

BIOQUÍMICA DE LOS TAXOIDES UTILIZADOS CONTRA EL CÁNCER*

Hebert Jair Barrales Cureño¹ y Marcos Soto Hernández²

¹Maestro en Ciencias en Genética. Estudiante de Doctorado en Ciencias en Botánica en el Colegio de Postgraduados. Km. 36.5 Carret. México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Edo. de México. CP. 56230.

²Botánica. Instituto de Recursos Naturales. Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo. Texcoco, Estado de México. México. Correo E: barrales.hebert@colpos.mx

RESUMEN

Entre las principales causas de muerte y enfermedades humanas están principalmente la formación de procesos tumorales malignos. Los taxoides son un grupo de compuestos diterpénicos caracterizados por la presencia de un esqueleto de taxano, son principalmente aislados de la corteza de árboles de *Taxus* spp.

Los taxoides como el taxol son de gran importancia médica, el taxol es utilizado como agente anticanceroso en cáncer de seno, pulmón, ovario, próstata y sarcoma de Kaposi relacionado con el SIDA, y el docetaxel es utilizado en el cáncer de seno. En esta revisión se describe el mecanismo único de acción biológica del paclitaxel, el taxotere, la semisíntesis del taxol y se detalla sólo la ruta biosintética de los principales taxoides.

ABSTRACT

Among the main causes of death and human diseases are mainly the formations of the processes of malignant tumors. Taxoids are a group of diterpene compounds characterized by the presence of a taxoid skeleton; they are mainly isolated on the bark of *Taxus* trees. Taxoids, such as paclitaxel and docetaxel, are of great medical importance and are used as anti-cancer agents in breast, lung, ovary, prostate cancer as well as AIDS-related Kaposi's sarcoma. In this review, the only biological action mechanism of paclitaxel, taxotere, and the semi-synthesis are detailed as well as detailing just the biosynthetic route of the main taxoids.

INTRODUCCIÓN

Las principales causas de muerte y enfermedades humanas son debidas principalmente a la formación de procesos tumorales malignos. Por ejemplo, en el año 2002 se estimó que había 10.9 millones de nuevos casos de cáncer, 6.7 millones de muertes, y 24.6 millones de personas viviendo con esta enfermedad alrededor del mundo (1).

Aunque el tratamiento más eficaz contra el cáncer sigue siendo la cirugía, la quimioterapia antineoplásica o citotóxica es imprescindible para el tratamiento de muchos pacientes. Los fármacos quimioterapéuticos actúan fundamentalmente inhibiendo el ciclo de división celular. El "Development Therapeutic Program" del "National Cancer Institute" los clasifica como: agentes alquilantes,

antimitóticos, inhibidores de la enzima topoisomerasa I y II o antimetabolitos de los ácidos nucleicos. El taxol fue aprobado para el tratamiento del cáncer de ovario y seno por la US Food and Drug Administration Office. Entre los taxoides, existen 14-hidroxi taxoides, uno de ellos, el taxoide Taxuyunnanine C está bajo evaluación en el tratamiento de la enfermedad del Alzheimer y enfermedades del corazón (2).

En el género de coníferas de *Taxus*, el paclitaxel (nombre genérico) (Fig. 1) o taxol (nombre comercial), es un agente anti-cáncer muy conocido en medicina humana, así como los taxoides relacionados como los mayores componentes en la mezcla de metabolitos secundarios, los cuales juegan una importante función ecológica en la defensa de las plantas (3).

PALABRAS

CLAVE:

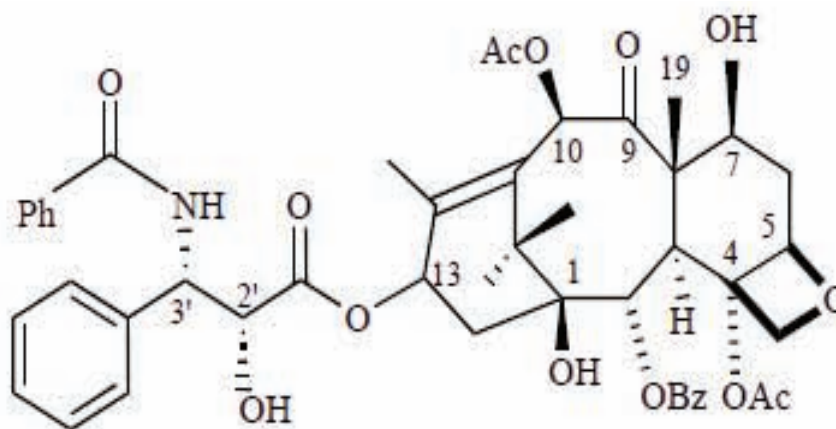
Taxol,
biosíntesis,
Taxus spp.
10-diacetil
baccatina III

KEY WORDS:

Taxol,
biosynthesis,
Taxus spp.
10-deacetyl
baccatin III

Figura 1.

