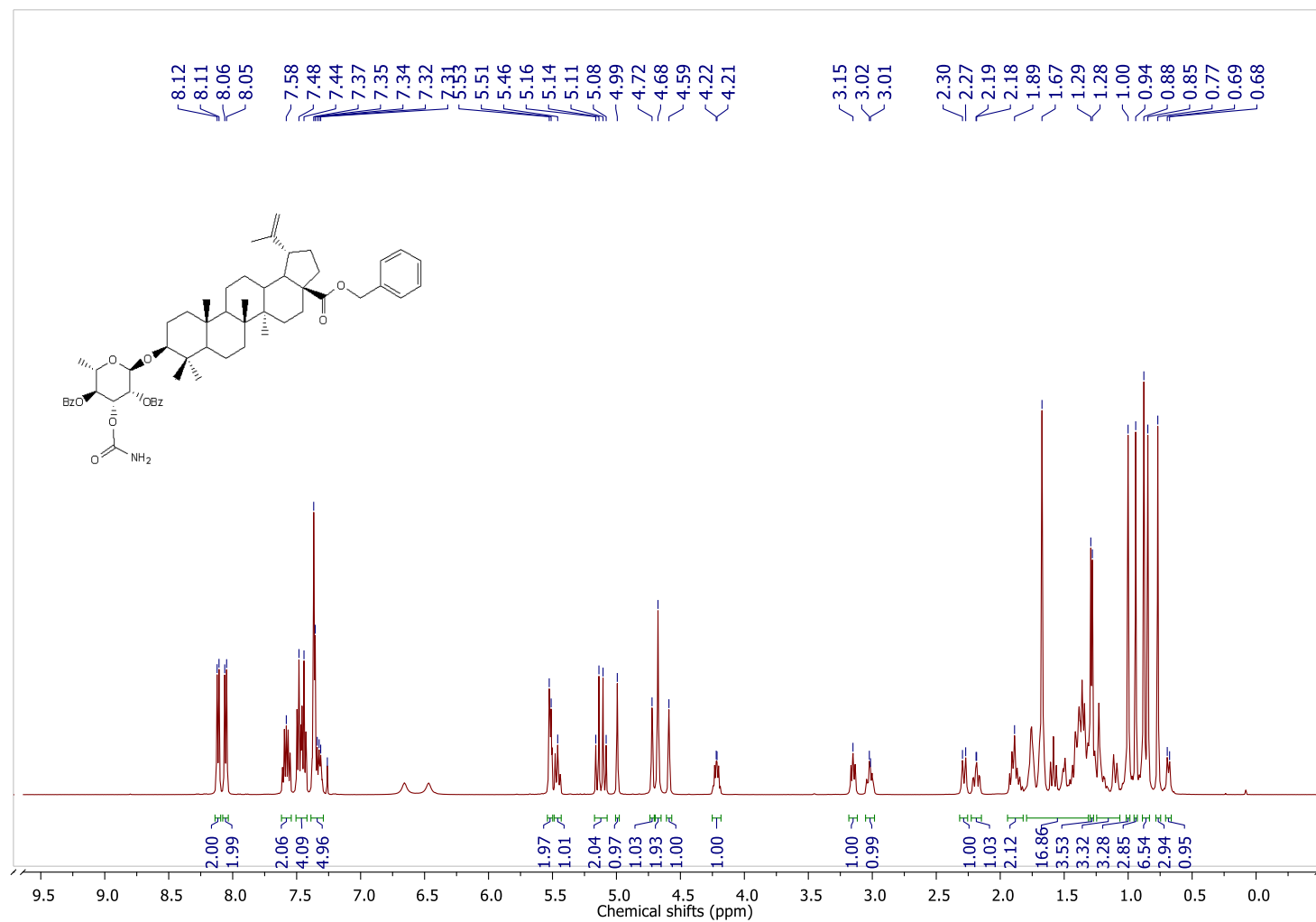


## 5. HMBC NMR spectrum of compound 6

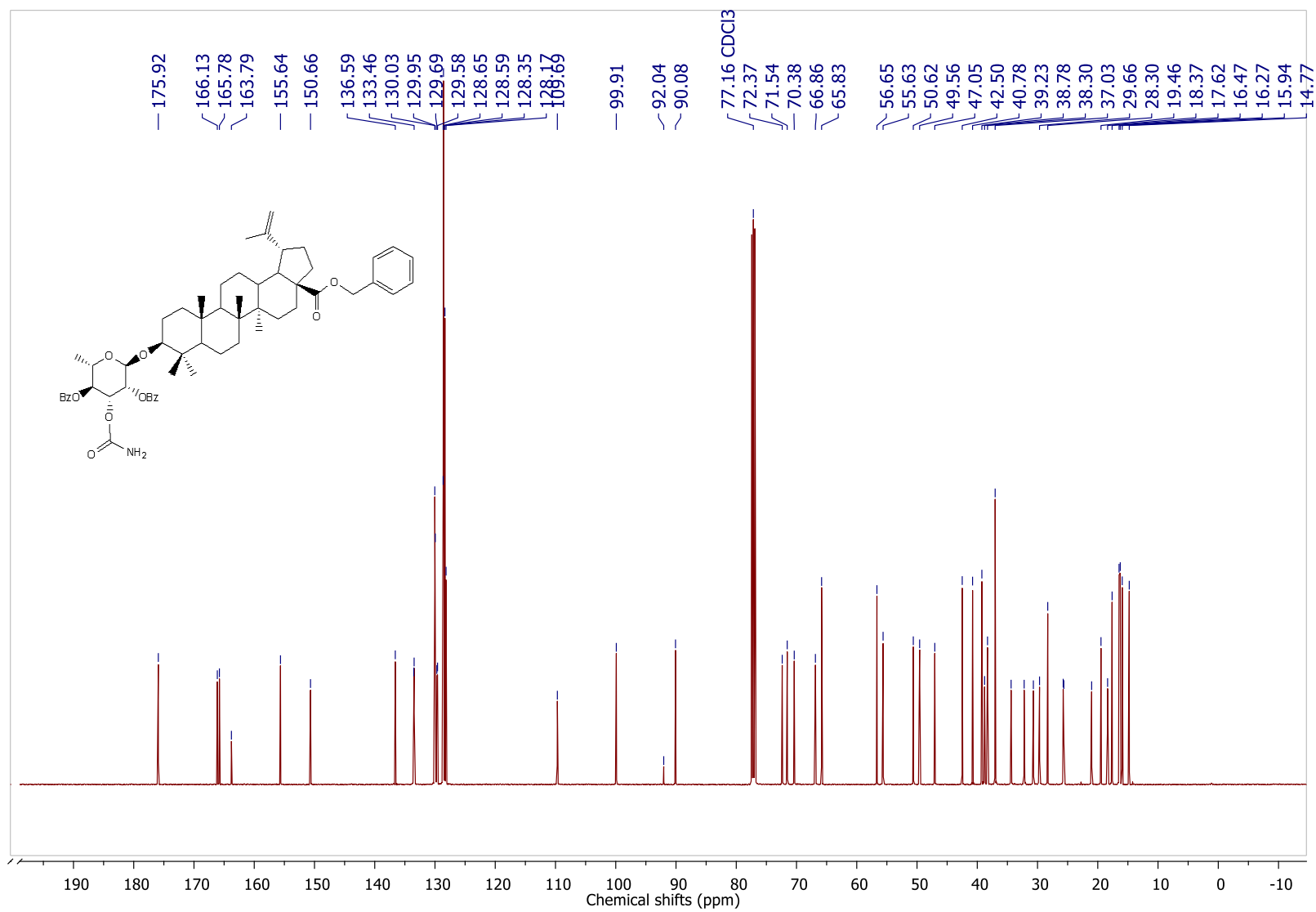


## Annexe 7: $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC and HMBC NMR Spectra of compound 7

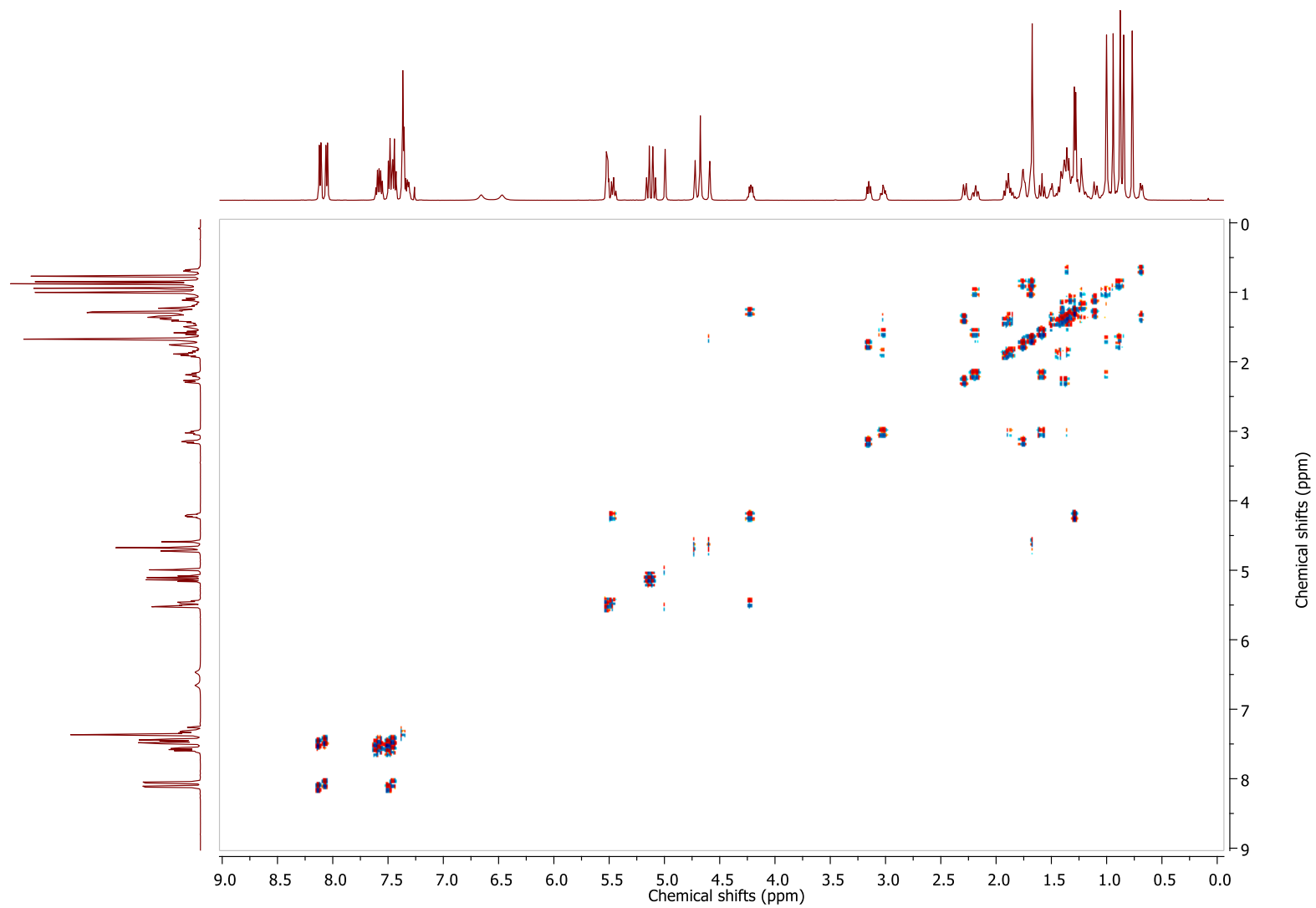
### 1. $^1\text{H}$ NMR spectrum of compound 7



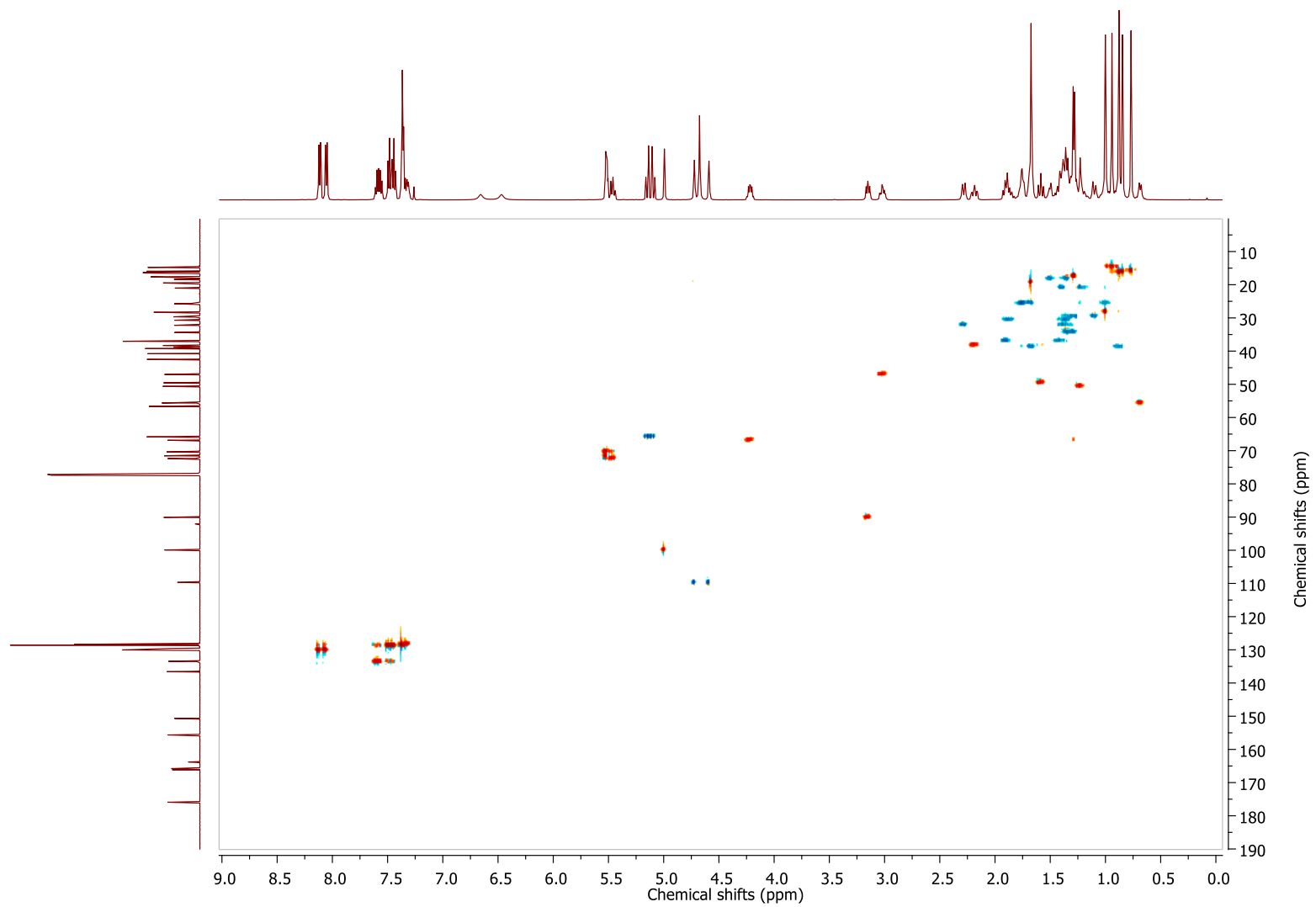
## 2. $^{13}\text{C}$ NMR spectrum of compound **7**



