

MISE EN ÉVIDENCE DE NOUVEAUX ANALOGUES DU TAXOL EXTRAITS DE *TAXUS BACCATA*

V. SÉNILH, S. BLECHERT, M. COLIN,¹ D. GUÉNARD,* F. PICOT, P. POTIER, et P. VARENNE

Institut de Chimie des Substances Naturelles du CNRS, 91190 Gif-sur-Yvette, France

ABSTRACT.—Ethanolic extraction of the trunk bark of *Taxus baccata* L. (yew) and subsequent purification of active compounds (monitored by biological testing: "tubuline test") led to the isolation of new derivatives of taxol. These new products all bear a xylose unit at C-7. Other, less active or inactive compounds related to taxol are also described.

Depuis l'isolement, par Wani et al. en 1971 (1), du taxol, composé terpénique présentant de très bonnes activités antileucémiques et antitumorales, l'extraction de dérivés possédant le squelette taxane a connu un regain d'intérêt. Plusieurs variétés d'If ont servi de matière première: *Taxus baccata*, *Taxus brevifolia*, *Taxus cuspidata*, *Taxus wallichiana* (2-4). En 1979, Schiff et Horwitz mettaient en évidence l'interaction de ces produits avec la tubuline, protéine ubiquiste responsable entre autres de la formation du fuseau mitotique (5) et, plus tard, confirmaient l'action du taxol sur les phases G2 et M du cycle cellulaire (6). Le taxol se différencie des autres poisons du fuseau mitotique (colchicine, vinblastine, etc.) par le fait qu'il agit en tant que promoteur de la polymérisation de la tubuline en microtubules et inhibiteur de la dépolymérisation de ces derniers. Le taxol et ses dérivés sont donc intéressants aussi bien du point de vue biologique que thérapeutique.

L'étude systématique des constituants des écorces de tronc de *T. baccata* L. a été entreprise dans notre laboratoire selon les méthodes classiques d'extraction et de séparation des produits, mais en suivant systématiquement l'évolution des purifications grâce à un test *in vitro* sur la tubuline mis au point précédemment (7).²

L'extrait alcoolique brut des écorces de tronc présente déjà une activité notable; son analyse primaire a permis de montrer que le taxol n'était pas seul responsable de l'activité observée et qu'il se trouvait d'autres produits actifs plus polaires.

Le processus d'extraction employé est résumé dans le Schéma 1.

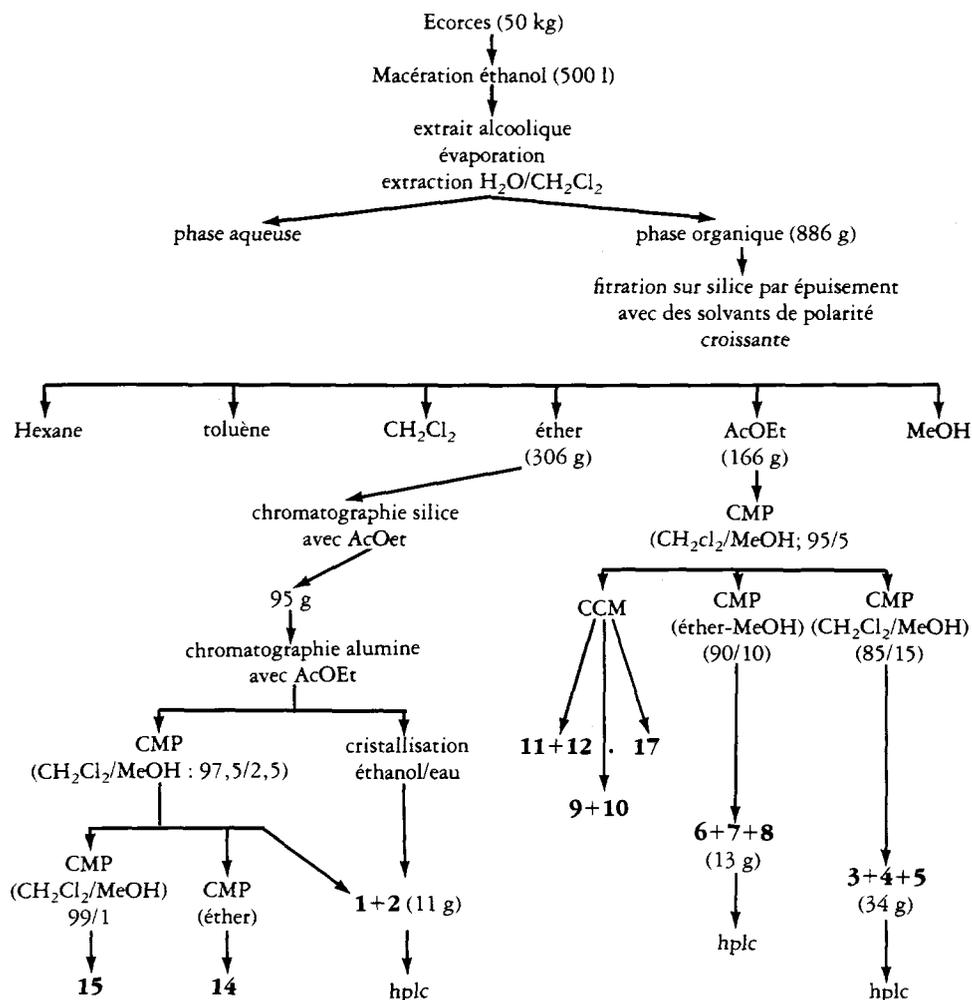
Outre le taxol **1** et la cephalomanine **2** (taxol B)³ déjà décrits, un certain nombre de nouveaux composés ont été identifiés (Figure 1).