Estructura química de la molécula del taxol (paclitaxel). Fórmula molecular: $C_{47}H_{51}NO_{14}$. Peso molecular: 853.90 g/mol. La molécula es insoluble en agua. Ph-Fenilo, Ac-Aceto y Bz-Benzoato

**Obtención natural del taxol**

De los cuatro tejos nativos del hemisferio occidental, el menos conocido es el mexicano, *Taxus globosa* (Schlecht.), se encuentra, esporádicamente, desde la parte central de Nuevo León y Tamaulipas pasando por la cuenca del Golfo y eje Neovolcánico Transversal hasta el sur de Honduras en Centroamérica (4). Los taxoides se extraían principalmente de la corteza y agujas (hojas lanceoladas) de árboles de tejo.

Aproximadamente 1 kg de taxol requiere el procesamiento de 10,000 kg de corteza. La cantidad estimada necesaria por año es cerca de 250 kg del fármaco purificado, equivalente al rendimiento de cerca de 750,000 árboles, debido al excesivo uso de las plantas de tejo, éstas se han expuesto al riesgo de la extinción (4). El mayor obstáculo para la comercialización es el bajo rendimiento del paclitaxel. Para optimizar la producción de paclitaxel, se necesita un gran entendimiento de los factores clave que controlan el crecimiento de la biomasa (células en cultivo) y la producción de los metabolitos (5).

Características químicas del paclitaxel

La determinación de la estructura en 1971 a partir del análisis mediante difracción por rayos X fue todo un reto para los científicos de la época; así como lo fue también posteriormente su síntesis total publicada en 1994. El paclitaxel tiene una estructura química muy compleja en la que destaca un esqueleto hidrocarbonado formado por tres ciclos de 6, 8 y 6 carbonos, respectivamente, polisustituido con 4 metilos y ocho funciones oxigenadas (entre ellas, una de β -fenilisoserina que esterifica la posición C-13). La molécula posee un total de 11 estereocentros (6).

Hasta el presente, se conoce las estructuras químicas de 350 taxoides, los cuales se empezaron a clasificar de acuerdo a la oxigenación del C20 y a la

presencia o no de cadenas laterales. Los taxoides más importantes sin la cadena lateral C13 son baccatina III y sus compuestos derivados, mientras que los principales taxoides con la cadena lateral C13 son el taxol, cefalomanina y sus compuestos relacionados (7).

Taxotere

El taxotere (Fig. 2) es un fármaco semisintético anticáncer que es utilizado en el cáncer de mama localmente avanzado o metastásico (cáncer que se ha diseminado a otra zona de la mama o ha aumentado de tamaño), no es muy recomendable su uso debido a que puede originar efectos secundarios tales como cifras bajas de glóbulos blancos (neutropenia), reacciones alérgicas, retención de líquidos, náuseas y vómitos (8).