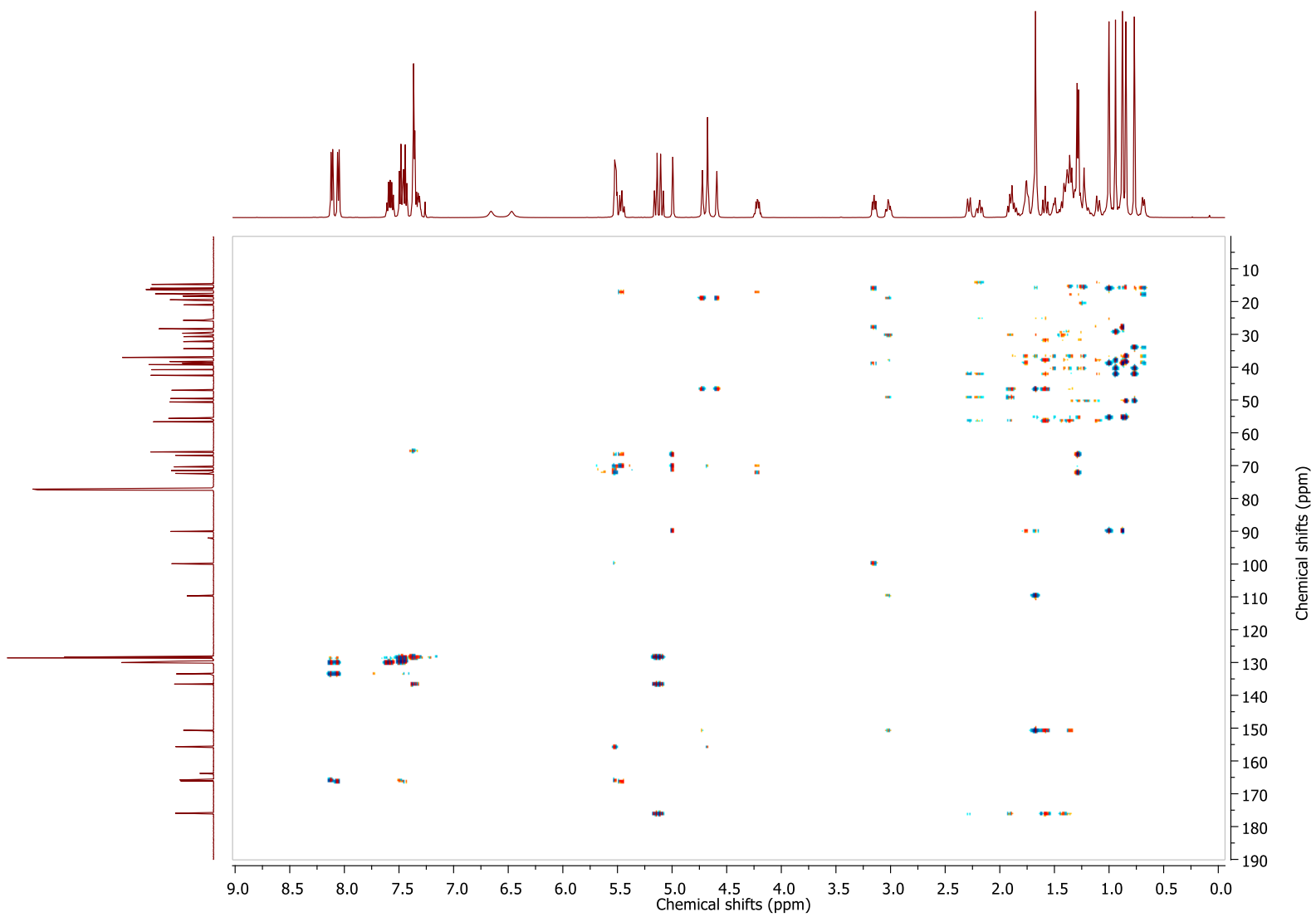
### 3. COSY NMR spectrum of compound 7



#### 4. HSQC NMR spectrum of compound 7

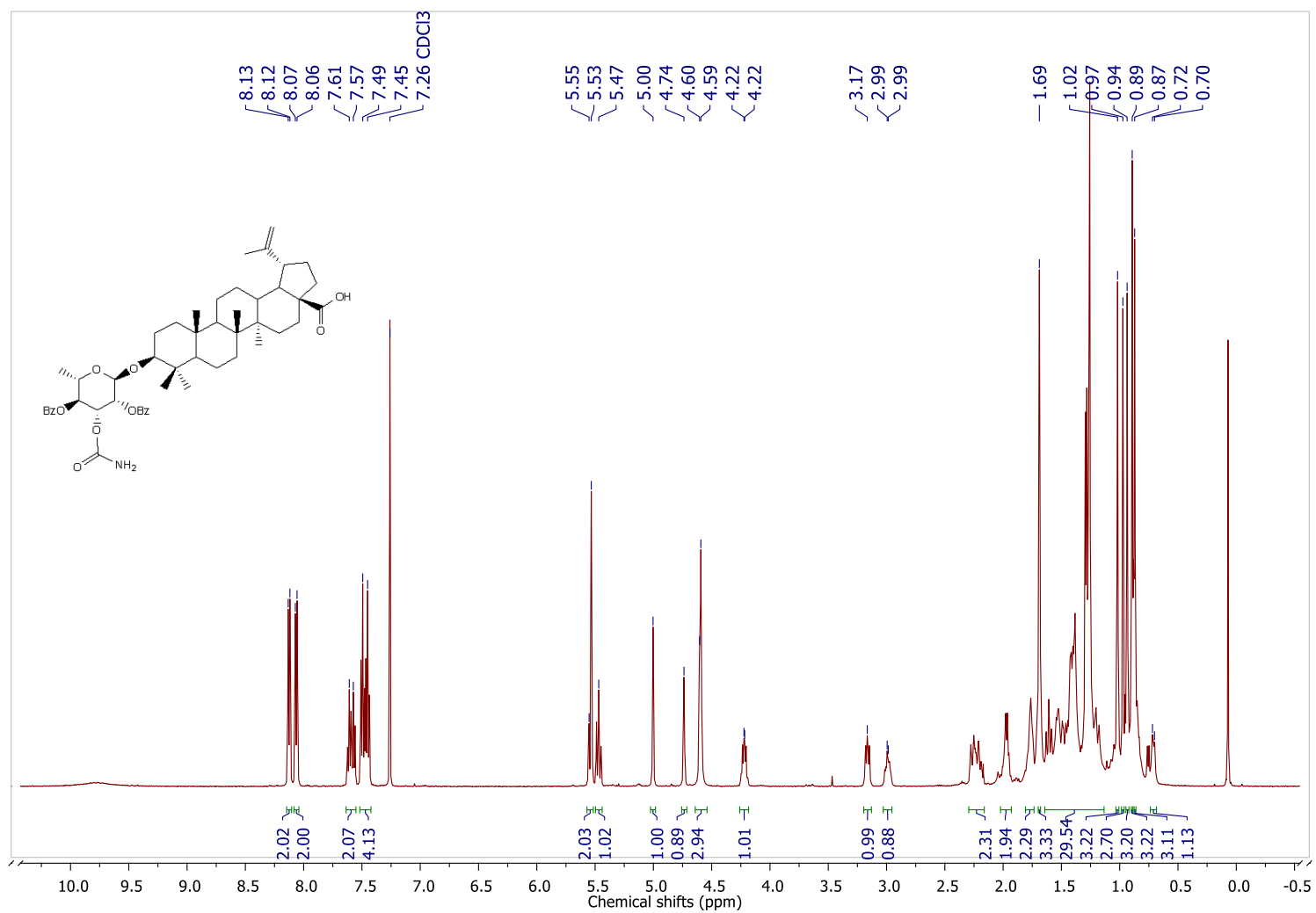


## 5. HMBC NMR spectrum of compound 7

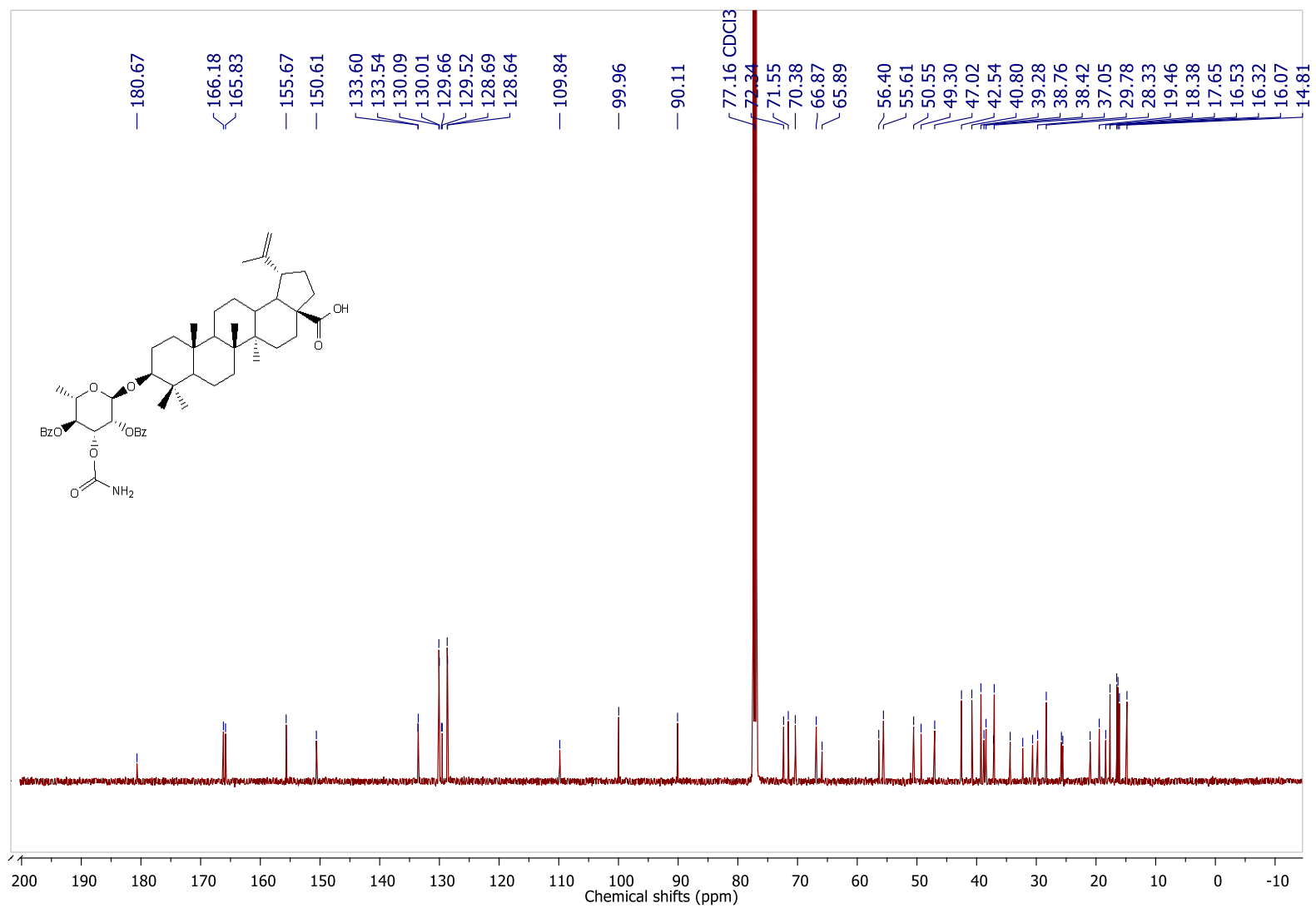


## Annexe 8: $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC and HMBC NMR Spectra of compound **8**

### 1. $^1\text{H}$ NMR spectrum of compound **8**

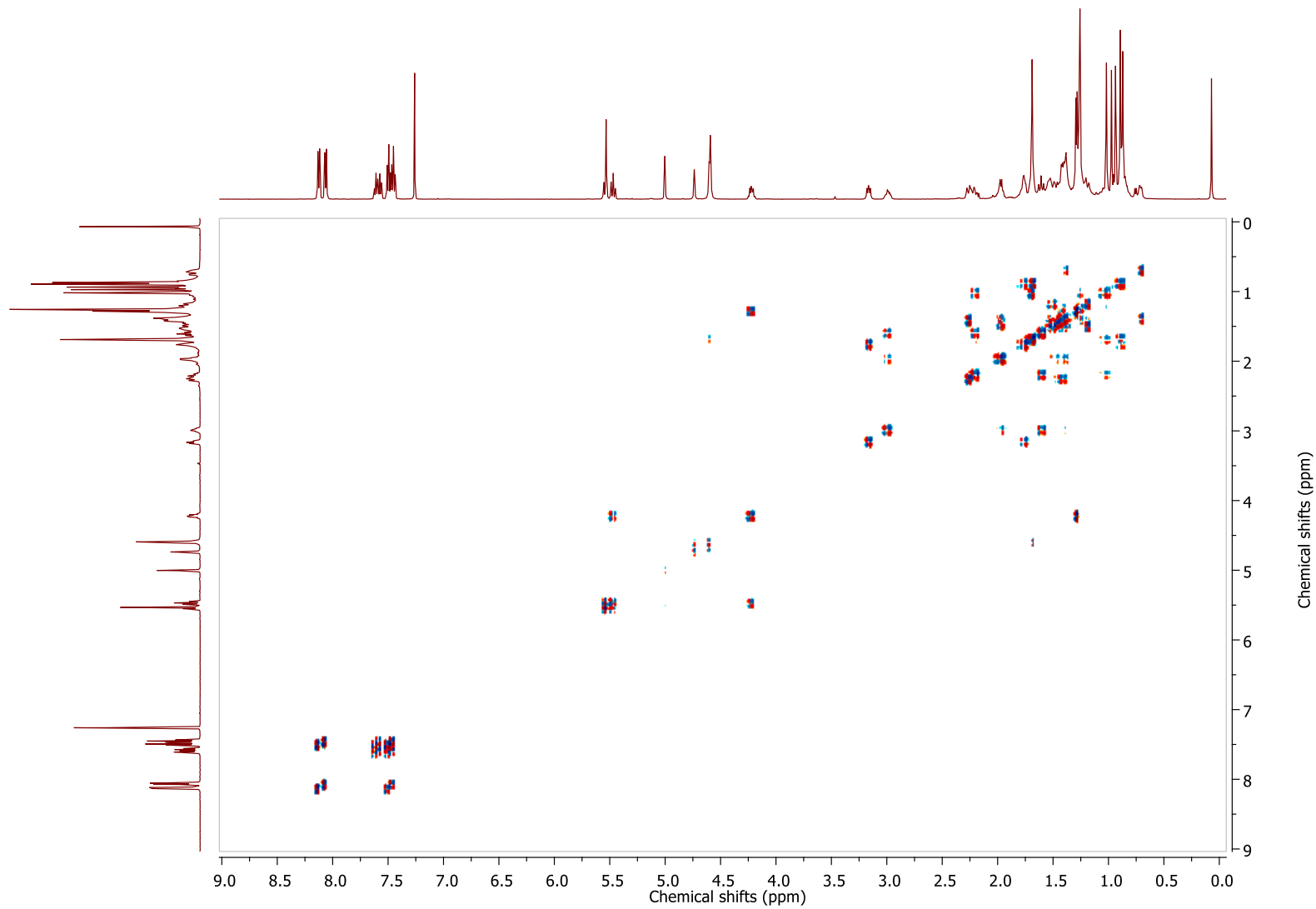


## 2. $^{13}\text{C}$ NMR spectrum of compound **8**

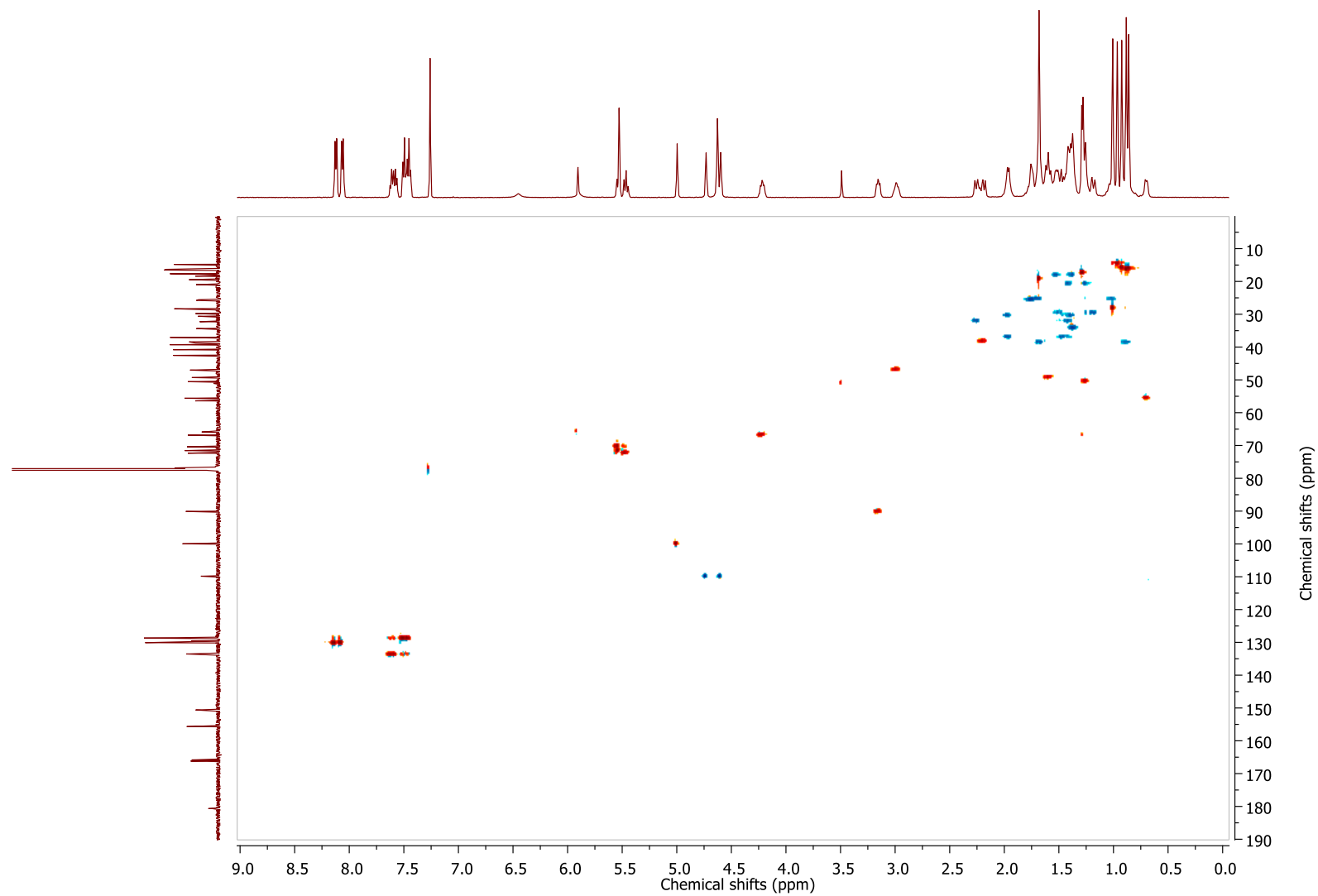