La structure de ces produits a pu être déterminée grâce à la rmn à 400 MHz et à la spectrométrie de masse [par ionisation chimique (IC) (8) et "Fast Atomic Bombardment" (FAB)] (9). L'ensemble des produits **1** à **12** ont des caractéristiques spectroscopiques assez voisines: en rmn, pour les différents analogues, les hydrogènes portés par le squelette du taxol ont des signaux identiques quant à leur multiplicité et couplage, confirmant ainsi les éléments spécifiques de ce squelette: positions en 2, 4, 7, 10, 13 des

¹Ingénieur détaché par la Société Rhône-Poulenc Recherches, Centre Nicolas Grillet, 9440, Vitry-sur-Seine, France.

²Le principe de ce test repose sur l'inhibition de la dépolymérisation des microtubules en "dimères de tubuline" par les dérivés du taxol. L'échantillon, en solution dans le Diméthyl Sulfoxyde (DMSO), est mis en présence de tubuline et porté à 37° pendant une dizaine de minutes; la vitesse de dépolymérisation est ensuite enregistrée sur un spectrophotomètre uv (350 nm) où l'échantillon est placé dans une microcuve thermostatée à 4°. La vitesse maximale de dépolymérisation est mesurée et comparée à un témoin sans inhibiteur; l'activité du taxol est mesurée sur le même lot de tubuline et prise comme référence.

³Nous proposons pour les différents isomères du taxol, décrits dans la Figure 1 et ne présentant qu'une variation (R₃) à l'intérieur de la chaîne portée par le carbone 13, les noms de taxol A, B, C, plus représentatifs de cette série que le nom de cephalomanine (pour **2**): taxol A: R₃=C₆H₅, taxol B: R₃=CH₃C=CHCH₃, taxol C: R₃=C₅H₁₁.



SCHEMA 1. Le choix des différentes fractions au cours des purifications est guidé par l'activité antitubuline: une concentration de 0,05 mg/ml de la fraction à tester inhibe totalement la dépolymérisation de la tubuline.

CMP=chromatographie sur silice sous moyenne pression;
CCM=chromatographie sur silice en couche mince.

groupes O-R, oxétane en 4-5, cétone en 9, benzoate en position 2 (5H de 7,4 à 8,1 ppm); seuls les déplacements chimiques des hydrogènes 7, 10, 13 varient selon les groupements substituant les hydroxyles (voir Tableau 1); en spectrométrie de masse, le squelette taxane ne se fragmente pas dans les conditions employées; seuls les différents esters donnent lieu à des fragmentations permettant ainsi leur détermination.