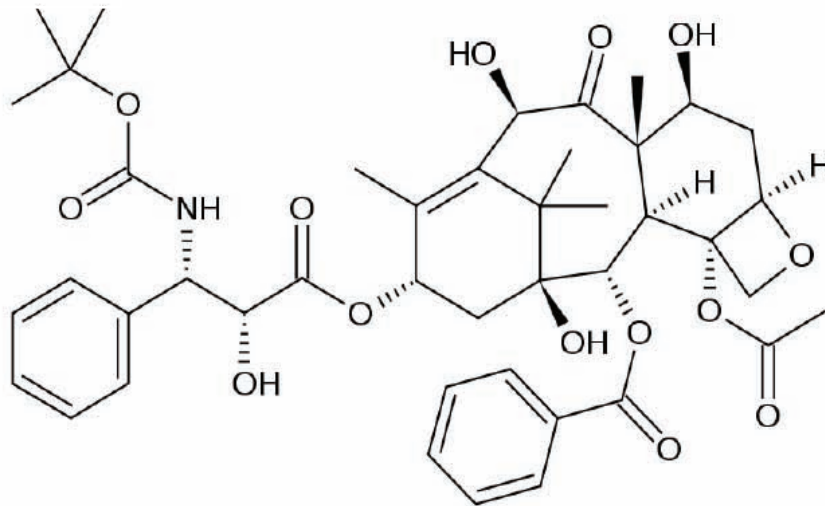
El taxotere actúa atacando a las células del cuerpo que se reproducen rápidamente, como las células cancerosas. Daña la estructura de sostén de cada célula en una forma que detiene el crecimiento y la reproducción celular, este mecanismo da lugar a la muerte de la célula cancerosa y la disminución del tamaño del tumor (8).

Actividad biológica del taxol

El taxol actúa a nivel del huso mitótico funcionando como un potente agente quimioterapéutico, aprovechado en el tratamiento de una gran variedad de tipos de cáncer porque este metabolito secundario vegetal tiene un mecanismo y función de acción específica, debido a que se encarga del ensamblaje de los microtúbulos e inhibe el proceso del desensamblamiento de la tubulina (9).

El paclitaxel, debido a su actividad biológica, se clasifica dentro del grupo de los denominados fármacos antimitóticos. Para entender mejor su modo de acción conviene recordar que, si no se duplican, las células se encuentran en estado de reposo, también llamado fase G0.

Figura 2.
Estructura química de la molécula del docetaxel.
Fórmula molecular:
 $C_{43}H_{53}NO_{14}$
Peso molecular:
807.87 g/mol.



Por el contrario, las células que proliferan siguen un ciclo, denominado ciclo celular, que consta de 2 etapas: la mitosis, también llamada fase M o de división, y la interfase, que incluye a su vez las fases G1, S y G2. En la interfase se produce el crecimiento celular con síntesis de proteínas y ácidos nucleicos necesario para que, durante la fase M, la célula se pueda dividir en dos células hijas (9).

La interfase consta de la fase G1 o fase de crecimiento (en la que se sintetiza RNA y proteínas), la fase S o fase de síntesis de DNA y la fase G2 o segunda fase de crecimiento (en la que se sintetiza más RNA y proteínas). En la fase M o mitosis se produce la división celular, y consta de 4 etapas: profase, metafase, anafase y telofase. Un bloqueo del ciclo celular puede inhibir la proliferación celular y, por tanto, interrumpir el crecimiento de las células no deseadas, por ejemplo las cancerosas.

El detenimiento del ciclo puede efectuarse en la interfase o en la mitosis, aunque la mayoría de los compuestos antitumorales, entre ellos el paclitaxel, actúan sobre la mitosis, es decir son compuestos antimitóticos. Durante la profase desaparece la membrana nuclear y el nucléolo y se hacen patentes un cierto número de cromosomas constituidos por 2 cromátidas unidas por un estrangulamiento denominado centrómero.

Para entender el efecto del paclitaxel es importante conocer cómo se forma y se degrada el huso mitótico, puesto que esta estructura celular es de gran importancia durante la proliferación celular. Si no es posible formar el huso, las células no podrán duplicarse, evitándose así su proliferación. El huso mitótico está formado por microtúbulos, que son tubos formados por combinación de 2 tipos de proteínas: α -tubulina y β -tubulina. Estas proteínas forman heterodímeros $\alpha\beta$, capaces de agruparse en polímeros (microtúbulos) en presencia de otras proteínas denominadas MAPs (del inglés "micro-

tubul associated protein" proteínas asociadas a microtúbulos), de GTP y de Mg^{2+} (10).

Los microtúbulos poseen dos extremos. En uno de ellos, identificado con un signo matemático (-), es donde se inicia la nucleación y en el otro (+) el microtúbulo va creciendo. Una vez iniciado el crecimiento del microtúbulo, éste adopta un aspecto cilíndrico, de unos 25 nm de diámetro, con 13 protofilamentos que forman el círculo del microtúbulo. Los microtúbulos son estructuras dinámicas, lo que significa que se pueden alargar añadiéndose más heterodímeros (tubulina-GTP) en el extremo (+), también pueden acortarse (si el GTP se hidroliza) y liberarse heterodímeros (tubulina-GTP) en el extremo (+), pero también pueden acortarse (si el GTP se hidroliza) y liberarse heterodímeros (tubulina-GDP) del extremo (-).