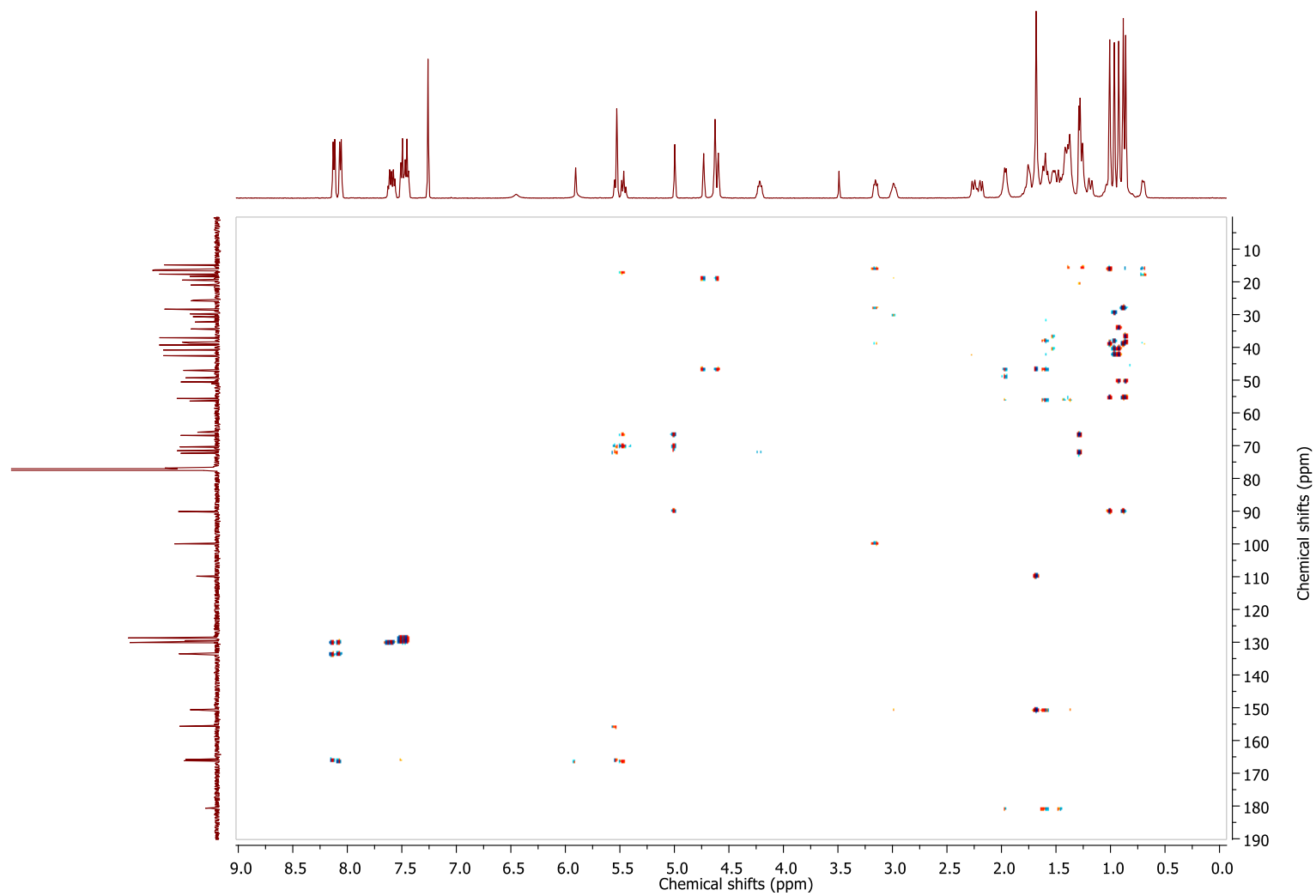
### 3. COSY NMR spectrum of compound 8



#### 4. HSQC NMR spectrum of compound 8

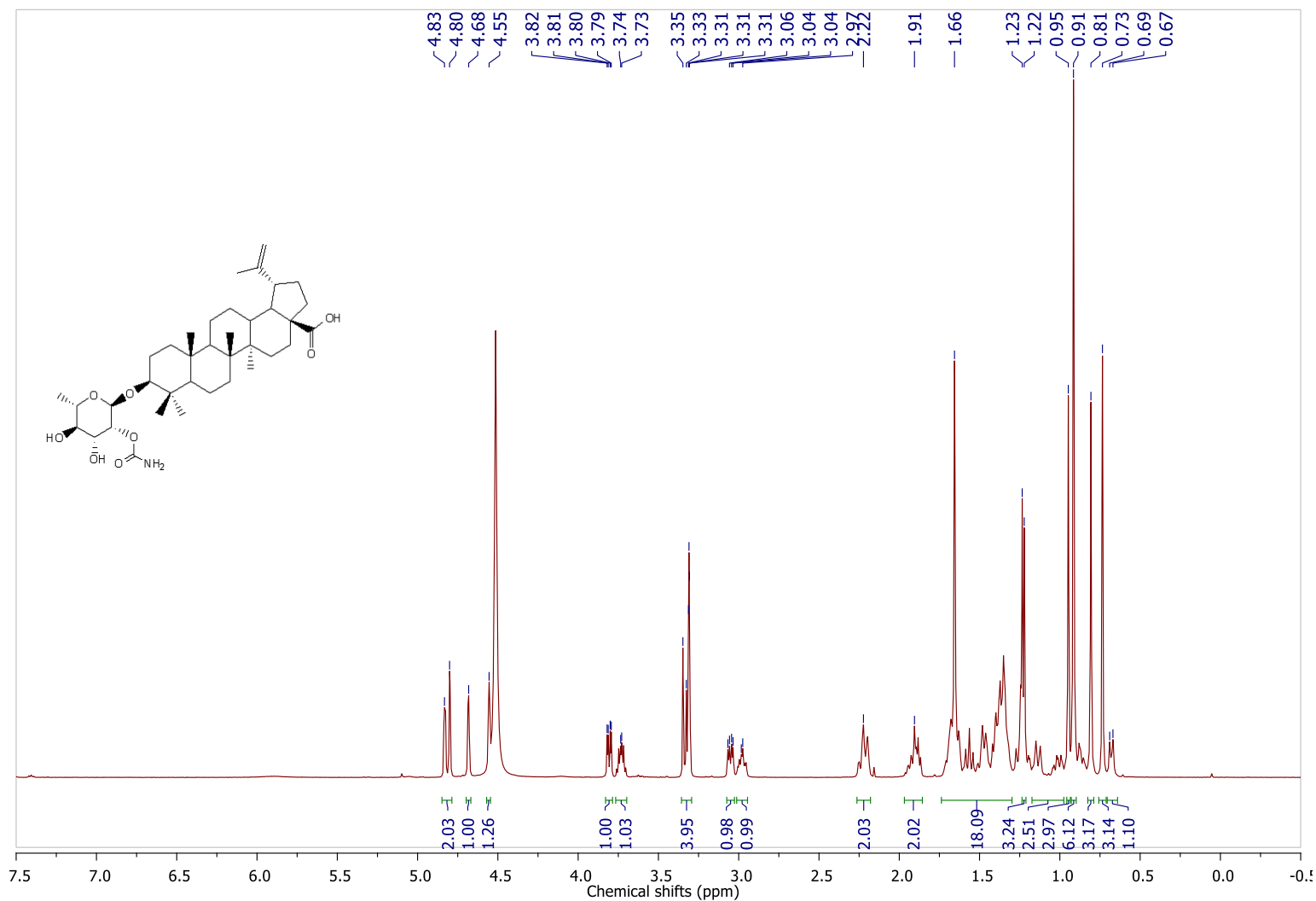


## 5. HMBC NMR spectrum of compound 8

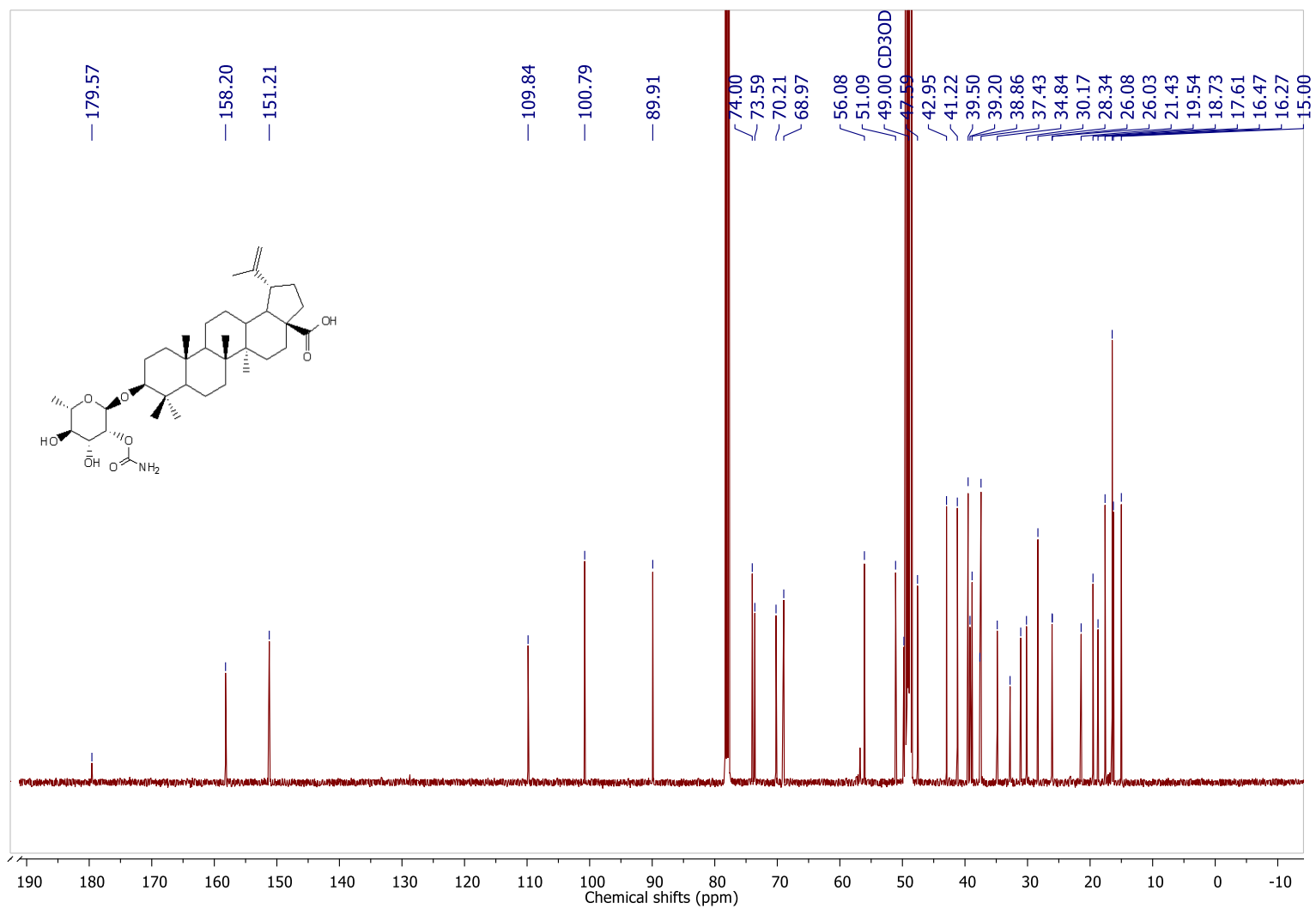


## Annexe 9: $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC and HMBC NMR Spectra of compound 9

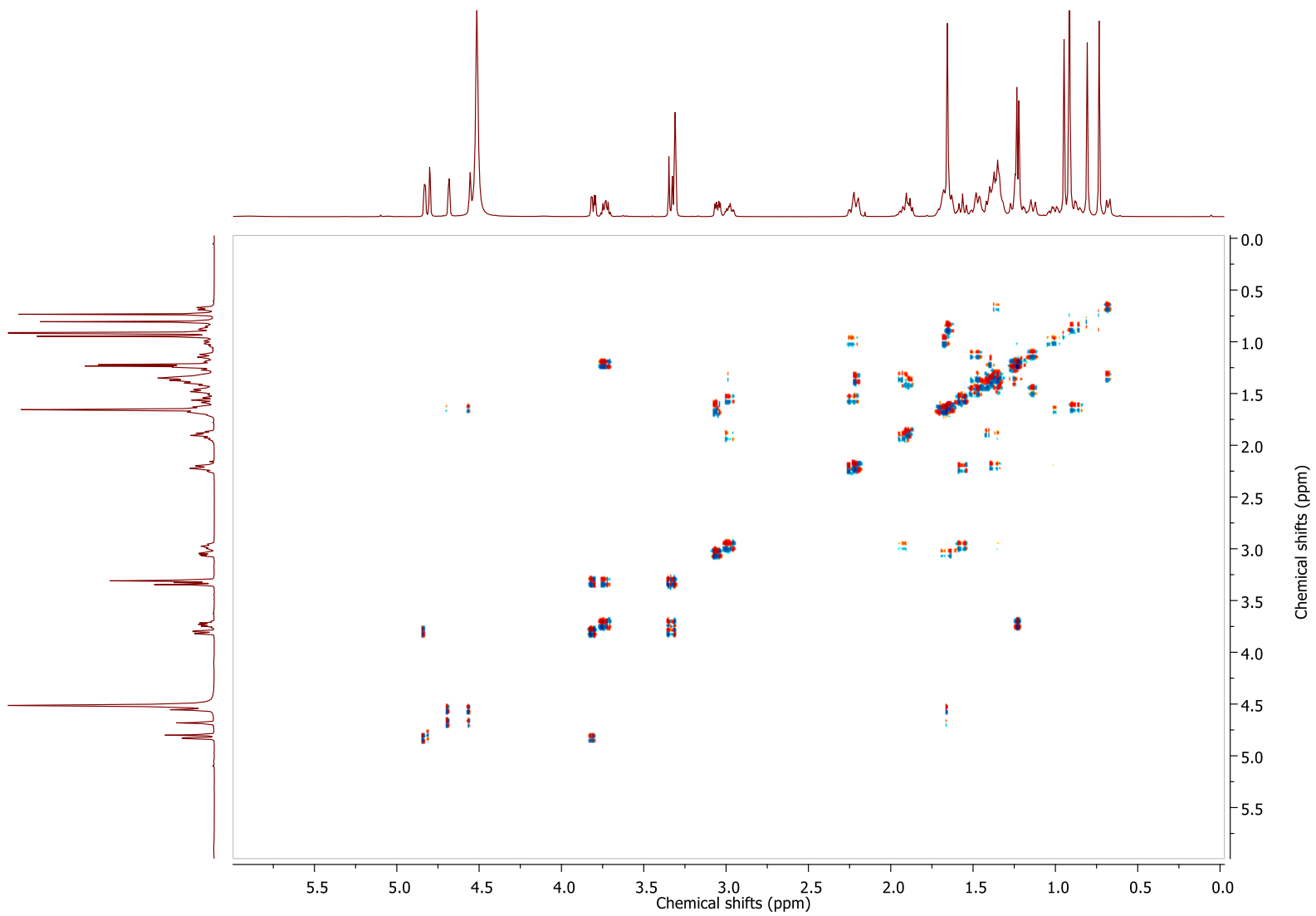
### 1. $^1\text{H}$ NMR spectrum of compound 9



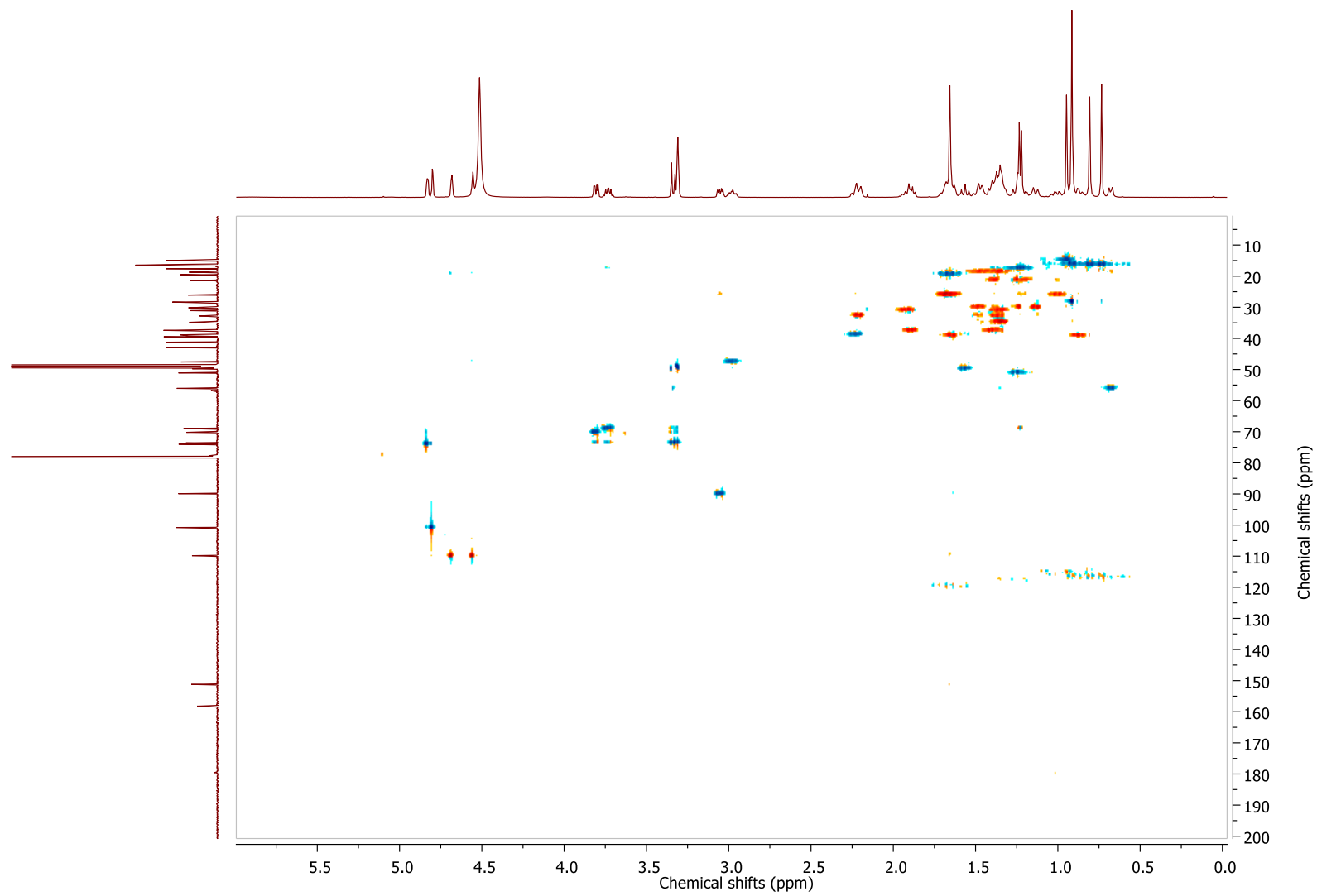
## 2. $^{13}\text{C}$ NMR spectrum of compound **9**