Parmi ces analogues, on remarque la présence simultanée des deux isomères type taxol A et B toujours difficilement séparables (isomérisie au niveau de la chaîne portée par l'hydroxyle en 13 caractérisée en rmn par la présence du groupe benzoate: 5H, $\delta=7,5$ et 7,7 ppm (taxol A), ou du groupe tiglate (taxol B): 3H à $\delta=1,80$ ppm, 3H à $\delta=1,7$ ppm (d, $J=7$ cps), 1H à 6,4 ppm (q, $J=7$)). De plus, un nouvel isomère de ce type a été identifié ($R_3=(CH_2)_4 CH_3$ pour **5** et **8**) principalement par spectrométrie de masse.

En effet, en ionisation chimique (par l'isobutane ou l'ammoniac), le fragment résultant de la rupture de la liaison C-O en 13 est très intense: $MH^+=286$ pour le taxol **1**, $MH^+=264$ pour **2** et $MH^+=280$ pour **5** ou **8** c'est-à-dire $R_3=C_5H_{11}$. La rmn con-

TABLEAU 1. Les déplacements chimiques des hydrogènes sont exprimés en ppm avec le TMS comme référence interne. Les couplages figurent entre parenthèses et sont exprimés en cps. Les produits **1**, **2**, **9** à **17** sont dissous dans CDCl_3 , **3** et **4** dans le DMSO deutérié, **5**, **6**, **7** et **8** dans un mélange 4:1 CDCl_3 -DMSO.