Durante la interfase, los microtúbulos forman una red desde el centro por todo el citoplasma, pero al comenzar la mitosis, los microtúbulos se disgregan para poder formar el huso mitótico. En este momento, los microfilamentos se encuentran en un estado poco habitual de rápido ensamblaje y desensamblaje, lo cual explica la extrema sensibilidad del huso a distintos compuestos que se unen a la tubulina. Los fármacos anticancerígenos responsables de afectar la dinámica de los microtúbulos o de unirse a tubulina son los denominados fármacos antimitóticos, pues alteran el buen funcionamiento del huso mitótico (10).

El modo de acción del paclitaxel también evita la formación del huso mitótico, pero en este caso provocando la formación de un polímero demasiado largo. El paclitaxel se une a la β -tubulina, y con ello favorece la formación de largos polímeros, incluso en presencia de GDP, que no podrán acortarse. El microtúbulo estabilizado con paclitaxel posee 12 protofilamentos (en lugar de los 13 protofilamentos normales) y un diámetro inferior al normal (de 22

nm). La estabilización de los microtúbulos provoca la pérdida de función del huso, la consiguiente parada del ciclo celular en la transición metafase/anafase y, finalmente, la muerte celular (10).

Semi-síntesis

La síntesis química del taxol no ha tenido éxito y la síntesis parcial requiere a baccatina III como el material de partida, que por mucho debe ser extraído del material vegetal y que también se encuentra en niveles bajos en los tejidos vegetales. Tanto el taxol como su análogo el taxotere, se han producido semi-sintéticamente a través de la acilación de 10-deacetilbaccatina III aislado de las agujas (hojas) de diferentes especies de *Taxus*, pero conlleva a bajos rendimientos de producción y a efectos secundarios irreversibles no deseados en los pacientes con cáncer debido al compuesto *per se*.

La semi-síntesis total del paclitaxel fue lograda por Holton *et al.* y por Nicolaou *et al.* en 1994. Sin embargo, este proceso requiere de por lo menos 28 pasos químicos y el rendimiento es muy bajo.

Aunque el procedimiento de semi-síntesis es eficiente, la purificación de los precursores del taxol a partir de los tejidos vegetales de *Taxus* requiere de un esfuerzo sustancial para la separación de los intermediarios indeseados como lo son la abundancia de compuestos fenólicos, lípidos y otros contaminantes en el interior de la planta.

Una alternativa biotecnológica para el aislamiento del taxol, cefalomanina y 10-diacetil baccatina en *Taxus globosa* a partir de cultivos celulares requiere pocos pasos para la extracción y purificación (11) debido a que las sustancias interferentes son bajas; aunque hoy en día los rendimientos aún son bajos, este método puede ser comercialmente viable y sustentable (12).

Biosíntesis de los taxoides

Muchos avances se han hecho en referencia a la identificación de los genes responsables de la biosíntesis del paclitaxel. La biosíntesis es un proceso que requiere conocer principalmente las reacciones enzimáticas que involucran la construcción del esqueleto tetracíclico y la adición de varios oxígenos y grupos funcionales acilo.

Existe una gran variación en el contenido de taxoides, debiéndose principalmente a las diferentes especies y cultivares de *Taxus* spp.

El paclitaxel es un compuesto de naturaleza isoprenoide. Los isoprenoides constituyen una familia compleja de compuestos (más de 35,000 identifi-

cados hasta el momento) que presentan una gran variedad de estructuras y funciones. No obstante, a pesar de su gran diversidad, todos los isoprenoides derivan de dos precursores estructurales comunes de 5 átomos de carbono, el isopentenil difosfato y su isómero, el dimetilalildifosfato.