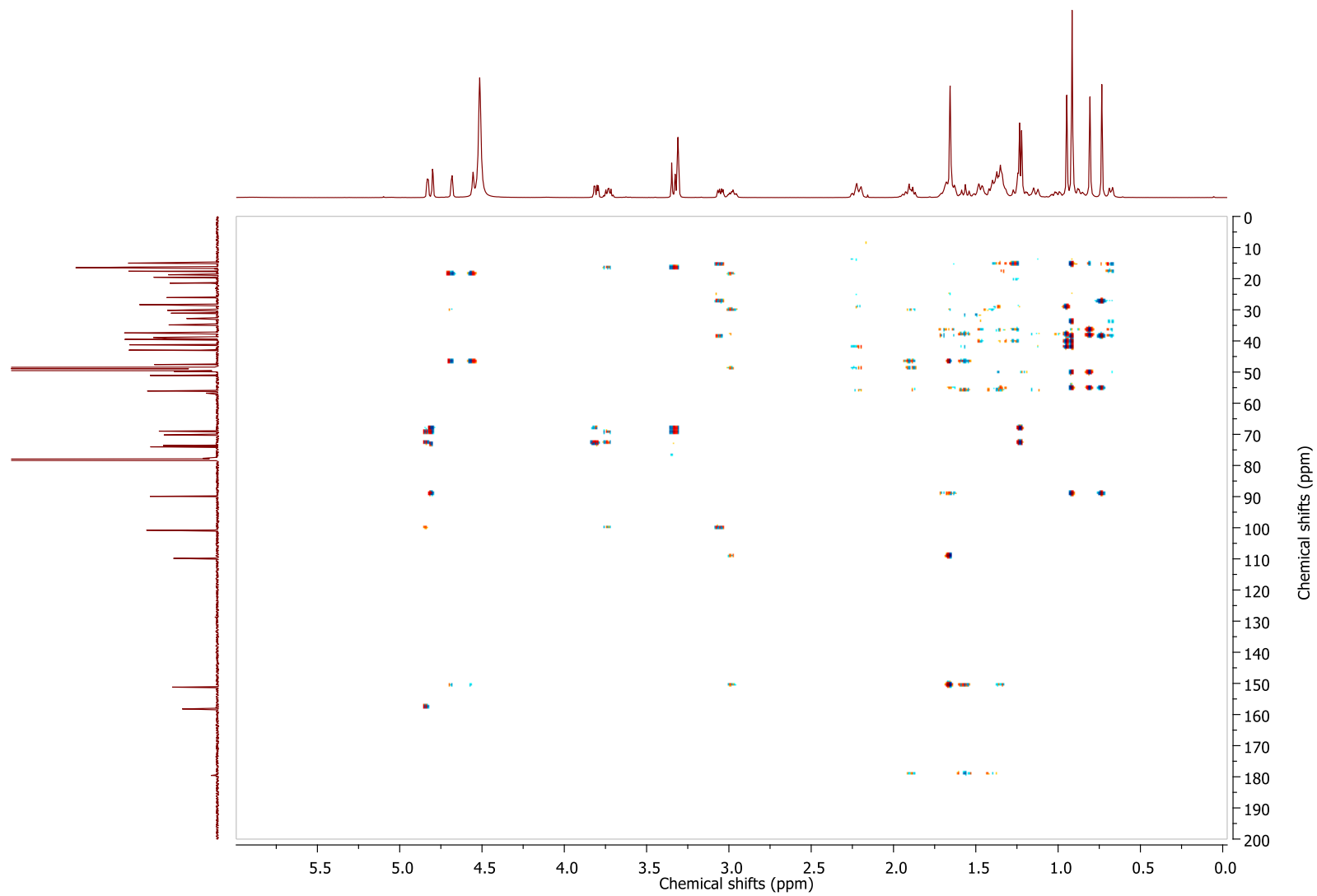
### 3. COSY NMR spectrum of compound 9



#### 4. HSQC NMR spectrum of compound 9



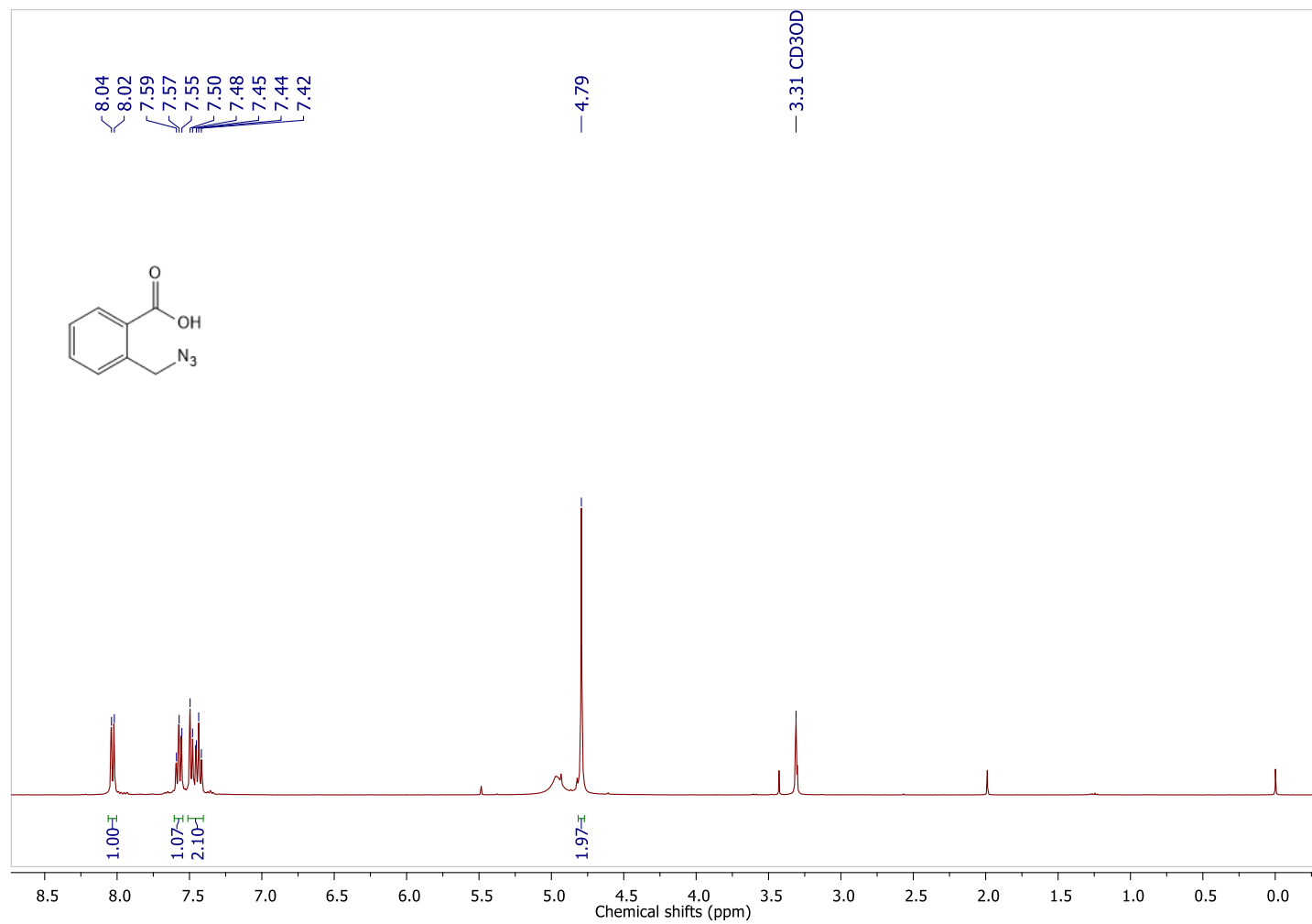
## 5. HMBC NMR spectrum of compound 9



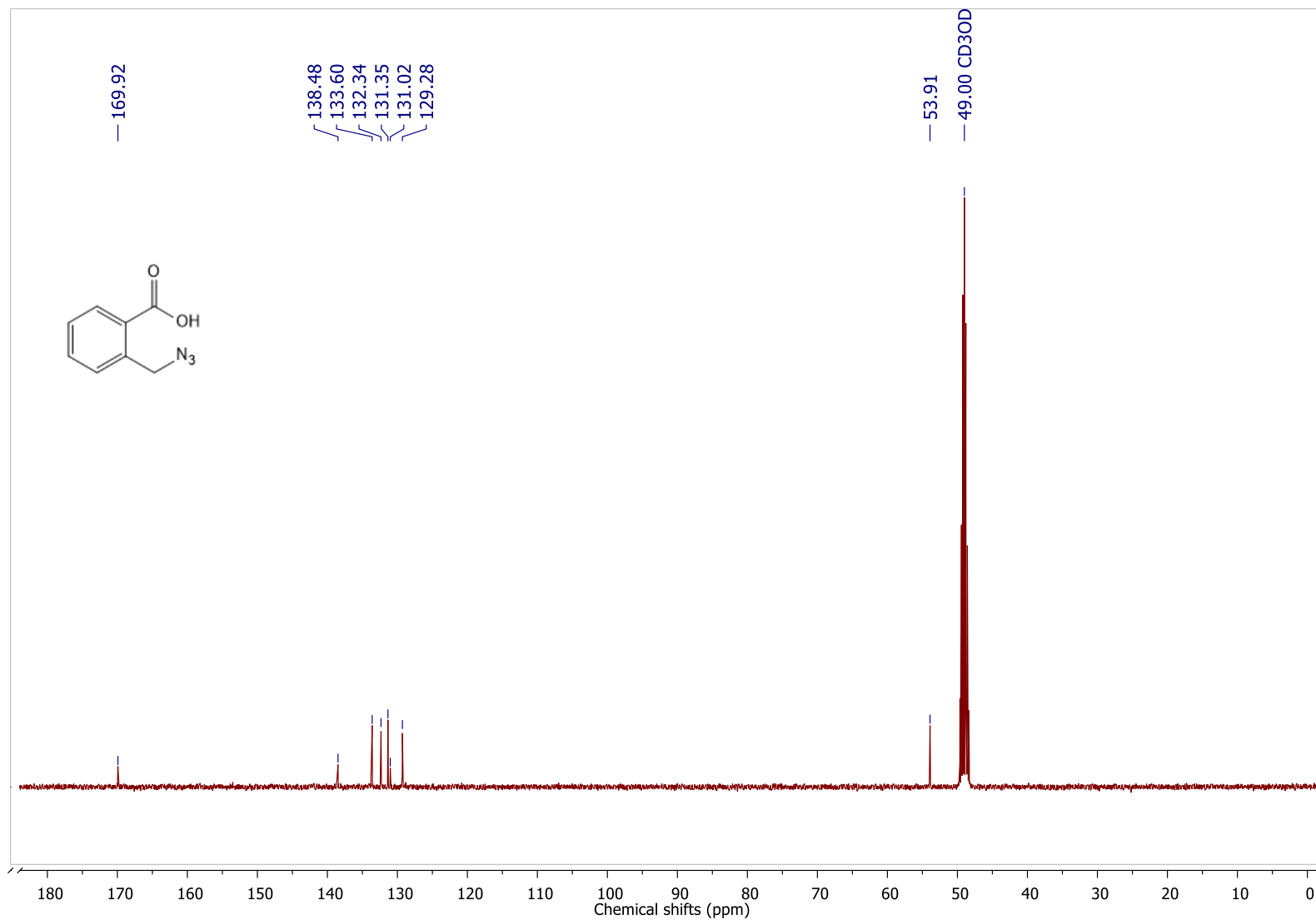


## Annexe 10: $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR Spectra of compound 10

### 1. $^1\text{H}$ NMR spectrum of compound 10

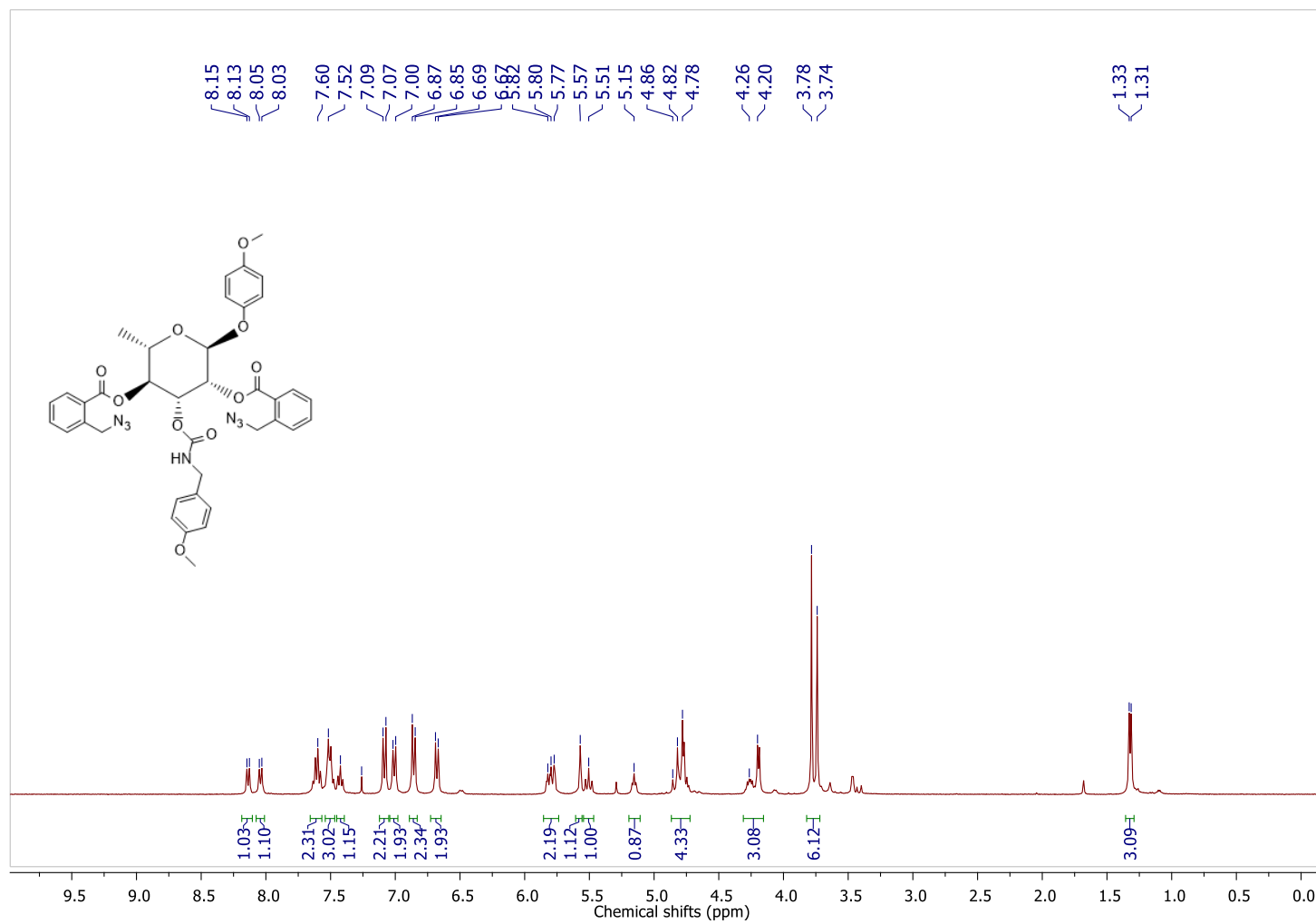


2.  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of compound 10

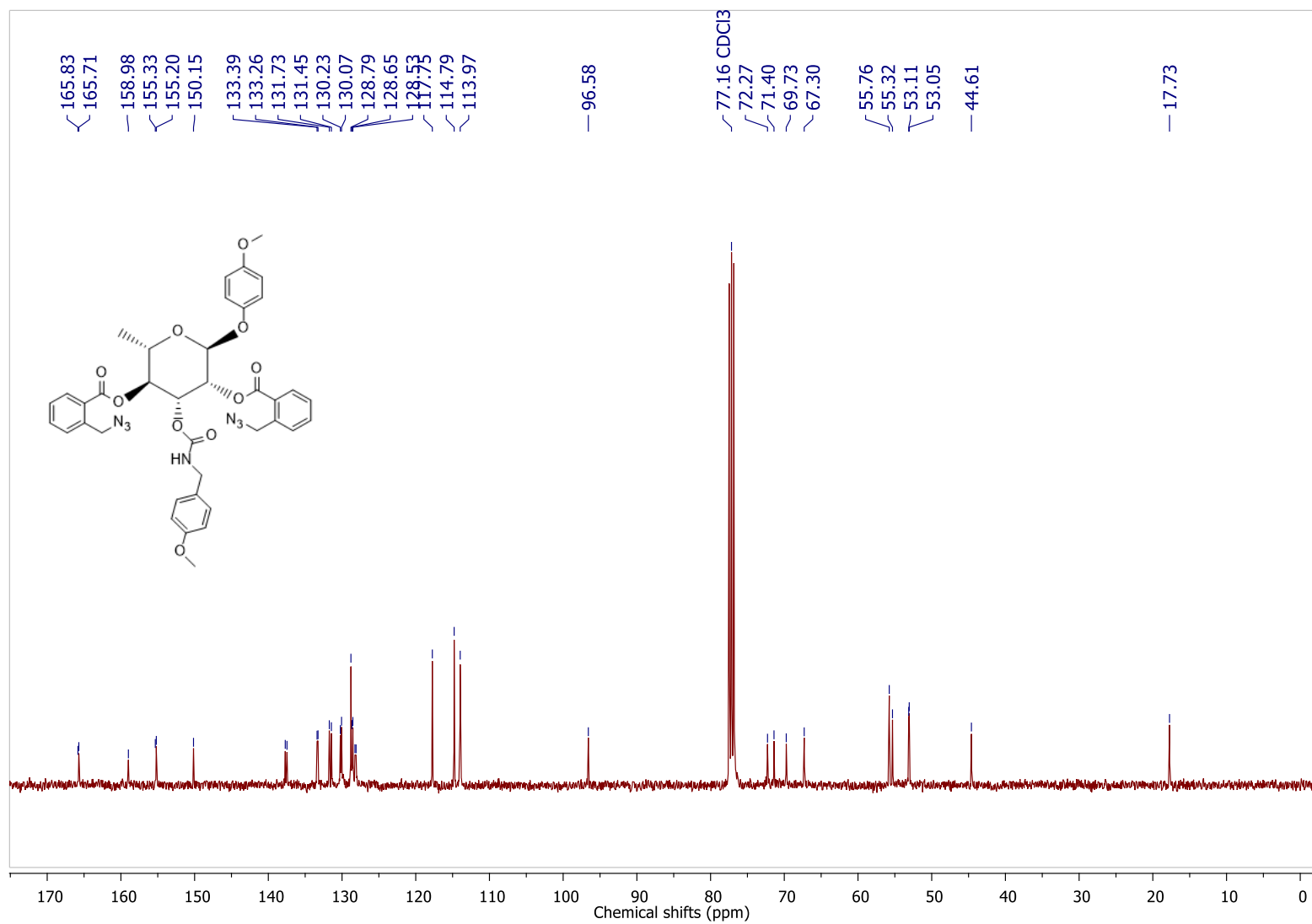


## Annexe 11: $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC and HMBC NMR Spectra of compound **11**

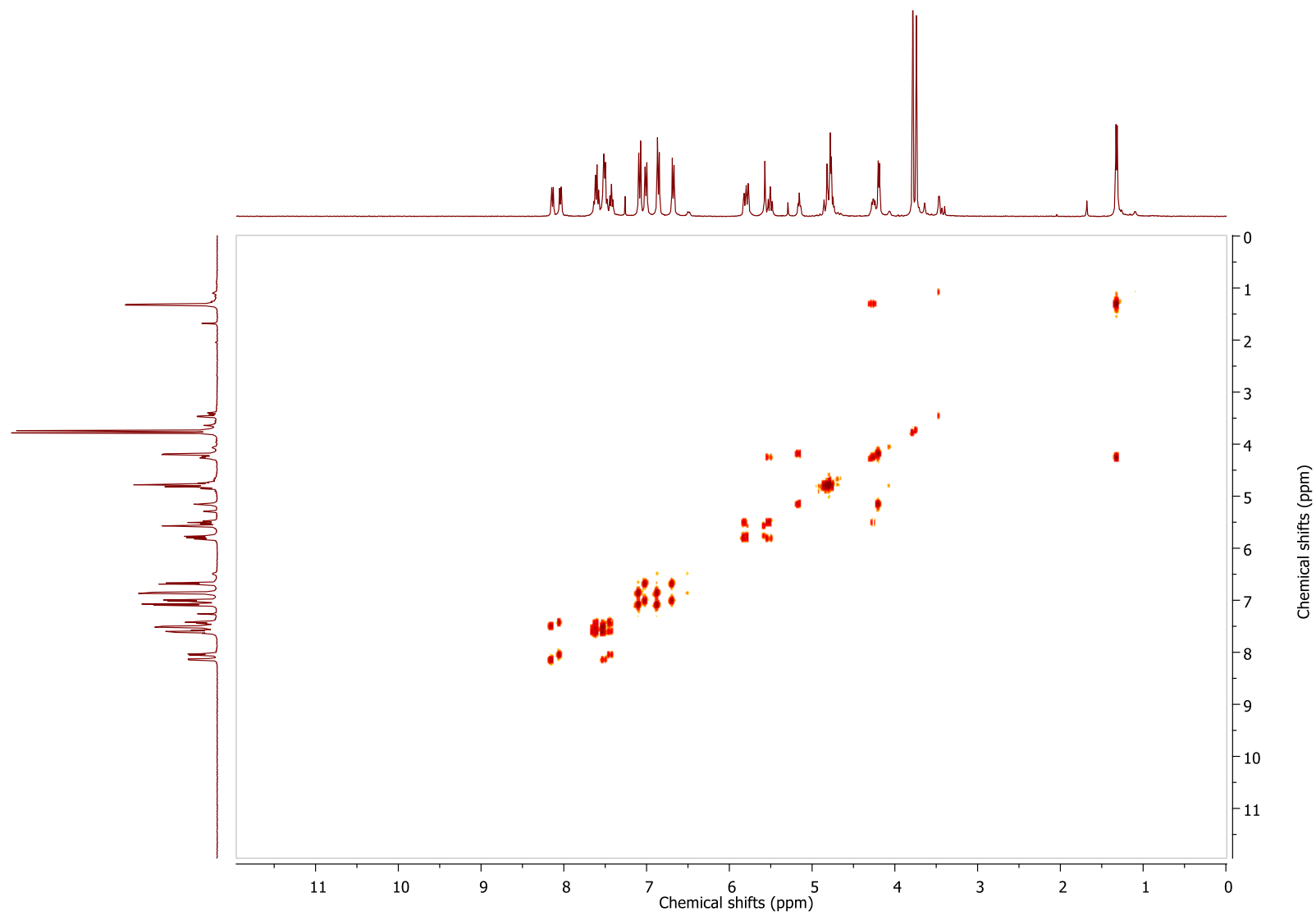
### 1. $^1\text{H}$ NMR spectrum of compound **11**



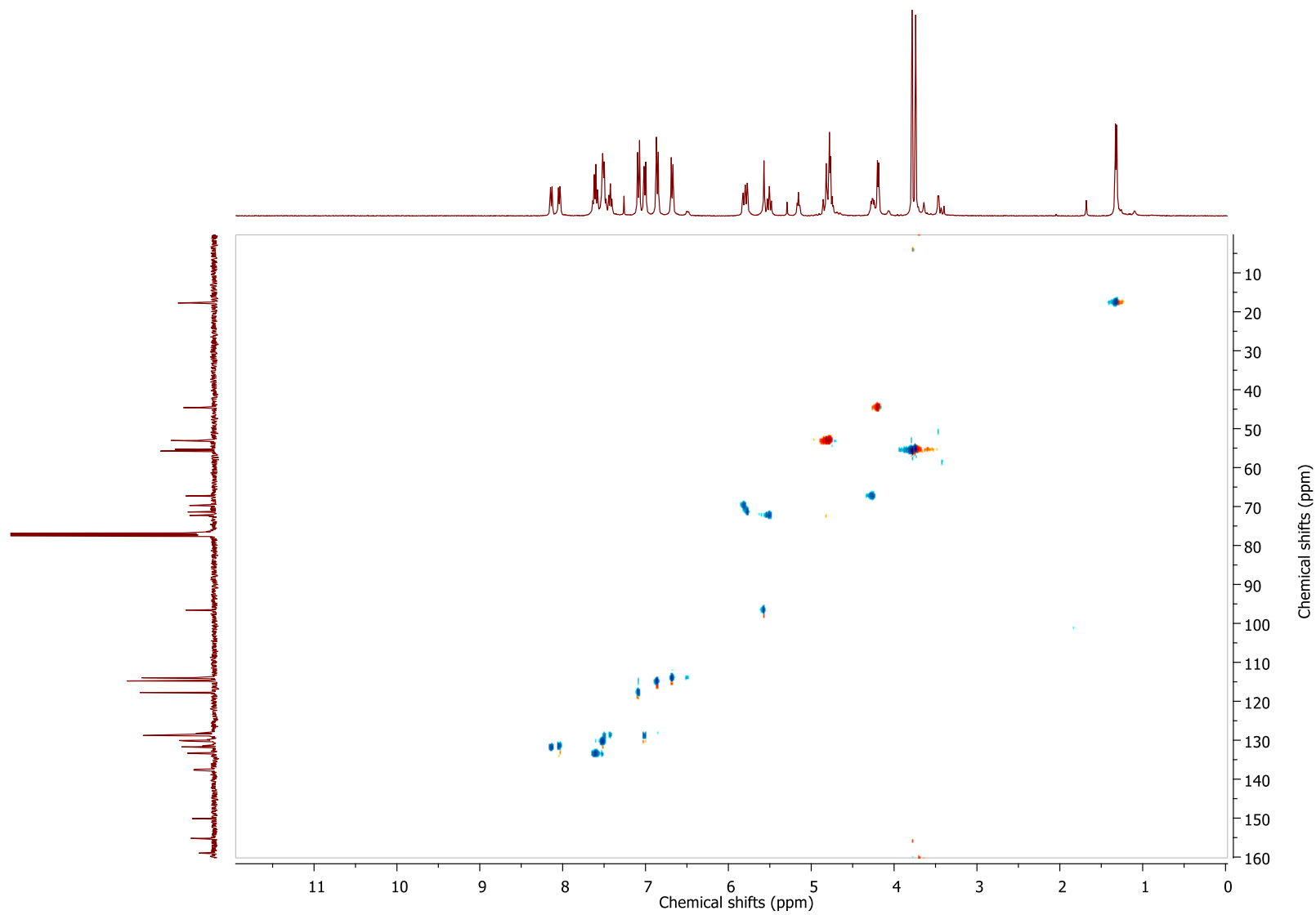
## 2. $^{13}\text{C}$ NMR spectrum of compound 11