H	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	17
2	5,64-d (7)	5,66-d (7)	5,65-d (7)	5,56-d (7)	5,62-d (7)	5,70-d (7)	5,71-d (7)	5,68-d (7)	5,68-d (7)	5,68-d (7)	5,67-d (7)	5,66-d (7)	5,70-d (7)	5,63-d (7)	5,86-d (6)	5,50-d (3)
3	3,78-d	3,75-d	3,89-d	3,85-d	3,86-d	3,84-d	3,84-d	3,82-d	3,90-d	3,89-d	3,79-d	3,79-d	3,85-d	3,88-d	3,18-d	3,39-d
5	4,92-dd (2-8)	4,92-dd (2-7)	4,95-dd (9)	5,02-d (9)	4,92-d (9)	4,94-dd (2-9)	4,94-dd (2-9)	4,93-dd (2-9)	4,93-dd (2-9)	4,92-dd (2-9)	4,92-d (8,5)	4,93-d (8,5)	4,92-d (8,5)	4,98-dd (2-10)	4,97-d	5,62-dd (4-12)
6	1,82-m	1,85-m	1,98-m	1,94-m	1,96-m	2,10-m	2,09-m	2,04-m	1,80-m	1,80-m	1,85-m	1,85-m	2,08-m	1,86	1,87	1,78
7	2,50-m	2,50-m	2,70-m	2,66-m	2,67-m	2,69-m	2,68-m	2,68-m	2,55-m	2,55-m	2,55-m	2,55-m	2,74-m	2,56	2,48	1,86
9	4,38-m	4,40-m	4,14-m	4,19-m	4,15-m	4,22-m	4,25-m	4,25-m	4,19-m	4,21-m	4,38-m	4,39-m	4,13-m	4,48-m	5,55-t (8)	3,00-m
10	6,21-s	6,25-s	5,33-s	5,39-s	5,32-s	6,40-s	6,44-s	6,43-s	5,16-s	5,18-s	6,34-s	6,35-s	6,63-s	6,33-s	6,00-d (10)	5,99-d (11)
13	6,20-t (8)	6,18-t (9)	6,19-t (9)	6,06-t (9)	6,15-t (9)	6,18-t (9)	6,20-t (9)	6,15-t (9)	6,18-t (9)	6,18-t (9)	6,21-t (9)	6,20-t (9)	6,21-t (9)	4,82-t (9)	6,19	5,99
14	2,25-m	2,22-m	2,22-m	2,28-m	2,22-m	2,23-m	2,30-m	2,25-m	2,27-m	2,25-m	2,32-m	2,28-m	2,33-m	2,28-m	2,17	1,92-q 2,53-q (15)
16	1,24-s	1,25-s	1,19-s	1,20-s	1,20-s	1,19-s	1,21-s	1,19-s	1,18-s	1,22-s	1,24-s	1,25-s	1,18-s	1,15-s	1,77-s	1,60-s
17	1,12-s	1,12-s	1,12-s	1,15-s	1,14-s	1,19-s	1,21-s	1,19-s	1,10-s	1,10-s	1,12-s	1,14-s	1,18-s	1,15-s	1,22-s	1,13-s
18	1,78-s	1,81-s	1,91-s	1,91-s	1,91-s	1,86-s	1,83-s	1,85-s	1,73-s	1,76-s	1,81-s	1,81-s	2,03-s	2,06-s	2,10-s	1,99-s
19	1,66-s	1,67-s	1,77-s	1,75-s	1,76-s	1,75-s	1,75-s	1,73-s	1,53-s	1,71-s	1,69-s	1,68-s	1,69-s	1,71-s	1,58-s	1,21-s
20	4,16-d	4,18-d	4,23-d	4,19-m	4,20-d	4,20-d	4,23-d	4,21-d	4,19-d	4,19-d	4,19-d	4,18-d	4,18-d	4,16-d	4,13-d	2,25-d
OAc	4,28-d (8)	4,29-d (8)	4,27-d (9)	4,19-m	4,24-d (9)	4,30-d (9)	4,29-d (9)	4,27-d (9)	4,35-d (9)	4,30-d (9)	4,31-d (9)	4,29-d (9)	4,31-d (9)	4,32-d (8,5)	4,34-d (8)	3,63-d (5)
	2,20	2,24	2,42	2,40-s	2,34	2,22	2,23	2,20	2,36	2,35	2,38	2,35	2,07-2,22	2,24	1,99-2,02	2,06(62)
	2,38	2,36			2,42	2,42	2,40	2,38					2,17-2,45	2,28	2,10-2,19	2,09-2,11
2'	4,76-d (3)	4,70-d (3)	4,72-d (3)	4,62-d (3)	4,57-d (3)	4,78-d (3)	4,67-d (3)	4,61-d (3)	4,77-d (3)	4,70-d (3)	4,79-d (3)	4,70-d (3)	5,51-d (3)			2,28
3'	5,76-dd (3-9)	5,58-dd (3-9)	5,76-dd (3-9)	5,45-dd (3-9)	5,51-dd (3-9)	5,80-dd (3-7,5)	5,63-dd (3-9)	5,34-dd (3-9)	5,78-dd (3-9)	5,61-dd (3-9)	5,78-dd (3-9)	5,60-dd (3-9)	5,95-dd (3-9)			
3'Ph	7,36	7,36	7,45	7,44	7,37	7,41	7,41	7,39	7,40	7,40	7,35	7,39	7,37			
NH	6,97-d (9)	6,50-d (9)	8,26-d (9)	7,92-d (9)	7,66-d (9)	7,35-d (7-5)	7,27-d (9)	7,47-d (9)	7,06-d (9)	6,61d (9)	7,03-d (9)	6,49-d (9)	6,90-d (9)			

firme cette hypothèse par l'existence d'un méthyle à 0,86 ppm sous la forme d'un triplet ($J=7$) et des différents méthylènes à $\delta=1,26$ et 1,57).