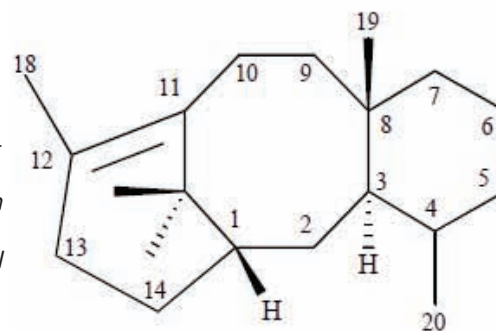
El esqueleto central de la molécula de paclitaxel es un anillo de taxano de naturaleza isoprenoide y deriva del geranylgeranyl difosfato (GGPP), el precursor común de los isoprenoides de 20 átomos de carbono (diterpenos), entre los que se encuentran compuestos tales como los carotenoides, la cadena de fitol de las clorofilas o las giberelinas, que participan en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Sin embargo, todos ellos se forman a partir de los mismos precursores, isopentenil difosfato (IPP) y dimetilalil difosfato (DMAPP). En muchos organismos vegetales existe una dicotomía respecto a la biosíntesis de los precursores de los terpenoides. En el citosol, la ruta clásica del mevalonato produce IPP a partir de acetil coenzima A para la biosíntesis de los esteroides, triterpenos y ciertos sesquiterpenos.

Los plástidos son el sitio de la ruta alternativa del 2C-metil-D-eritritol 4-fosfato (MEP) que produce IPP y DMAPP de piruvato y gliceraldehido-3-fosfato comenzando con los isoprenoides plastídicos: monoterpenos, diterpenos y tetraterpenos.

El taxol es altamente sustituido, es un diterpenoide cíclico polioxigenado caracterizado por un sistema de anillo de taxano, siendo su biosíntesis en las plantas de *Taxus* conocida incompletamente. Los taxoides constituyen un grupo de compuestos diterpénicos caracterizados por la presencia de un esqueleto de taxano (Fig. 3).

El anillo de oxetano es principalmente encontrado en las especies de *Taxus* spp. (árboles del tejo). La formación del anillo de oxetano en la biosíntesis del taxol involucra 2 enzimas: 1) Cit P450 C4-C20 epoxidasa y 2) isomerasa (oxomutasa) (Fig. 4). De acuerdo a Eisenreich *et al.* (13), sus estudios

Figura 3. Estructura química del anillo de taxano. El anillo de taxano sólo se encuentra en las especies vegetales del género *Taxus*, familia *taxaceae*.



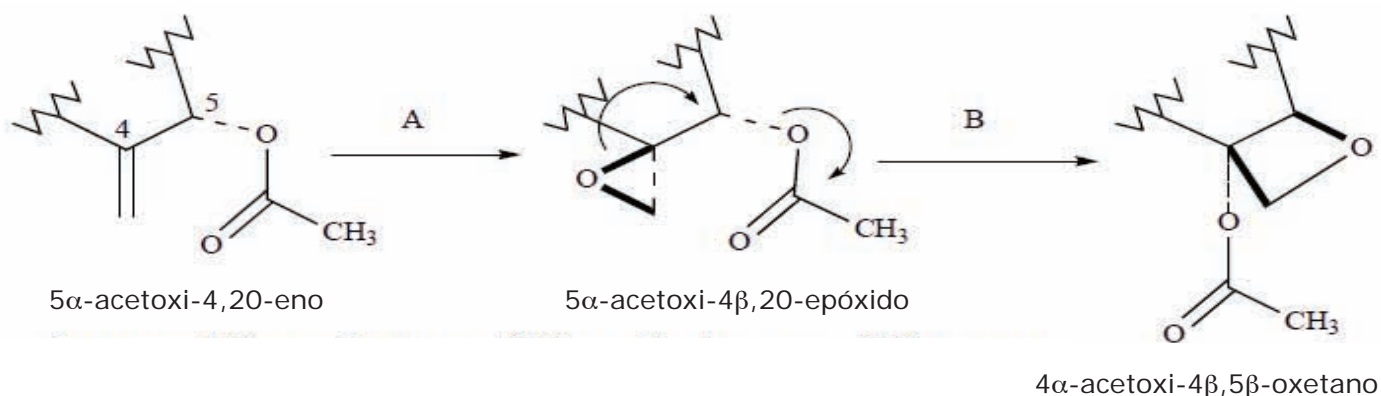


Figura 4. Formación del anillo (D) de oxetano en la biosíntesis del taxol, en el cual el grupo funcional $5\alpha\text{-acetoxi-4}\beta(20)\text{-eno}$ es convertido por epoxidación a $5\alpha\text{-acetoxi-4}(20)\text{-oxirano}$ seguido por un rearrreglo intramolecular y formar la molécula de $4\alpha\text{-acetoxi-4}\beta,5\beta\text{-oxetano}$. (Tomado de Walker y Croteau, 2001).