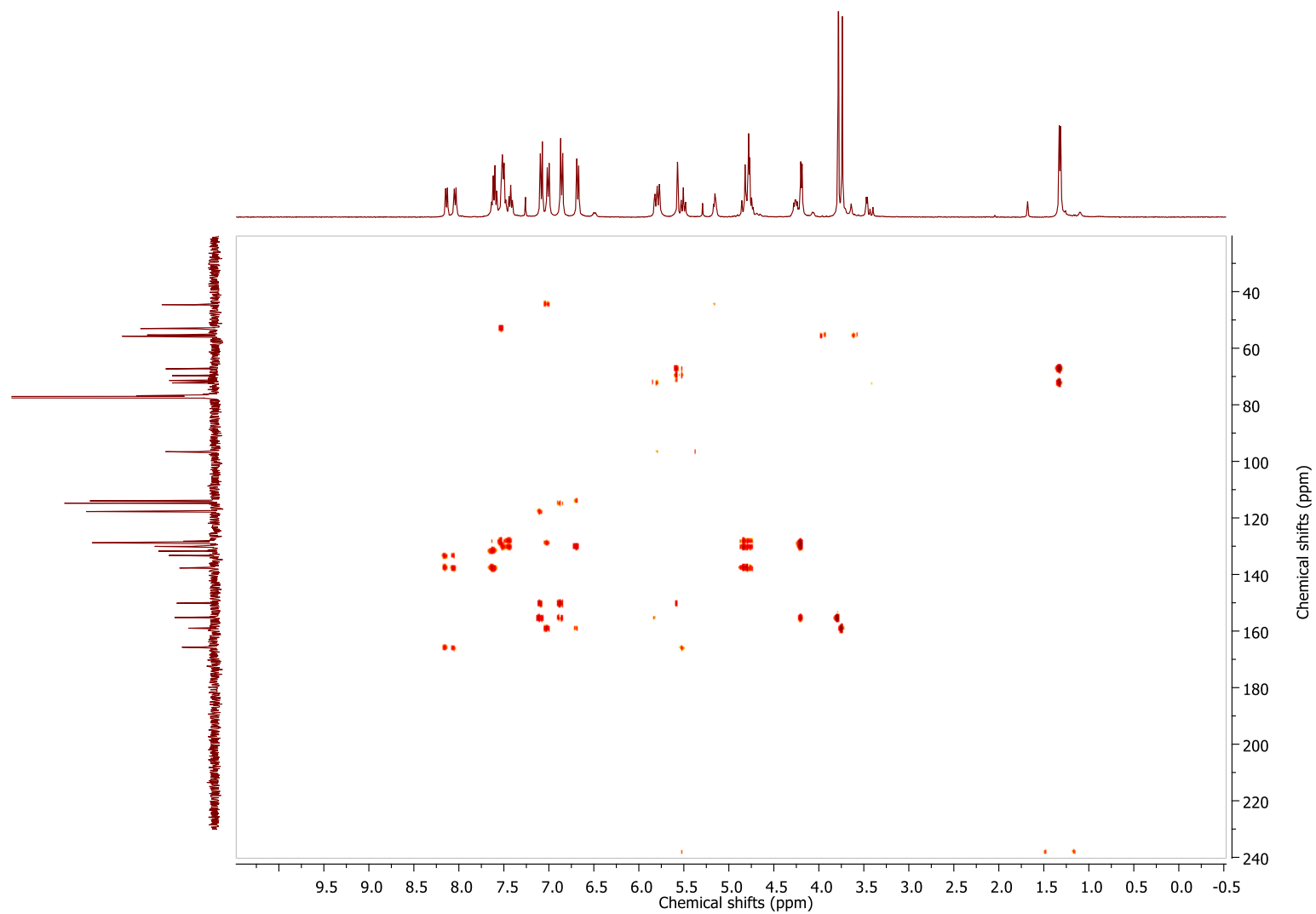
### 3. COSY NMR spectrum of compound 11



#### 4. HSQC NMR spectrum of compound 11



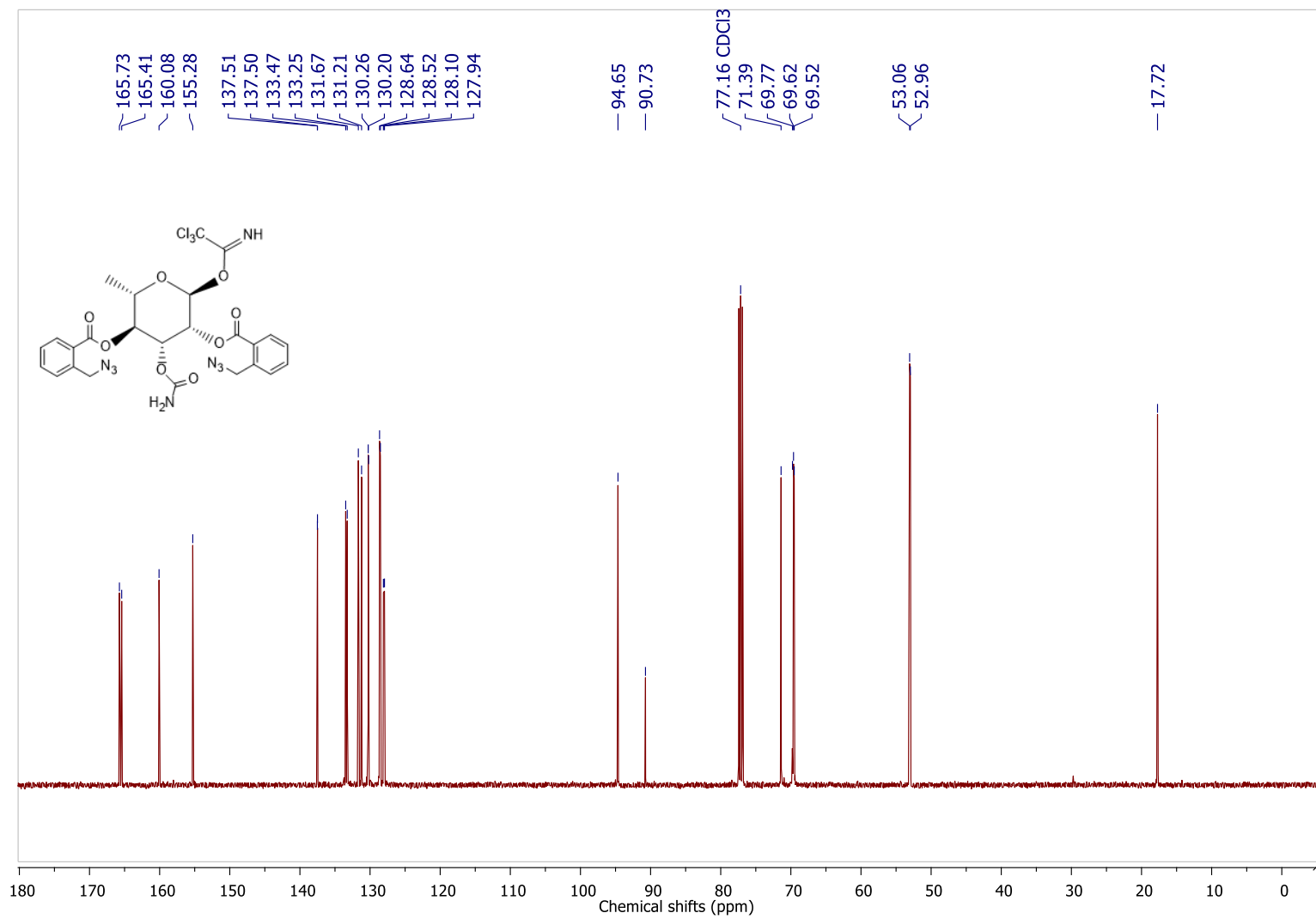
5. HMBC NMR spectrum of compound 11



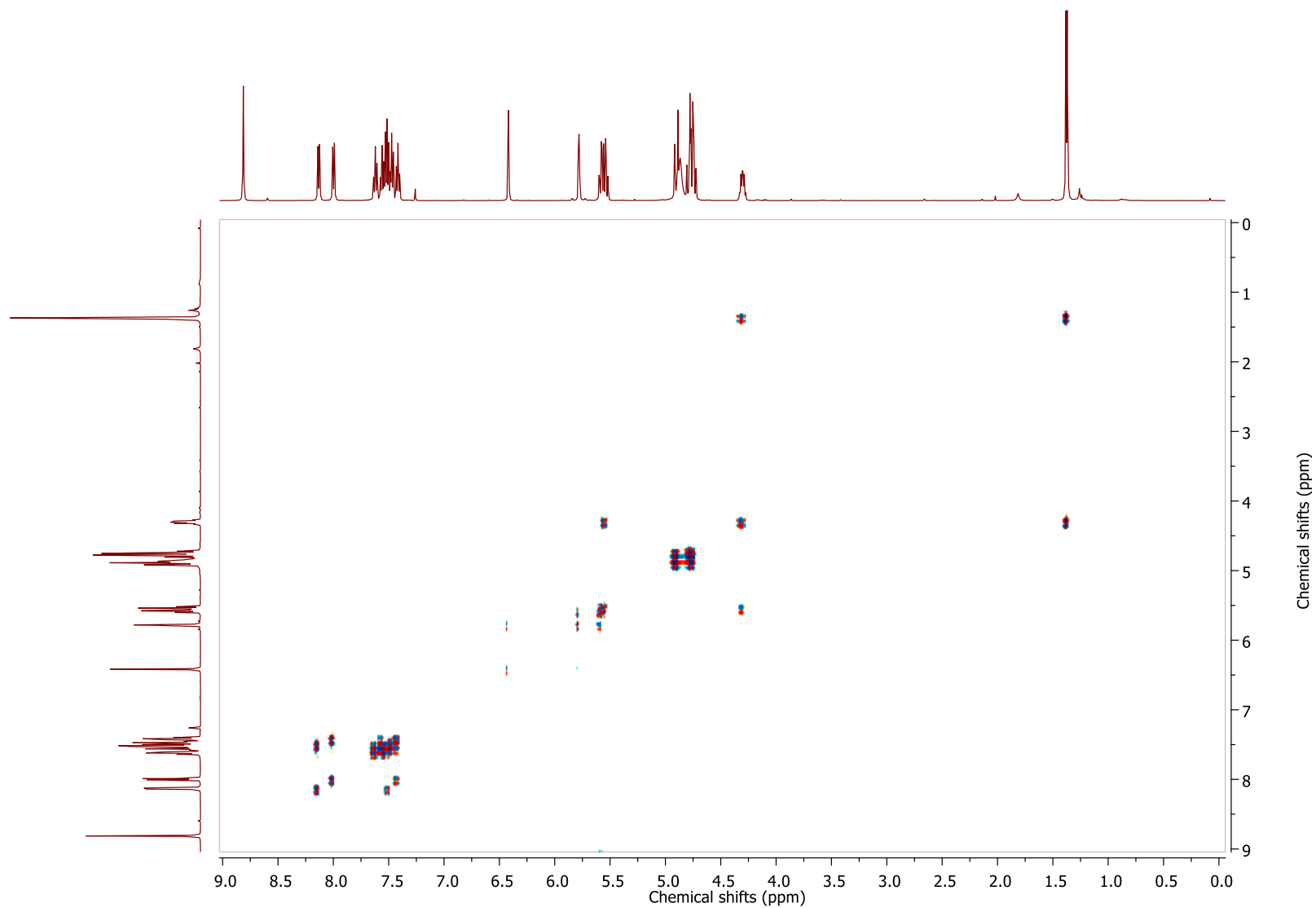




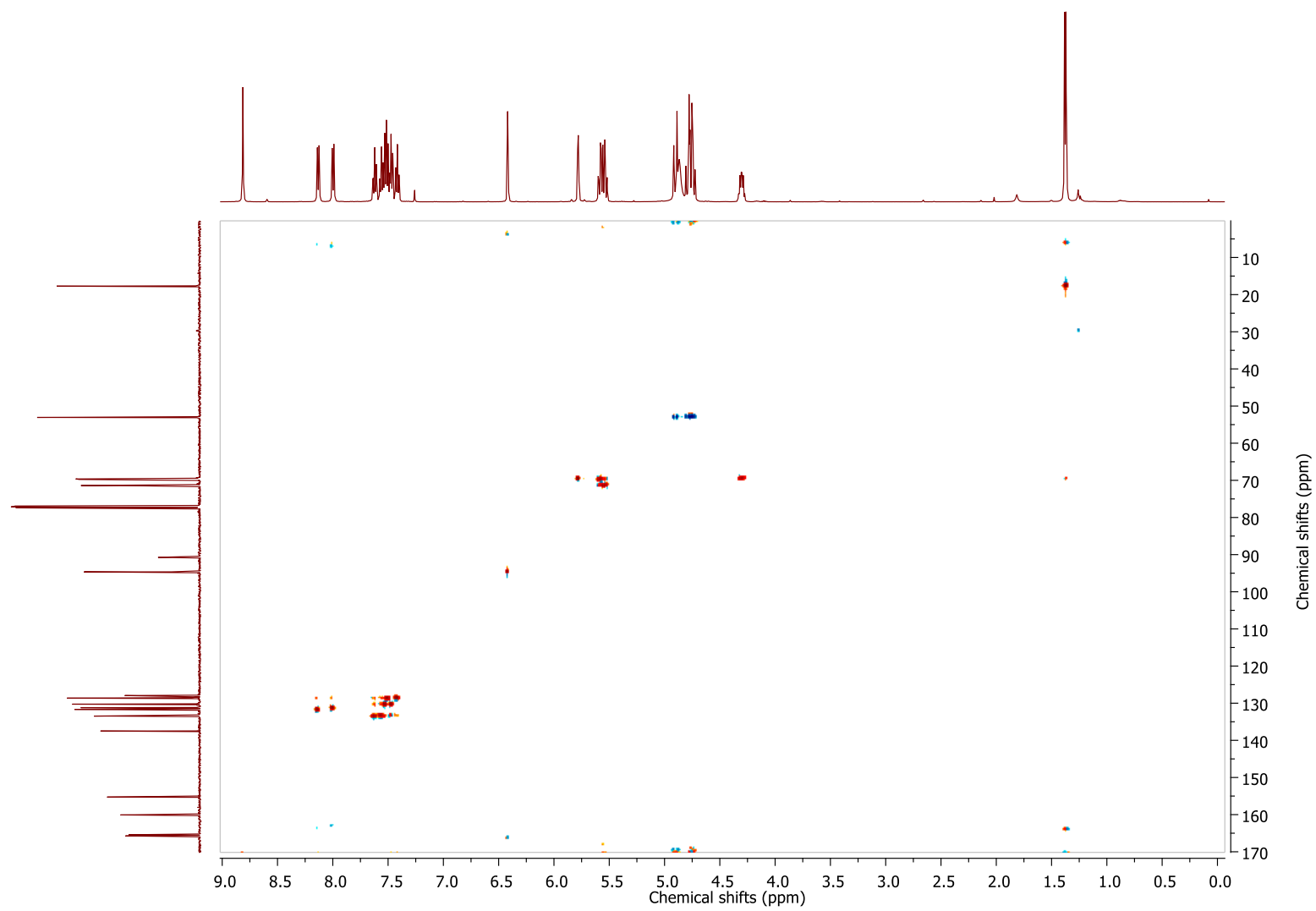
## 2. $^{13}\text{C}$ NMR spectrum of compound 12