La présence d'un groupement hexanoate n'est pas inhabituelle et a déjà été observée dans la baccatine VII en position 2 (10). La mise en évidence de dérivés portant un xylose est nouvelle dans cette série. L'établissement des structures **3** à **8** a été plus difficile et a nécessité différentes techniques: hydrolyse acide et identification du β -xylose par hplc, essai d'hydrolyse enzymatique par la β -xylosidase sans résultat, et surtout spectrométrie de masse. L'ionisation chimique permet de déceler la présence des différents R_3 (comme nous l'avons déjà montré) et la présence ou non d'un acétate, en 10, sur le squelette taxane, mais aucun pic moléculaire n'est décelable. Ceux-ci ont, par contre, pu être obtenus en utilisant une source FAB (Xénon) MH^+ **3**:944; **4**: 922; **5**: 938; **6**: 986; **7**: 964; **8**: 980, avec des fragmentations correspondant aux pertes des divers esters et du xylose. L'acétylation complète de l'un des isomères, **4**, a permis de retrouver la masse moléculaire attendue en IC du dérivé acétylé **13**, (MH^+ = 1154, 5 hydroxyles acétylés), ainsi que de clarifier le spectre de rmn facilitant ainsi l'attribution des signaux des hydrogènes du xylose et de la chaîne en 13, confirmant de ce fait les structures proposées: $H_{1''}$: $\delta=4,68$ ppm; (d, $J=6$ cps); $H_{2''}$: $\delta=4,73$ ppm (dd, $J=6$ et 7,5 cps); $H_{3''}$: $\delta=5,16$ ppm (t, $J=7,5$ cps); $H_{4''}$: $\delta=4,83$ ppm (m); $H_{5''}$ axial: $\delta=3,45$ ppm (dd, $J=8$ et 12 cps); $H_{5''}$ équatorial: $\delta=4,08$ ppm (dd, $J=4,5$ e 12 cps).

La détermination des structures des produits **11** et **12** repose sur les indications spectrales déjà citées; l'ester R_2 présente, en IC, un fragment à MH^+ = 105 ($C_4H_9O_3$) et le seul isomère compatible avec le spectre de rmn est le β -hydroxybutyrate: un doublet (3H) à $\delta=1,3$ ppm ($J=7$ cps) couplé avec un hydrogène à $\delta=4,38$ ppm (multiplet), lui-même couplé avec deux hydrogènes centrés à 2,55 et 2,73 ppm (en α d'un carbonyle) avec un couplage géminale $J=15,5$ cps.

Il faut noter que les produits (**11** et **12**) ne sont pas purs (en hplc) mais sont en fait, chacun, composés des deux diastéréoisomères (isomérisie au niveau du carbone C''_3 de l'ester en position 10), très difficilement séparables.

L'ensemble des produits décrits présente une activité antitubuline du même ordre que celle du taxol; les autres produits mentionnés ont une activité moindre (50 à 100 fois plus faible que celle du taxol).

Les structures de **14**, **15** et **17** ont pu être établies par comparaison avec des produits issus de réactions chimiques sur **16** (11) et par identité de leurs caractéristiques physiques avec celles décrites dans la littérature (2, 10).

Ces produits présents à l'état de traces et difficilement purifiables ont pu être mis en évidence grâce à leur interaction avec la tubuline; ce test biochimique simple a déjà montré sa valeur notamment dans la série de la vinblastine (12); il devrait pouvoir nous permettre de mieux comprendre les relations structure-activité dans cette série, la composante essentielle en étant la présence d'un ester complexe en position 13.

PARTIE EXPÉRIMENTALE⁴

MATÉRIEL VÉGÉTAL.—Les Ifs, *T. baccata*, sont obtenus sur place où ils croissent naturellement dans les parcs et jardins. Seuls les troncs et grosses branches sont écorcés. Les écorces sont séchées à 35-40° puis broyées et soumises à l'extraction.

⁴*Appareillage:* Les spectres rmn du proton sont effectués sur prototype IEF à 400 MHz à l'Institut d'Electronique Fondamentale d'Orsay et sur appareil Cameca à 250 MHz; les spectres de masse sont obtenus: en IC (ionisation chimique) à l'aide d'un AEI MS 9 et en FAB (bombardement atomique) à l'aide d'un Kratos MS 80 les spectres uv sont enregistrés sur spectrophotomètre Jobin-Yvon Duospac 203. Les points de fusions sont mesurés à l'aide d'un tube de Thiele (appareil Büchi). Les chromatographies hplc sont effectuées sur un appareil Beckmann équipé de colonnes ODS semi-préparatives (25 cm) en employant un mélange méthanol eau (60:40) comme éluant.