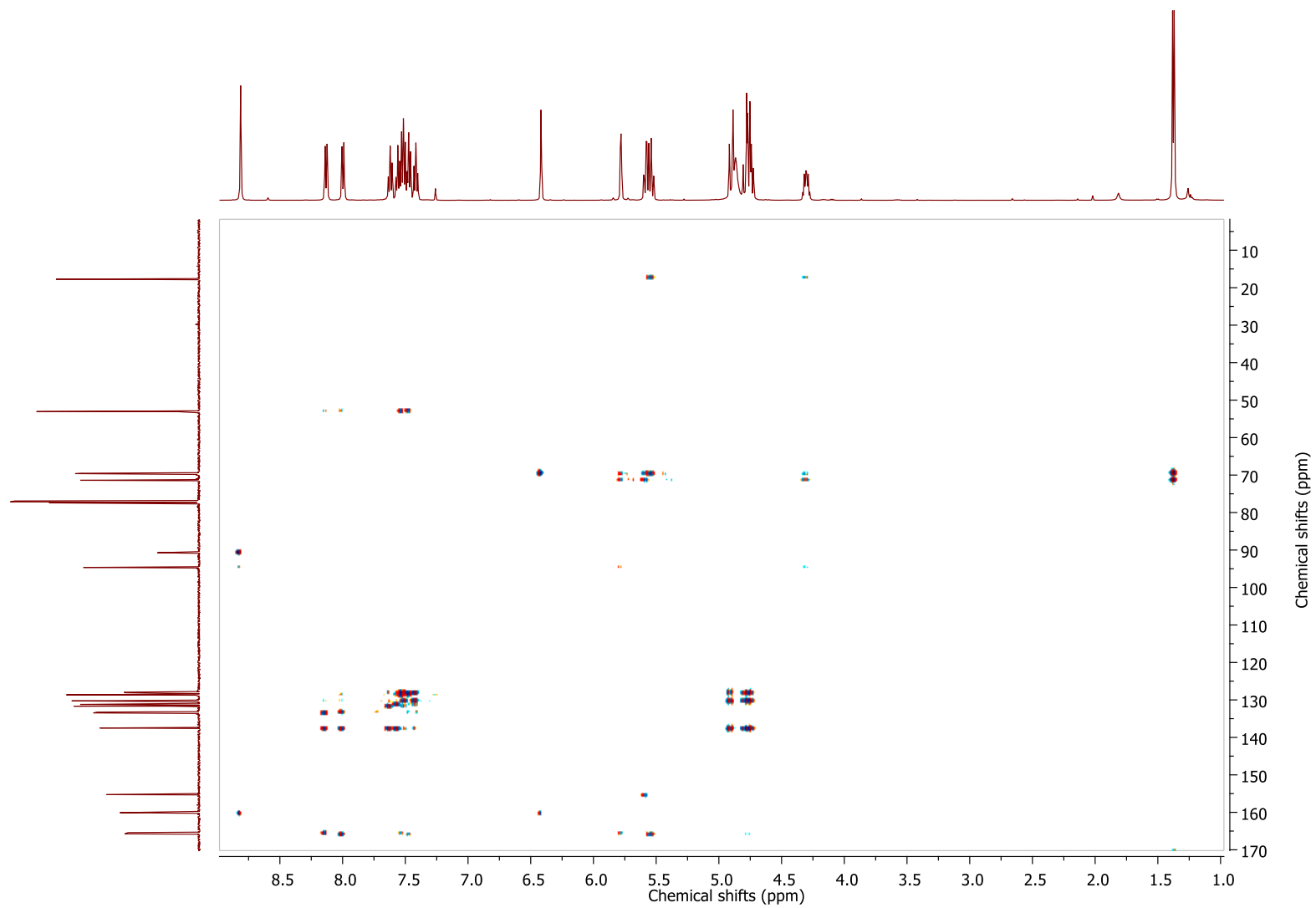
### 3. COSY NMR spectrum of compound 12



#### 4. HSQC NMR spectrum of compound 12

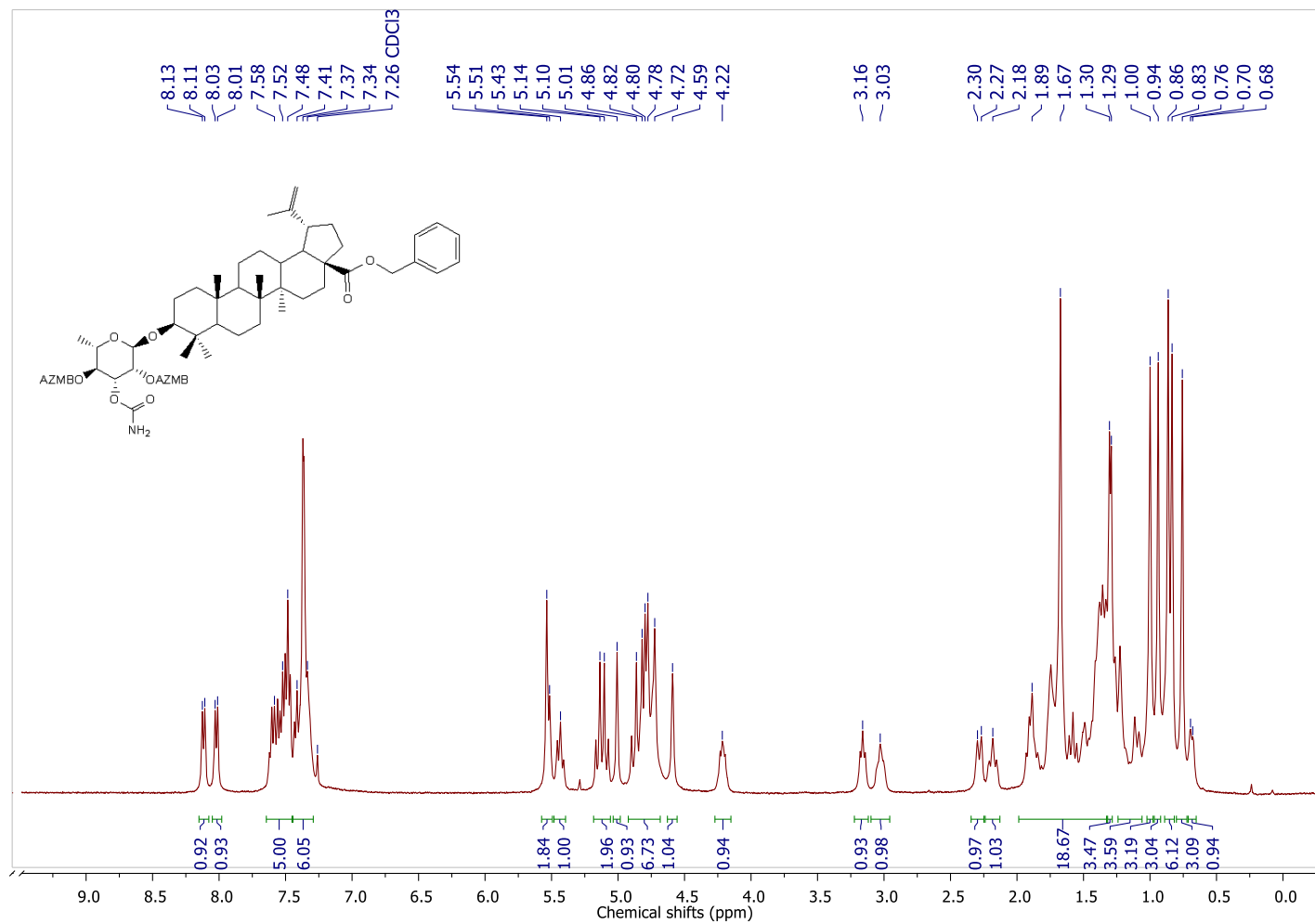


## 5. HMBC NMR spectrum of compound 12

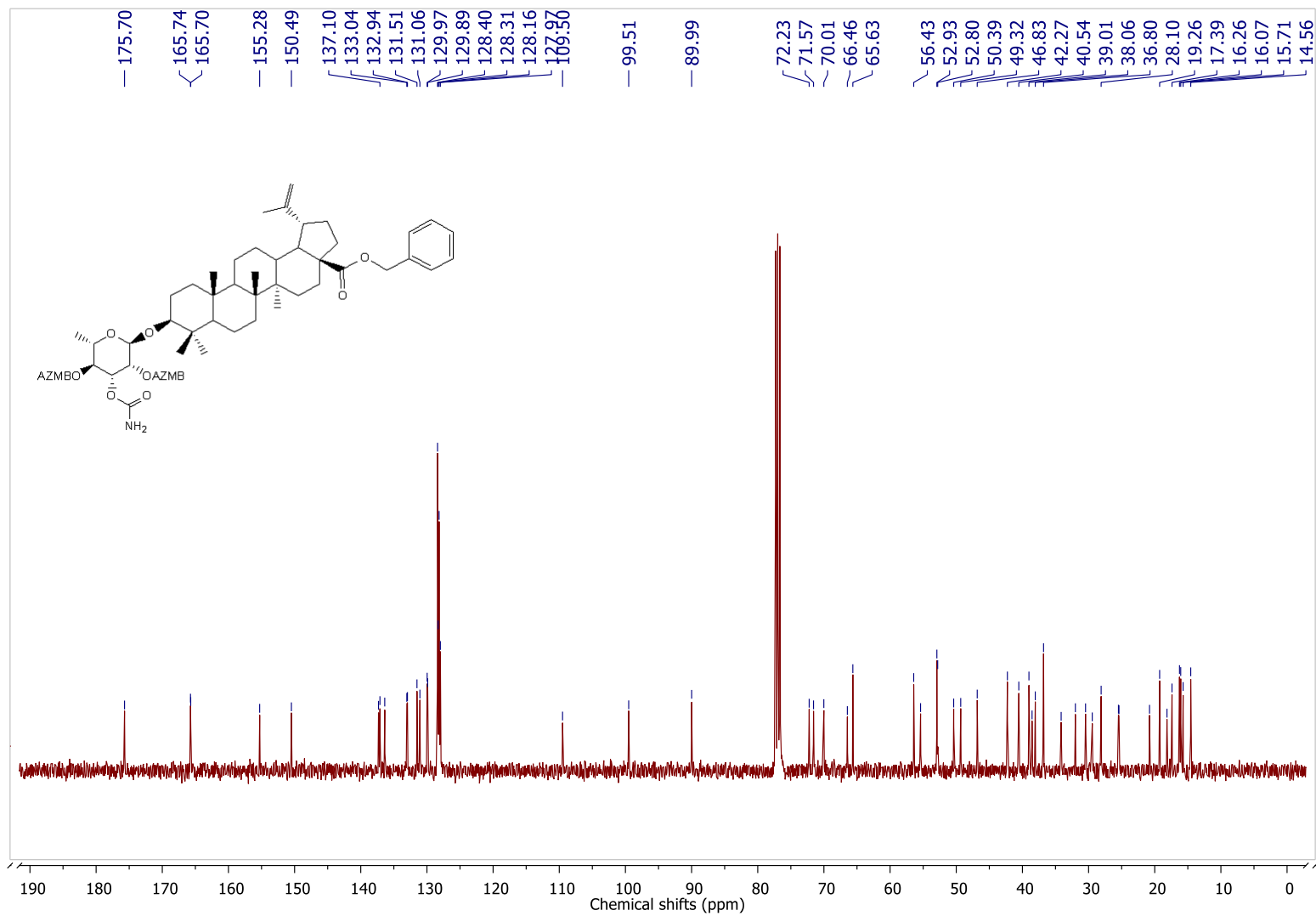


# Annexe 13: $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC and HMBC NMR Spectra of compound 13

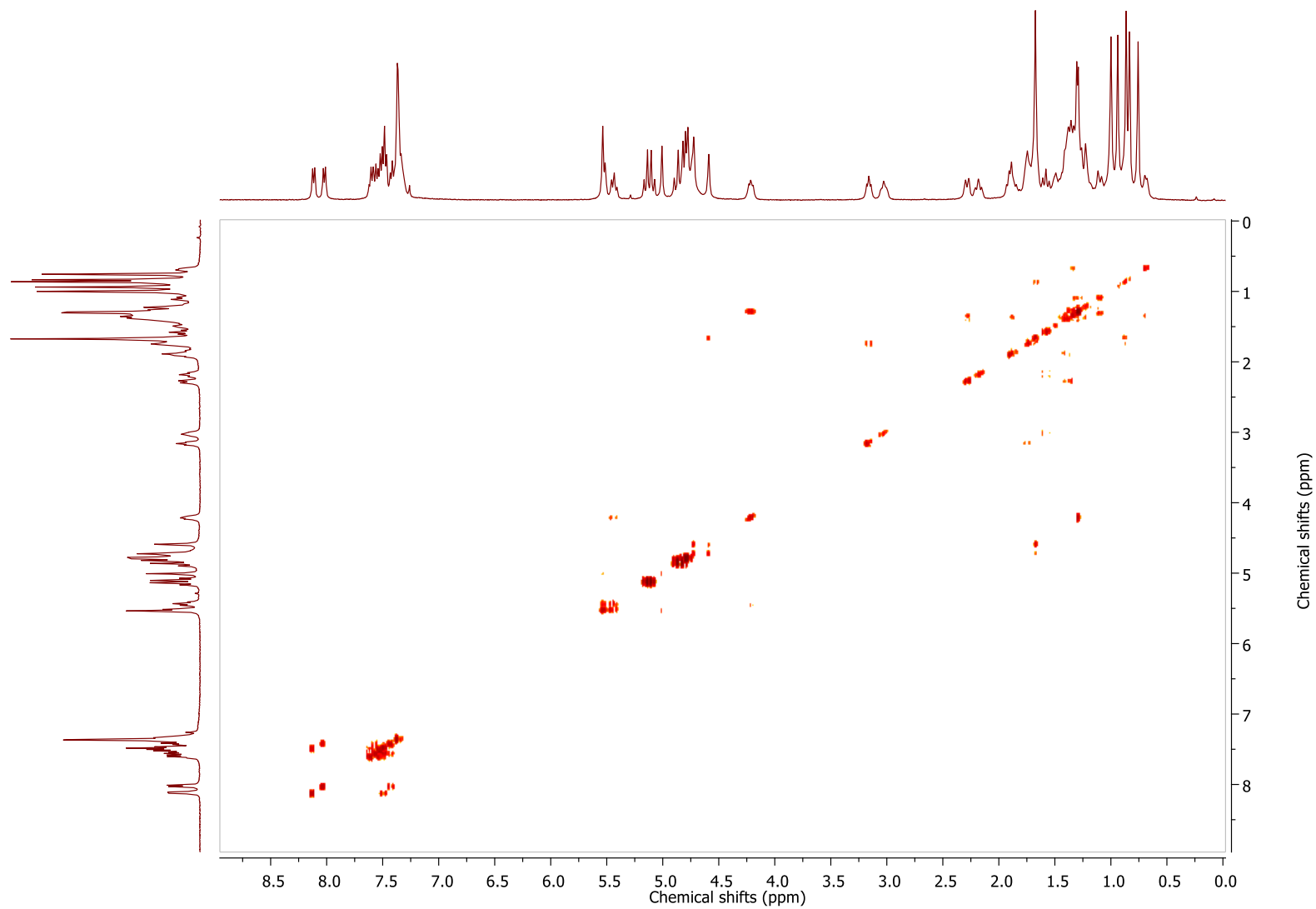
## 1. $^1\text{H}$ NMR spectrum of compound 13



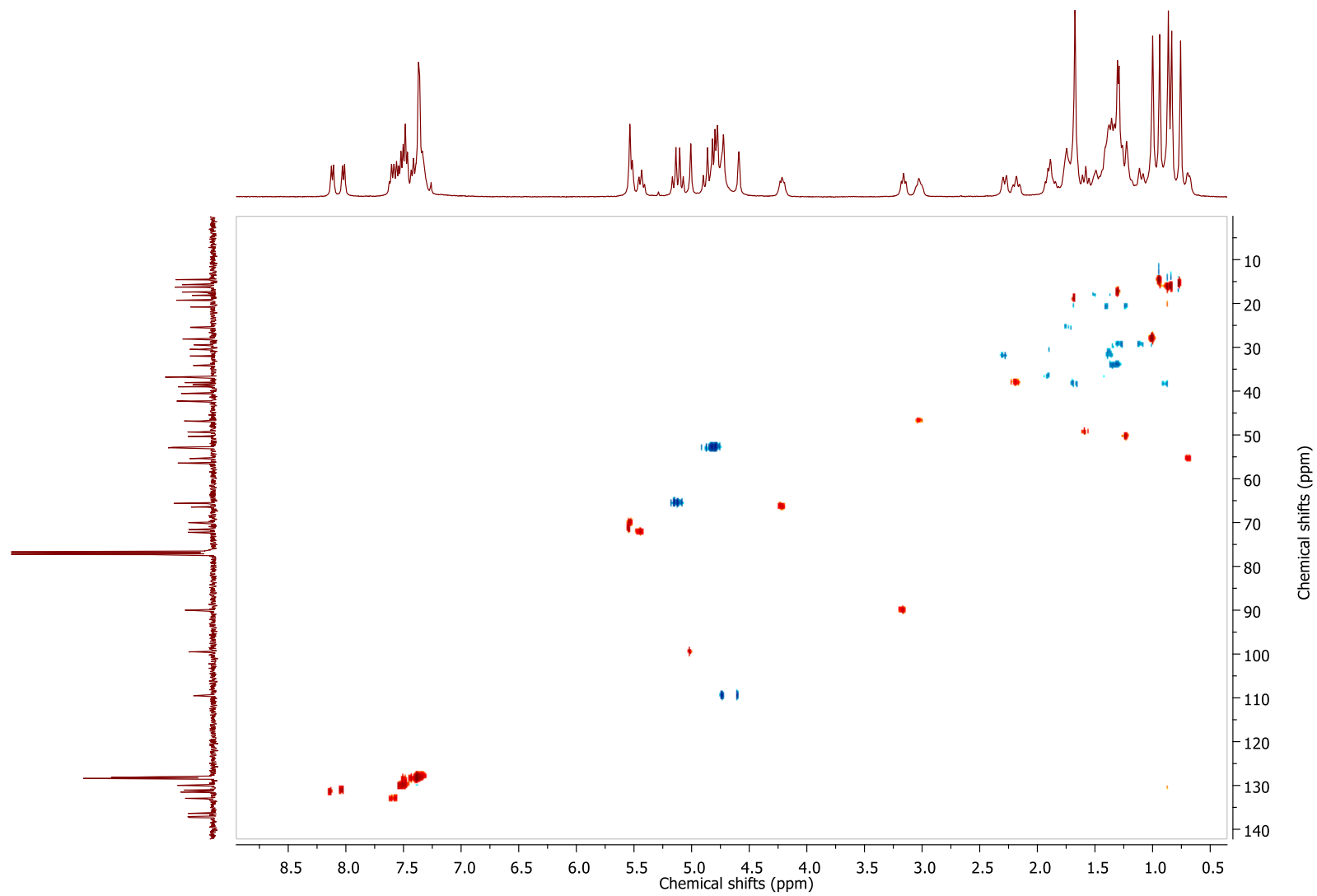
## 2. $^{13}\text{C}$ NMR spectrum of compound 13



### 3. COSY NMR spectrum of compound 13

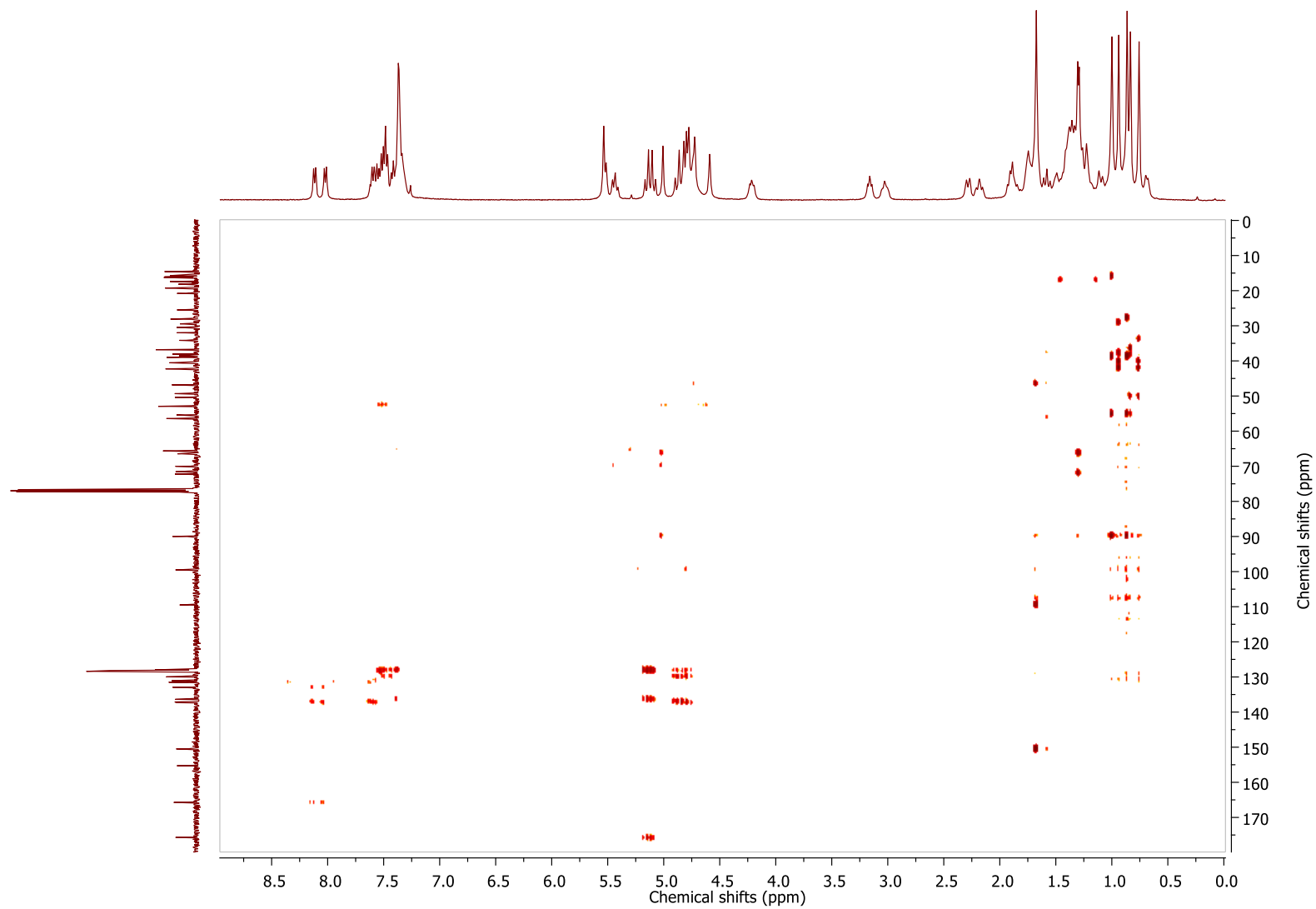


#### 4. HSQC NMR spectrum of compound 13



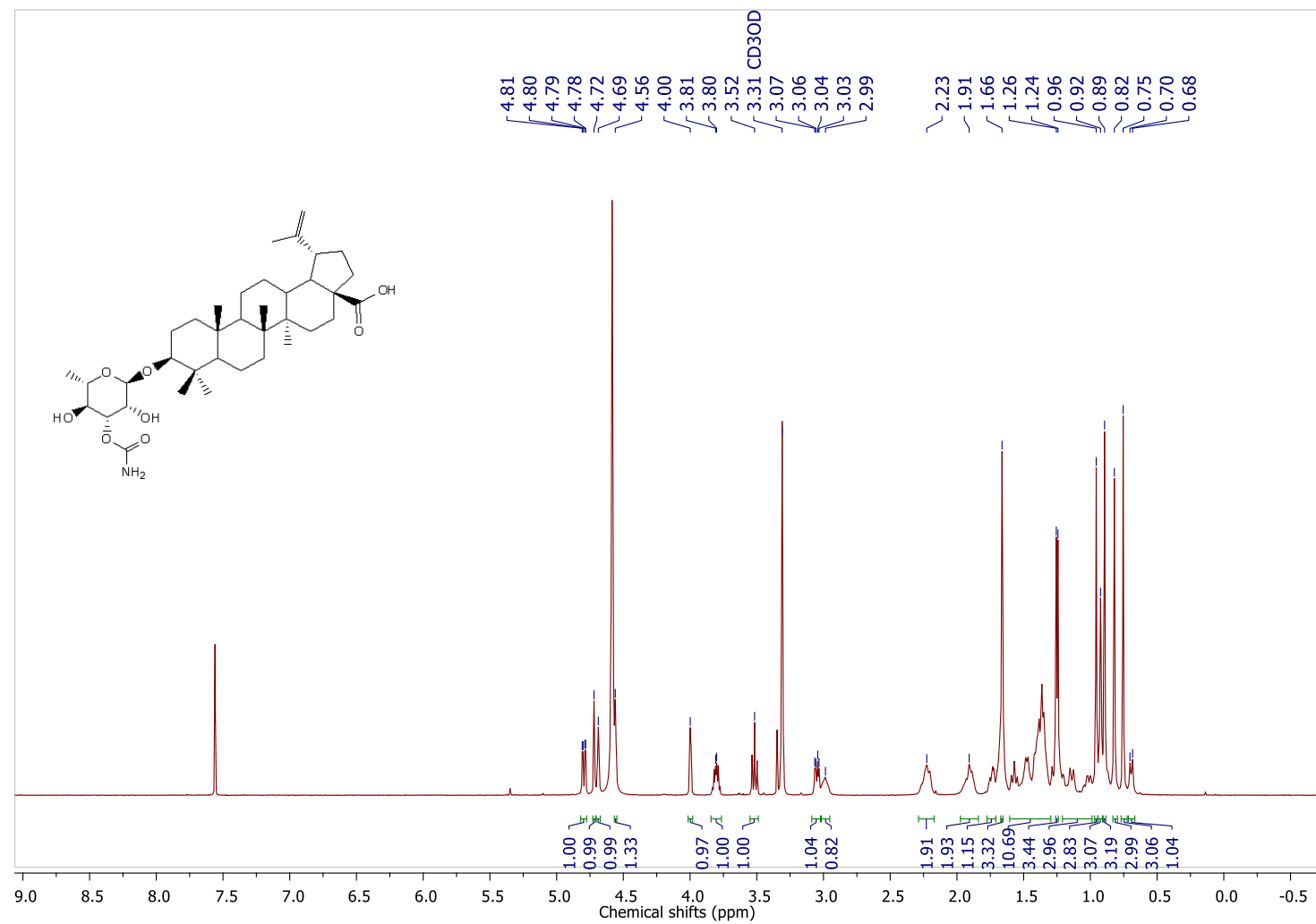


## 5. HMBC NMR spectrum of compound 13

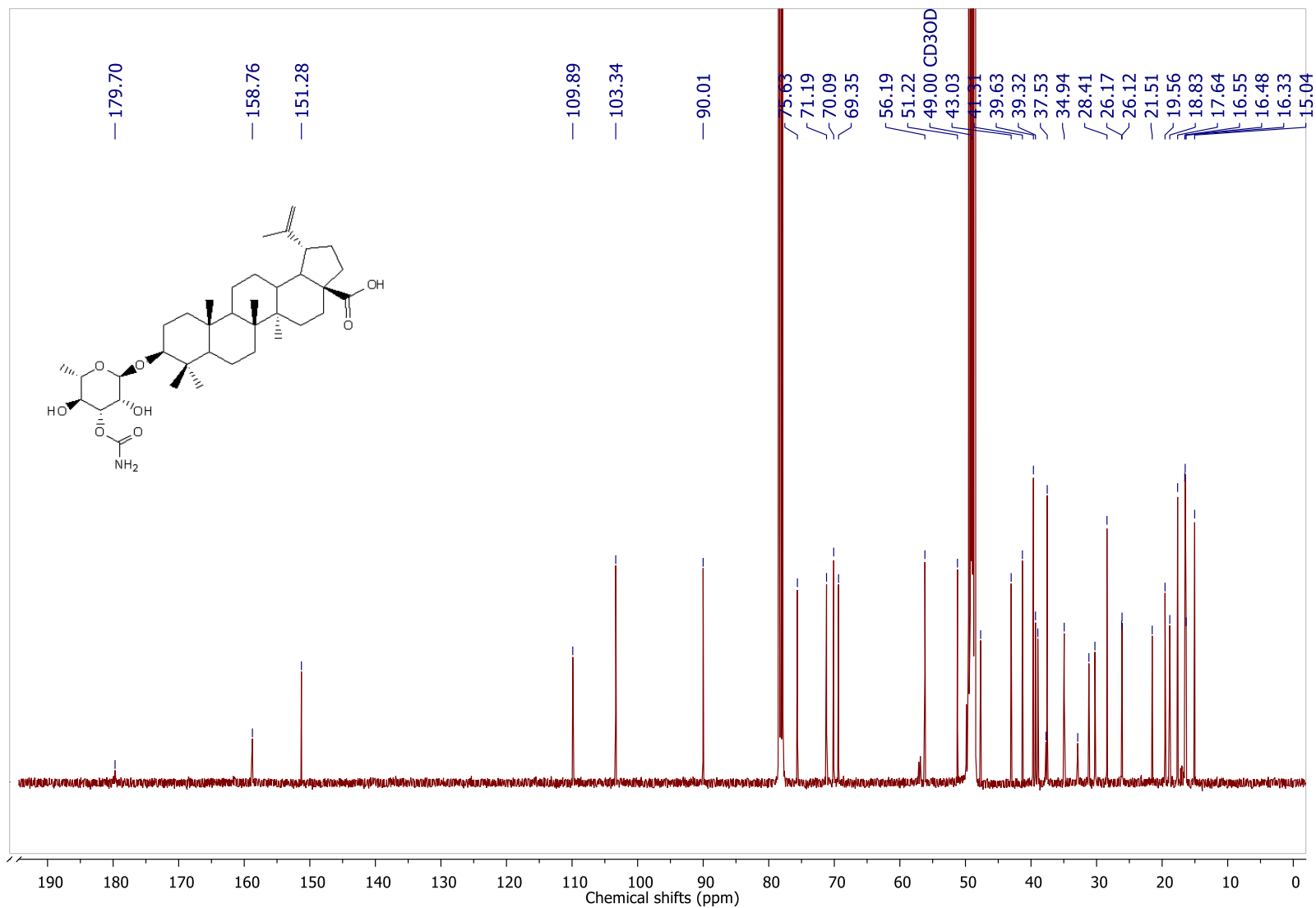


# Annexe 14: $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC and HMBC NMR Spectra of compound 14

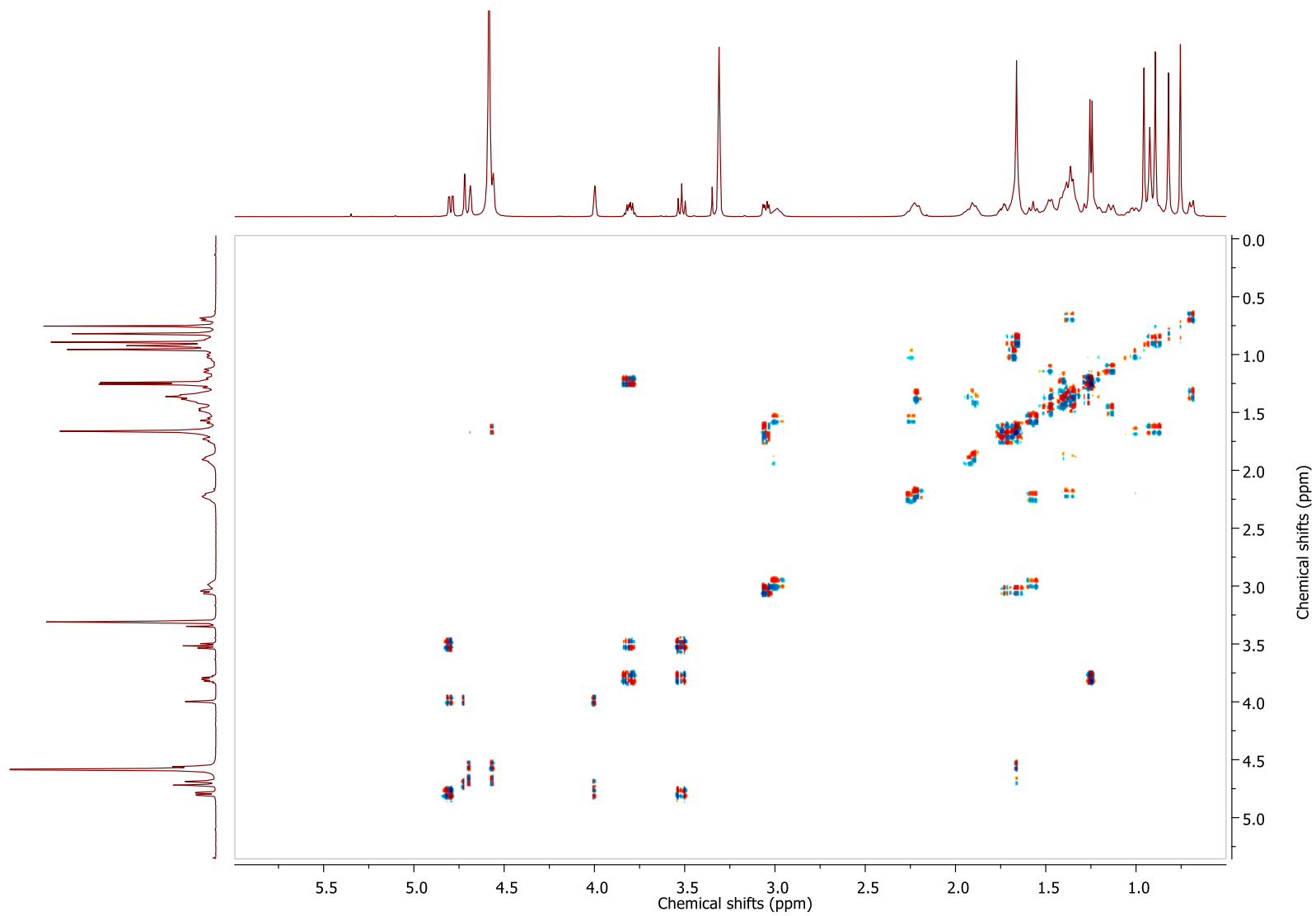
## 1. $^1\text{H}$ NMR spectrum of compound 14



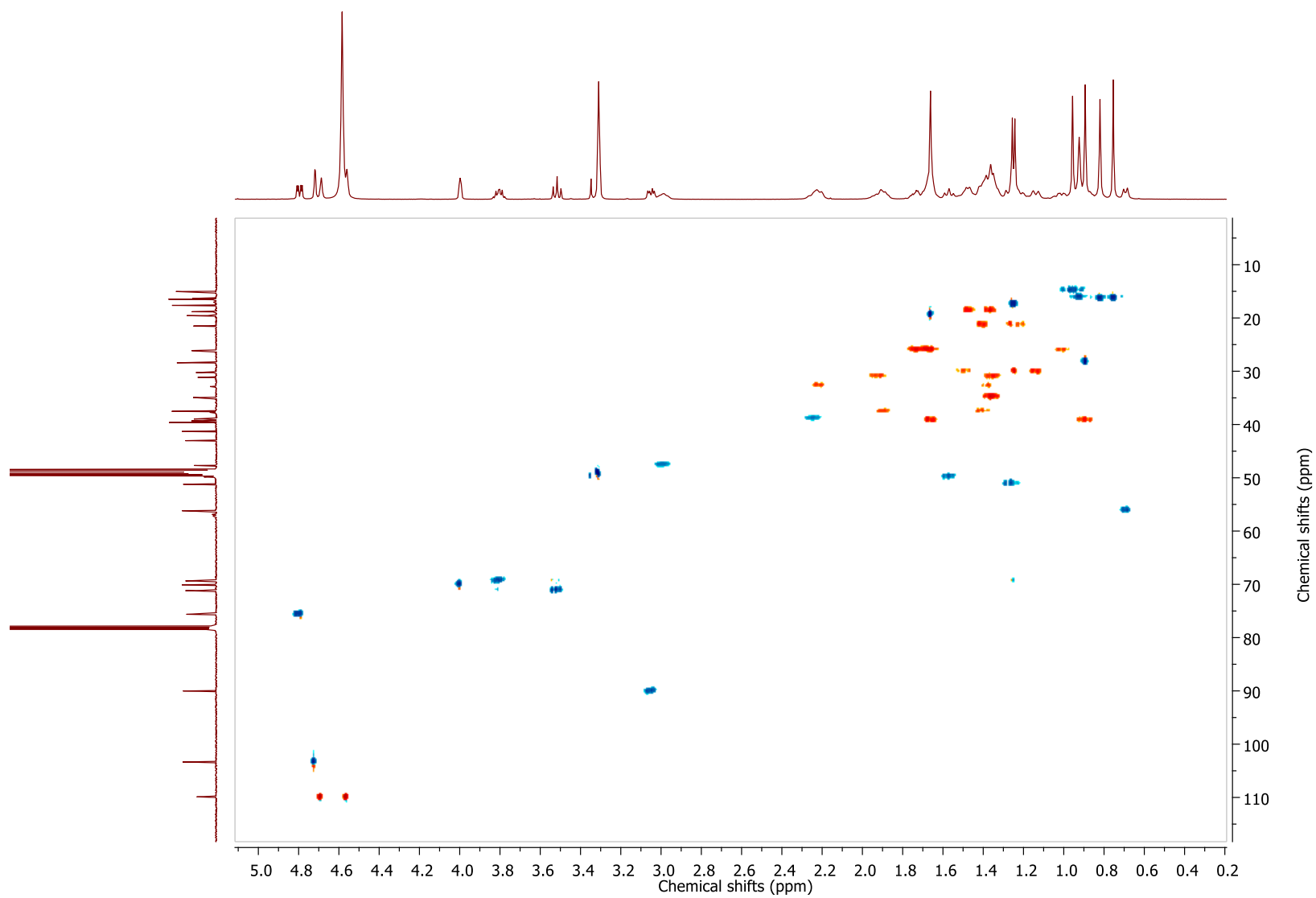
2.  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of compound 14