EXTRACTION ET PURIFICATION.—Le broyat d'écorces (50 kg) est mis à macérer dans de l'éthanol à 95% (500 litres) et les différentes opérations d'extractions et de purifications sont effectuées selon le Schéma 1 en employant, pour les chromatographies et filtrations sur silice, de la silice 70-230 Mesh (Merck 7734) avec un rapport: masse de silice/masse de produit = 10 pour les filtrations et 25 pour les chromatographies; les chromatographies sur alumine: de l'alumine activité I (Prolabo) alumine/produit = 45; pour les chromatographies sous moyenne pression (0,3-0,5 bars); de la silice 60 H (Merck, silice/produit = 30); pour la chromatographie en couche mince: de la silice 60 PF 254 (Merck).

ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES PRODUITS.—(1°) Le mélange **1+2** est résolu en hplc, le taxol A, produit le moins polaire (72% du mélange) est ainsi séparé du taxol B.

Taxol A (1).—Rendement: 165 mg/kg écorce ($1,65 \cdot 10^{-2}\%$); point de fusion: 205-208° (EtOH aqueux); αD : -54° (MeOH), -21° (pyridine); uv: 230 (29000), 274 (1670), 282 (1175); sm: IC MH^+ = 854; fragments:⁵ 836, 714, 447, 286, 268, 123, rmn.⁶

(*Cephalomanine*) ou *taxol B (2)*.—Rendement: 64 mg/kg écorce ($6,4 \cdot 10^{-3}\%$); point de fusion: 181-184° (EtOH aqueux); αD : -41 (MeOH); uv: 221 (27300), 229 (26300), 275 (1250), 282 (1100); sm: IC MH^+ = 832; fragments: 814, 692, 447, 264, 246, 123, rmn.⁶

(2°) Le traitement par hplc de la fraction (**3+4+5**) conduit aux différents isomères (dans l'ordre de polarité décroissante):

β -Xylosyl-7 déacétyl-10 *taxol B (4)*.—Rendement: 96 mg/kg écorce ($9,6 \cdot 10^{-3}\%$); point de fusion: 250-252° (EtOH aqueux); αD : 4° (pyridine); sm: FAB MH^+ = 922; IC fragments à: 904, 886, 792, 641, 537, 509, 405, 264, 246, 175, 133, 123; rmn: les hydrogènes du xylose ont pu être identifiés et sont sensiblement les mêmes pour les trois isomères **3**, **4** et **5**: $H_{1'}$, $\delta = 4,1$ ppm (d, $J = 7$ cps); $H_{2'}$, $\delta = 3,2$ ppm (m); $H_{3'}$, $\delta = 3,4$ ppm (t, $J = 8$ cps); $H_{4'}$, $\delta = 3,5$ ppm (m); $H_{5'}$ (2H), $\delta = 3,2$ et $3,8$ ppm (m).

β -Xylosyl-7 déacétyl-10 *taxol A (3)*.—Rendement: 220 mg/kg écorce ($2,2 \cdot 10^{-2}\%$); point de fusion: 246-248° (EtOH aqueux); αD : -2° (pyridine); uv: 229 (20700), 274 (1400), 281 (1110); sm: FAB MH^+ = 944; Fragment à 509; IC Fragments à: 926, 908, 804, 641, 537, 509, 286, 268, 175, 133, 123; rmn: voir **4**.

β -Xylosyl-7 déacétyl-10 *taxol C (5)*.—Rendement: 28 mg/kg écorce ($2,8 \cdot 10^{-3}\%$); point de fusion: 215-217° (EtOH aqueux); αD : +3° (pyridine); uv: 221 (14100), 231 (15600), 275 (1130), 282 (1010); sm: FAB MH^+ = 938 Fragment à 509; IC Fragments à: 920, 798, 537, 405, 262, 175, 123; rmn: voir **4**.

(3°) Le même traitement appliqué à la fraction (**6+7+8**) conduit à:

β -Xylosyl-7 *taxol B (7)*.—Rendement: 39 mg/kg écorce ($3,9 \cdot 10^{-3}\%$); αD : -26° (pyridine); uv: 221 (20300), 230 (18500), 274 (1380), 282 (1230); sm: FAB MH^+ = 964; IC Fragments à 946, 824, 579, 447, 246, 175, 133, 123; rmn: les hydrogènes du xylose ont pu être identifiés et sont sensiblement les mêmes pour les trois isomères **6**, **7** et **8**: $H_{1'}$, $\delta = 4,3$ ppm (d, $J = 7$ cps); $H_{2'}$, $\delta = 3,3$ ppm (m); $H_{3'}$, $\delta = 3,5$ ppm (t, $J = 8$ cps); $H_{4'}$, $\delta = 3,6$ ppm (m); $H_{5'}$ (2H), $\delta = 3,28$ et $3,9$ ppm (m).