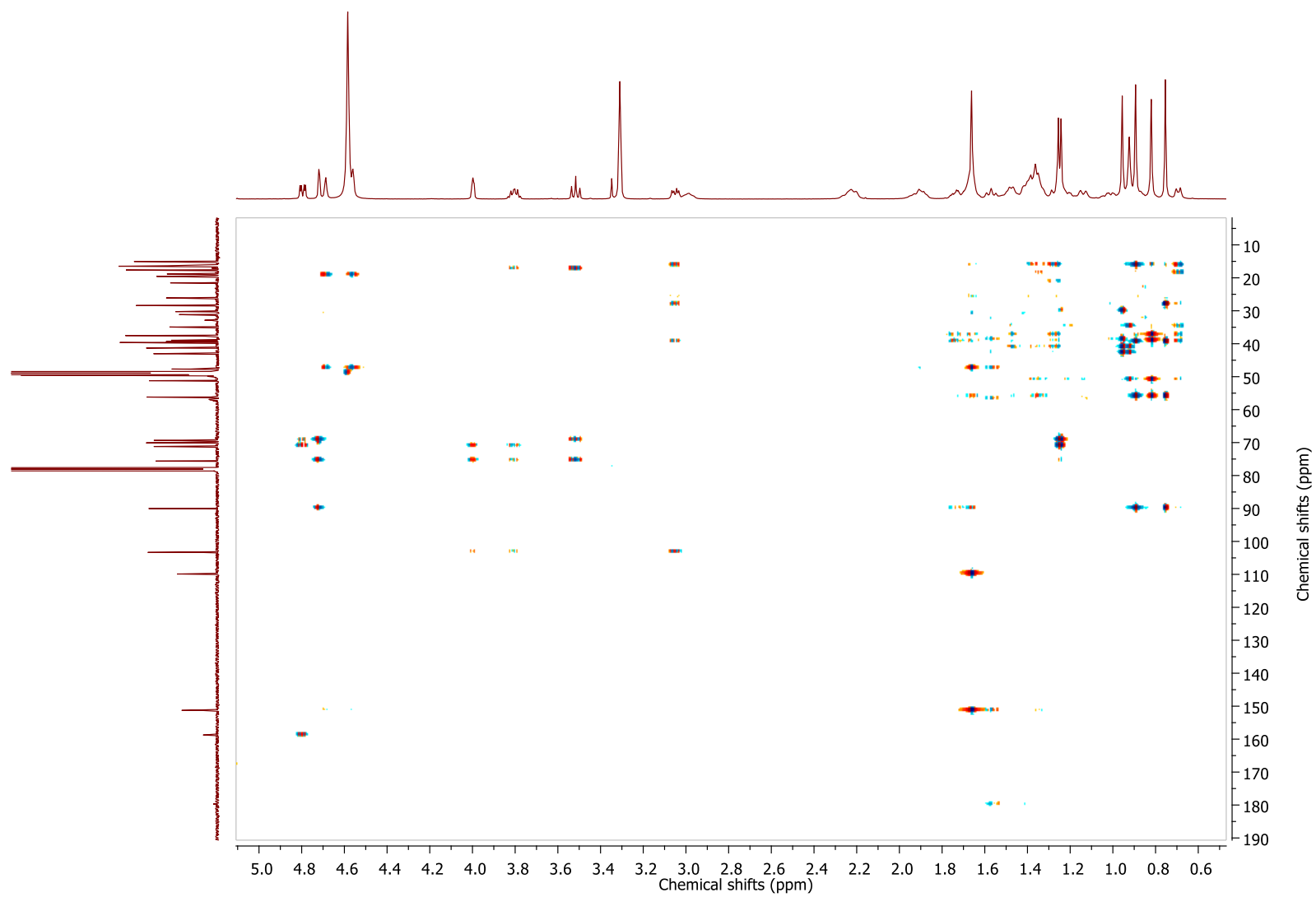
### 3. COSY NMR spectrum of compound 14



#### 4. HSQC NMR spectrum of compound 14

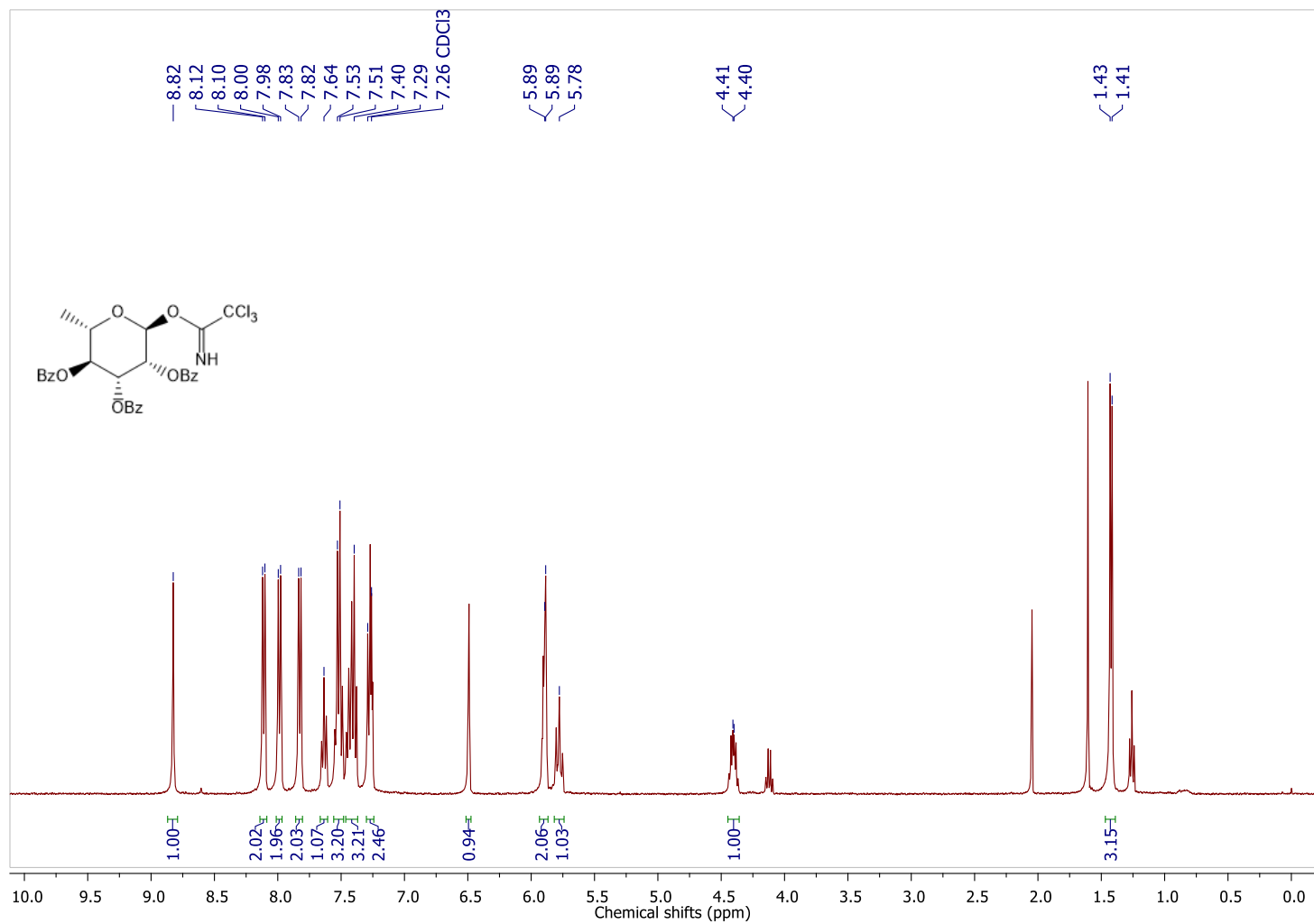


5. HMBC NMR spectrum of compound 14

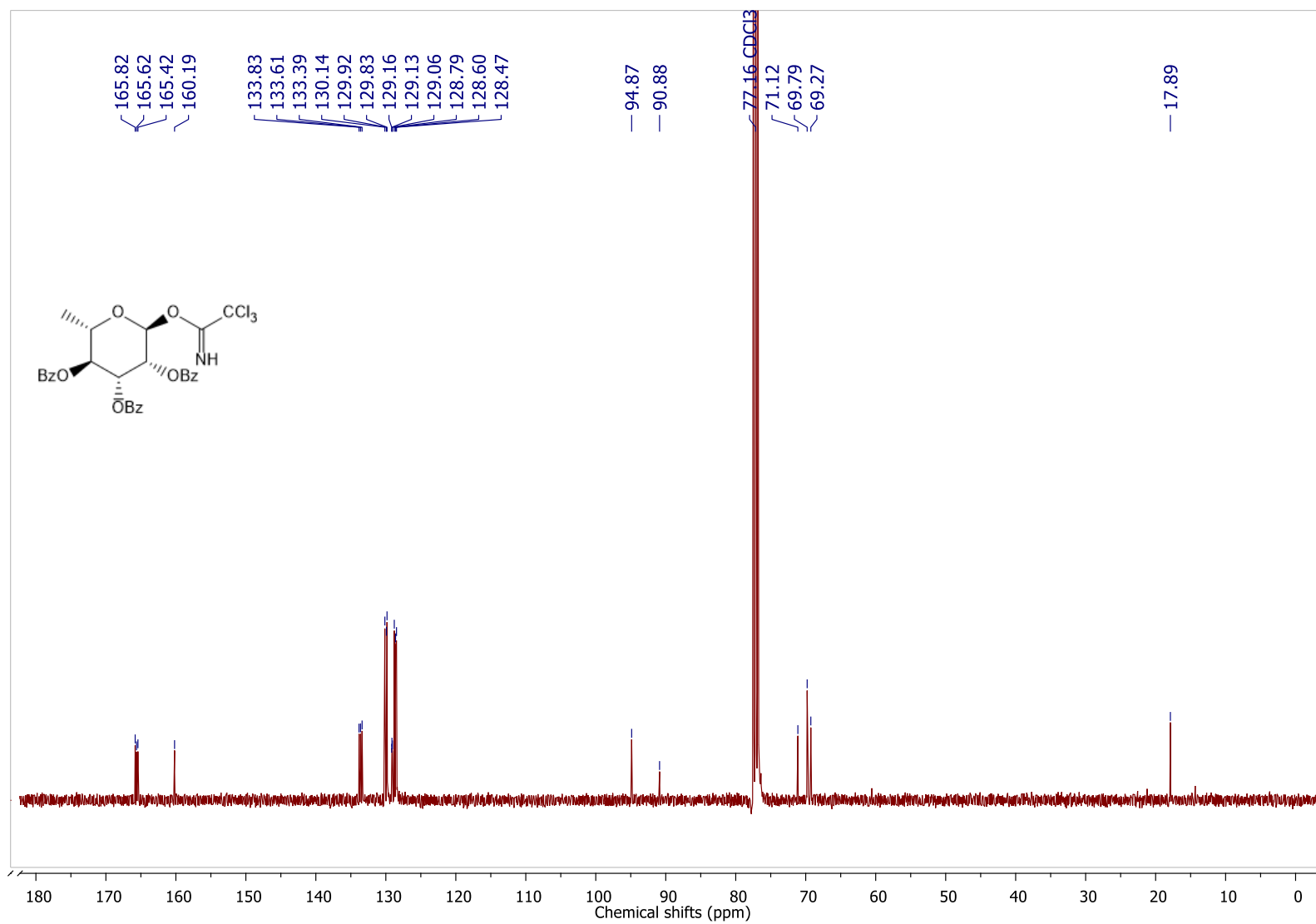


## Annexe 15: $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR Spectra of compound 15

### 1. $^1\text{H}$ NMR spectrum of compound 15



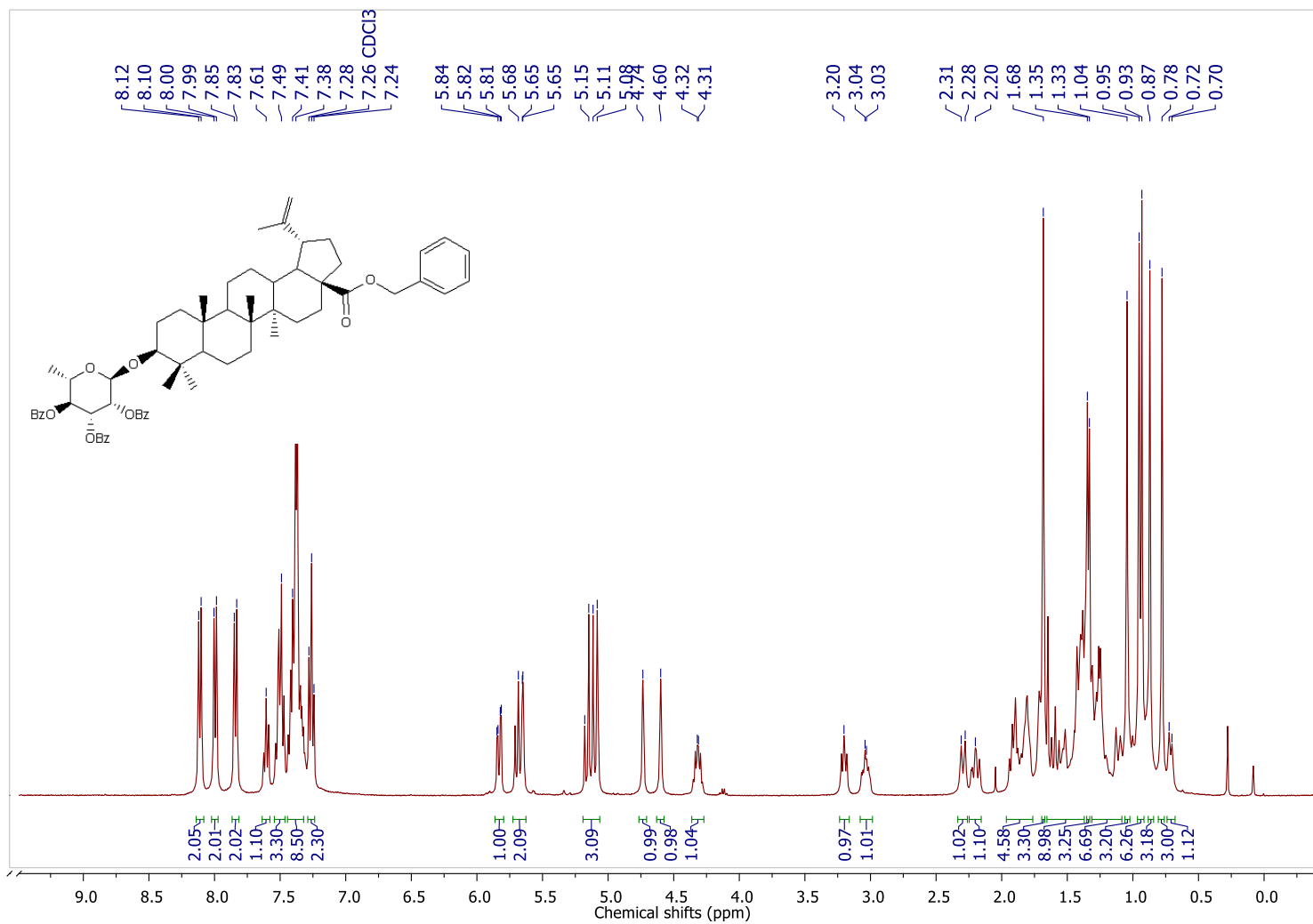
2.  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of compound 15



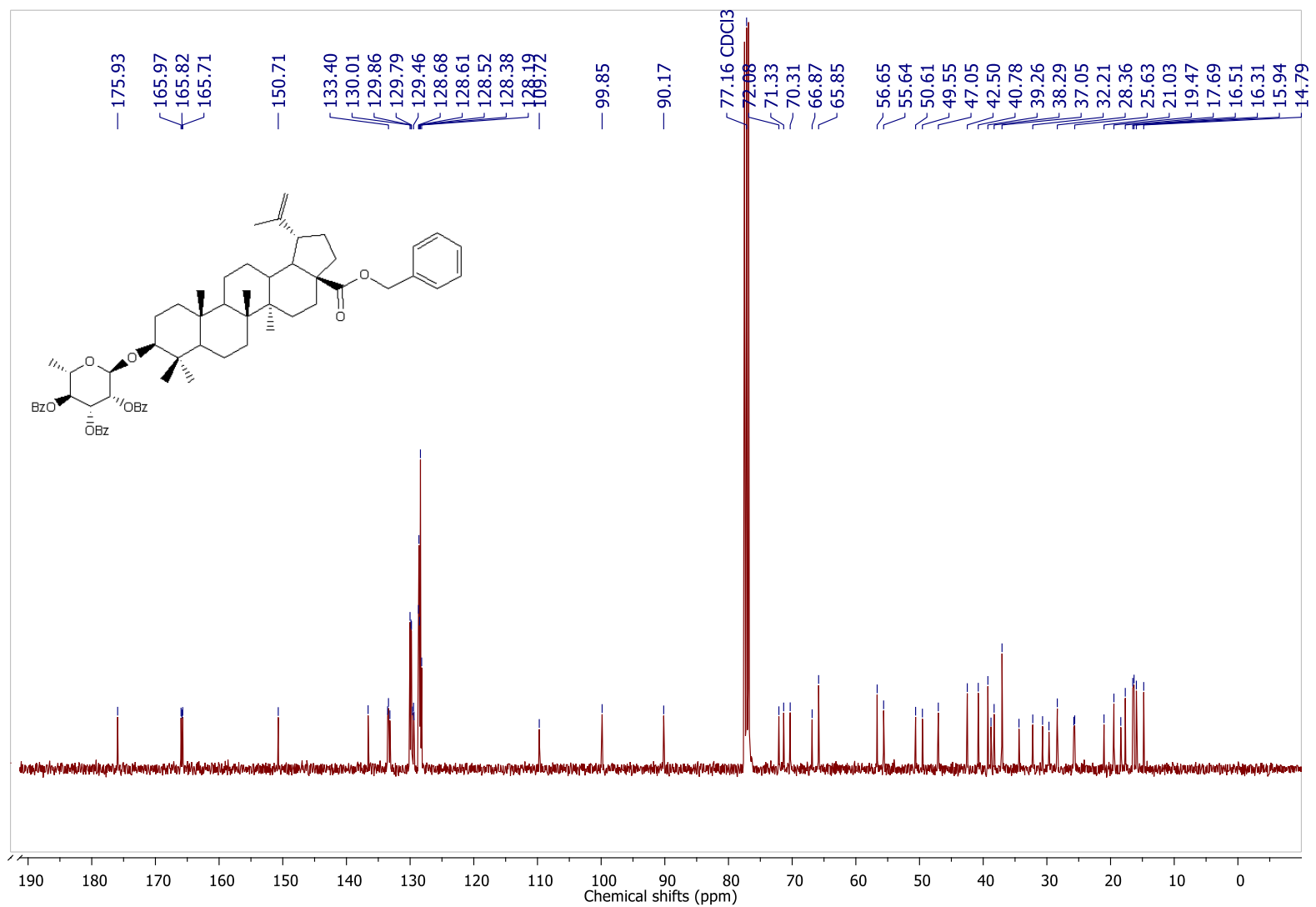


## Annexe 16 : $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR Spectra of compound 16

### 1. $^1\text{H}$ NMR spectrum of compound 16

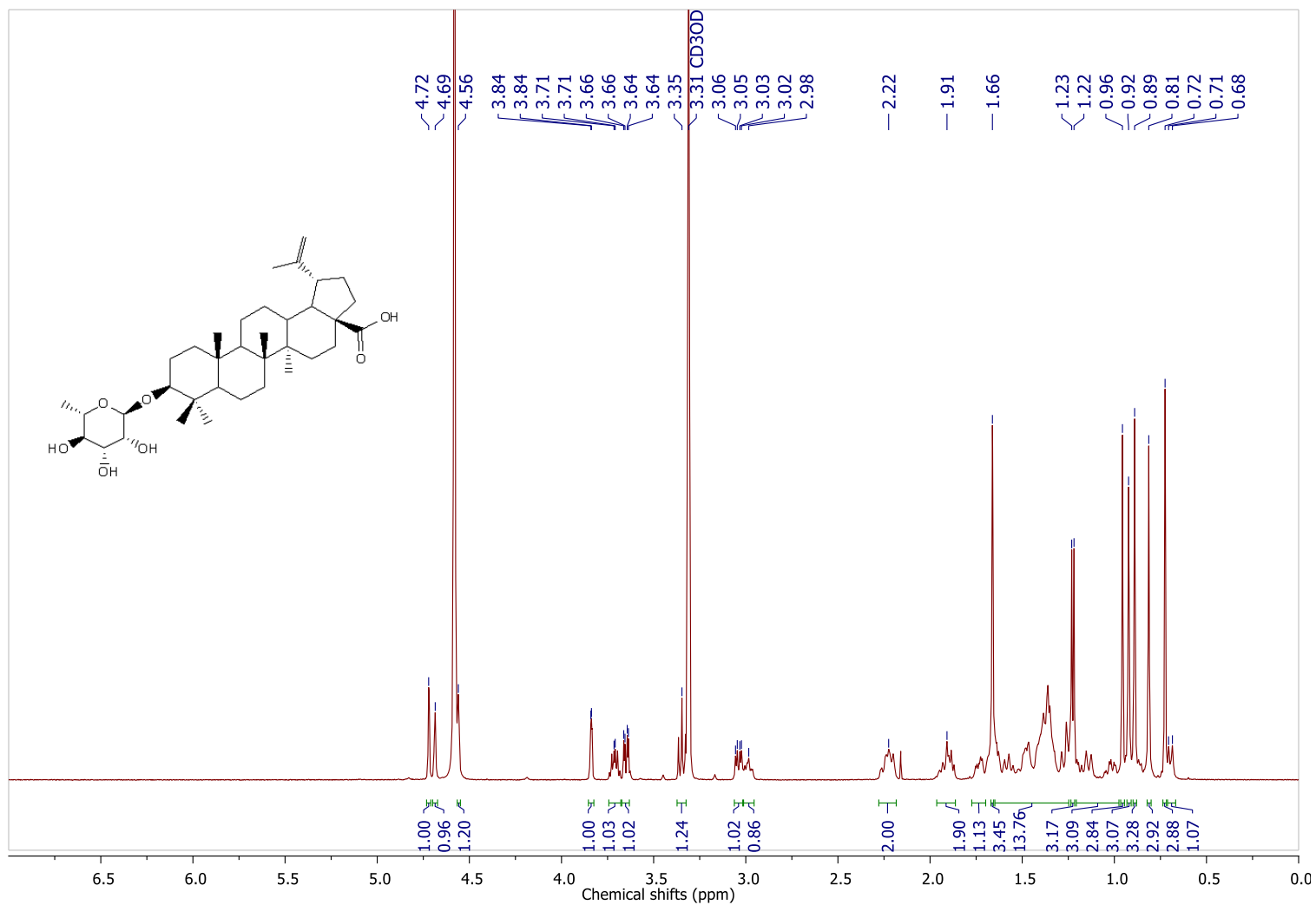


## 2. $^{13}\text{C}$ NMR spectrum of compound 16



## Annexe 17 : $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR Spectra of compound 17

### 1. $^1\text{H}$ NMR spectrum of compound 17



2.  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of compound 17