β -Xylosyl-7 *taxol A (6)*.—Rendement: 58 mg/kg écorce ($5,8 \cdot 10^{-3}\%$); point de fusion: 236-238° (*i*-PrOH); [α]D: -23° (pyridine); uv: 229 (22900), 273,5 (1300), 282 (903); sm: FAB MH^+ = 986 Fragment à 509; IC Fragments à: 968, 950, 846, 683, 579, 551, 447, 286, 268, 175, 133, 123; rmn: voir **7**.

β -Xylosyl-7 *taxol C (8)*.—Rendement: 29 mg/kg écorce ($2,9 \cdot 10^{-3}\%$); point de fusion: 229-231° (EtOH aqueux); αD : -4° (pyridine); uv: 221 (13950), 231 (16200), 275 (1140), 282 (995); sm: FAB MH^+ = 980; IC Fragments à: 962, 944, 840, 579, 405, 262, 175, 123; rmn: voir **7**.

(4°) Le mélange **9+10** est traité en hplc; le moins polaire d'entre eux représente 46% en poids du mélange et est identifié comme étant le déacétyl-10 *taxol A*.

Déacétyl-10 *taxol A (9)*.—Rendement: 29 mg/kg écorce ($2,9 \cdot 10^{-3}\%$); αD : -3° (pyridine); uv: 229 (22100), 274 (1470), 282 (1360); sm: IC MH^+ = 812; Fragments à: 794, 672, 527, 405, 286, 268, 123, 105.

Déacétyl-10 *taxol B (10)*.—Rendement: 34 mg/kg écorce ($3,4 \cdot 10^{-3}\%$); αD : -2° (pyridine); uv: 220 (19750), 229 (18000), 275 (1350), 282 (1200); sm: IC MH^+ = 790; fragments à: 772, 650, 527, 405, 264, 246, 123.

(5°) Le mélange **11+12** est incomplètement résolu par hplc mais l'examen des spectres rmn nous conduit à penser qu'il s'agit pour **11** et **12** du mélange des diastéréoisomères au niveau du carbone C_3' de la chaîne hydroxybutyrate.

β -Hydroxybutyryl 10 *taxol A (11)*.—Après évaporation de la fraction la moins polaire, on obtient un produit représentant 59% en poids du mélange. Rendement: 26 mg/kg écorce ($2,6 \cdot 10^{-3}\%$); sm: FAB MH^+ = 898; IC Fragments à: 880, 758, 491, 387, 286, 268, 123, 105, 87.

⁵Seuls les fragments essentiels sont mentionnés; ils représentent les pertes des différents esters: benzoate, acétate et esters en 13. Ces fragments subsistent à leur tour de nouvelles ruptures moins intenses dues aux autres esters encore présents sur le squelette taxane.

⁶Les déplacements chimiques et couplages des différents hydrogènes figurent dans le Tableau 1.

β -Hydroxybutyryl-10 taxol B (12).—La fraction la plus polaire se présente après évaporation sous forme d'un produit blanc. Rendement: 18 mg/kg écorce (1, $8 \cdot 10^{-3}\%$); sm: FAB $MH^+ = 876$; IC fragments à: 858, 840, 758, 491, 387, 264, 246, 123, 105, 87.

(6°) Acétylation de β xylosyl-7 déacétyl-10 taxol A (13).—22 mg de 4 sont dissous dans 1 ml de pyridine auquel on ajoute 0,1 ml d'Ac₂O. Le milieu réactionnel est chauffé à 40° durant 48 h, puis extrait par un mélange H₂O-CHCl₃. La phase organique est évaporée et chromatographiée sur plaque (éluant CH₂Cl₂-MeOH: 97,5-2,5). On obtient 23 mg d'un produit blanc nettement moins polaire que le produit de départ. Il cristallise dans l'éthanol aqueux. Point de fusion: 219-220°; αD : -60° (CHCl₃); uv: 230 (21800), 273,5 (1640), 281 (1180); sm: I.C. $MH^+ = 1154$; fragments à: 1094, 972, 705, 447, 328, 268, 259, 189, 123.

(7°) Hydrolyse de 3.—10 mg de 3 sont mis en solution dans un mélange MeOH-HCl concentré (1-1) et laissés à froid (0°) pendant 80 h. La réaction est suivie en hplc-colonne μ Bondapack NH₂ (Waters), éluant Acétonitrile-H₂O (80:20) et permet d'identifier (Rf identique) le β xylose. Le spectre de masse, par désorption de champ, confirme la présence de ce produit ($M^+ = 150$).

(8°) Baccatine III (14).—Le produit cristallise dans l'Et₂O. Rendement: 3,2 mg/kg écorce (3, $2 \cdot 10^{-4}\%$). Point de fusion: 236-238° (dec); litt.: 229-231° (CHCl₃); αD : -54° (MeOH); uv: 230 (13900), 274 (1000), 282 (850); sm: IC $MH^+ = 587$; fragments à: 569, 527, 509, 405, 345, 123.

(9°) Baccatine VI (15).—Le produit cristallise dans l'Et₂O. Rendement: 4 mg/kg (4, $10^{-4}\%$); point de fusion: 248-250° (dec); litt.: 244-245° (dec); αD : -5° (CHCl₃); uv: 225 (17600), 274 (860), 282 (640); sm: IC (NH₃) $MNH_4^+ = 732$; fragments à: 715, 672, 655, 610, 595, 535, 475, 353, 139.

(10°) Hydroxy-1 β déacétyl-7 α baccatine I (17).—17 cristallise dans le MeOH. Rendement: 24 mg/kg écorce (2, $4 \cdot 10^{-3}\%$); point de fusion: 217-218°; αD : +74° (CHCl₃); uv: 221,5 (5910); sm: IC $MH^+ = 611$; fragments à 593, 551, 491, 431, 371, 311.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Monsieur S.K. Kan et M. Mérienne, de l'Institut d'Électronique Fondamentale d'Orsay, pour nous avoir permis d'enregistrer des spectres sur les prototypes IEF 400 MHz et Cemea 250 MHz ainsi que Madame M.-T. Adeline pour les séparations effectuées par hplc et l'équipe de M. Escaut pour les extractions. Ce travail a été financé par le contrat "Médicament" de l'INSERM (Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale).

BIBLIOGRAPHIE

1. M.C. Wani, M.L. Taylor, M.E. Wall, P. Coggon et A.T. Mc.Phail, *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 2325 (1971).
2. R.W. Miller, R.G. Powell, C.R. Smith, *J. Org. Chem.*, **46**, 1469 (1981).
3. J.L. McLaughlin, R.W. Miller, R.G. Powell et C.R. Smith, Jr., *J. Nat. Prod.*, **44**, 312 (1981).
4. D.G.I. Kingston, D.R. Hawkins, L. Ovington, *J. Nat. Prod.*, **45**, 466 (1982).
5. P.B. Schiff, S. Fant, S.B. Horwitz, *Nature*, **277**, 655 (1979); and J. Parness, D.G.I. Kingston, R.G. Powell, C. Harracksingh, S.B. Horwitz, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **105**, 1082 (1982).
6. P.B. Schiff, S.B. Horwitz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**, 1561 (1980).
7. G. Chauvière, D. Guénard, F. Picot, V. Sénilh et P. Potier, *C. R. Acad. Sci. Paris*, **293**, 501 (1981).
8. P. Varenne, B. Bardey, P. Longevialle, B.C. Das, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 888 (1977).
9. M. Barber, R.S. Bondoli, R.D. Sedgwick, A.N. Tyler, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 325 (1981).
10. D.P. Della Casa de Marcano, T.G. Malsall, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 365 (1975).
11. Résultats en cours de publication.
12. F. Zavala, D. Guénard, P. Potier, *Experientia*, **34**, 1497 (1978).

Received 21 March 1983