sobre la biosíntesis de taxol concluyentemente muestran que el sistema de anillo de taxoides no se sintetiza vía mevalonato, lo cual es coherente con su naturaleza de diterpenos. Al mismo tiempo, en sus resultados cuando usaron un cultivo de células en suspensión de *T. media* (*T. cuspidate* x *T. baccata*) suplementado con mevalonato sugirió que bajo las condiciones de su experimento ambas rutas podría estar comunicadas (14).

Es a partir de cultivos de células en suspensión de *Taxus* que se ofrece una excelente herramienta experimental para la elucidación *in vitro* e *in vivo* de la ruta biosintética compleja para la formación de taxol, con ayuda de esta técnica se conocen las enzimas relevantes en el origen biosintético de los taxoides.

Adicionalmente, nuevos metabolitos de taxoides y derivados pueden potencialmente ser generados en cultivos celulares mediante manipulación genética y por alteración de las condiciones de crecimiento (15).

En la actualidad se acepta hasta cierto punto que aunque células de *Taxus* sp. podrían usar la ruta del mevalonato como una fuente de IPP para el rendimiento de taxol, la principal fuente o recurso del precursor universal de terpenoides para la biosíntesis de GGPP y consecuentemente, de taxol, es la ruta plastídica del no-mevalonato o MEP (16).

El primer paso en la biosíntesis de taxol (Fig. 5) es la ciclización de geranylgeranyl difosfato (GGPP), el cual comienza con la formación de taxa-(4,5), (11,12)-dieno, el primer compuesto en la ruta biosintética del taxol que presenta el esqueleto de taxoide. Esta reacción es catalizada por la enzima taxadieno sintasa (TS), una enzima formada por una proteína monomérica de 79 kDa con propiedades similares a otras ciclasas de terpenoides. La enzima fue purificada y caracterizada por Hezari,

Lewis y Croteau (17) y los genes que codifican para la TS fueron identificados y clonados por Wildung y Croteau (18).

El producto de la reacción es la hidroxilación de la posición del C5 por la enzima Cit P450 taxadieno- 5α -hidroxilasa (T5 α H) para formar taxa-4(20),11(12)-dien- 5α -ol. Esta enzima, aparte de su actividad de hidroxilasa, tiene condiciones de migración del doble enlace de 4(5) a 4(20). Estos 2 pasos metabólicos, ciclización e hidroxilación, son bajos, pero ellos no se observan, por ser limitantes en la velocidad en la biosíntesis del taxol.

El próximo paso en la ruta de biosíntesis que comienza a formar el taxol es catalizado por una enzima específica: taxadieno- 5α -ol-O-acetil transferasa (TDAT) que acila taxa-4(20),11(12)-dien- 5α -ol a la posición del C5 para formar taxa-4(20),11(12)-dien- 5α -il-acetato (19). Este taxoide es entonces hidroxilado por una P450 monooxigenasa, encontrada en *T. cuspidata* (árbol de tejo japonés), la cual cataliza la hidroxilación a la posición C10 para producir taxa-4(20),11(12)-dien- 5α , 10 β -diol 5-acetato.

La enzima que controla este paso, la taxoide 10 β -hidroxilasa (T10 β H) fue clonada y funcionalmente caracterizada en levaduras (19) En el 2001, otra Cit P450 hidroxilasa fue encontrada, usando taxa-4(20),11(29)-dien- 5α -ol como un sustrato, comenzando con la formación de taxa-4(20),11(12)-dien- 5α -13 α -diol. Esta enzima, la taxol 13 α -hidroxilasa (T13 α H), presenta 63% de identidad y 67% similitud con la hidroxilasa responsable para la hidroxilación en la posición C10. Al mismo tiempo, el hecho de que esta enzima use el mismo sustrato como TDAD, la taxa-4(20),11(12)-dien- 5α -ol, sugiere que la biosíntesis del taxol no es una ruta lineal y que algunas ramas de la ruta pueden dar comienzo a otros taxoides relacionados.

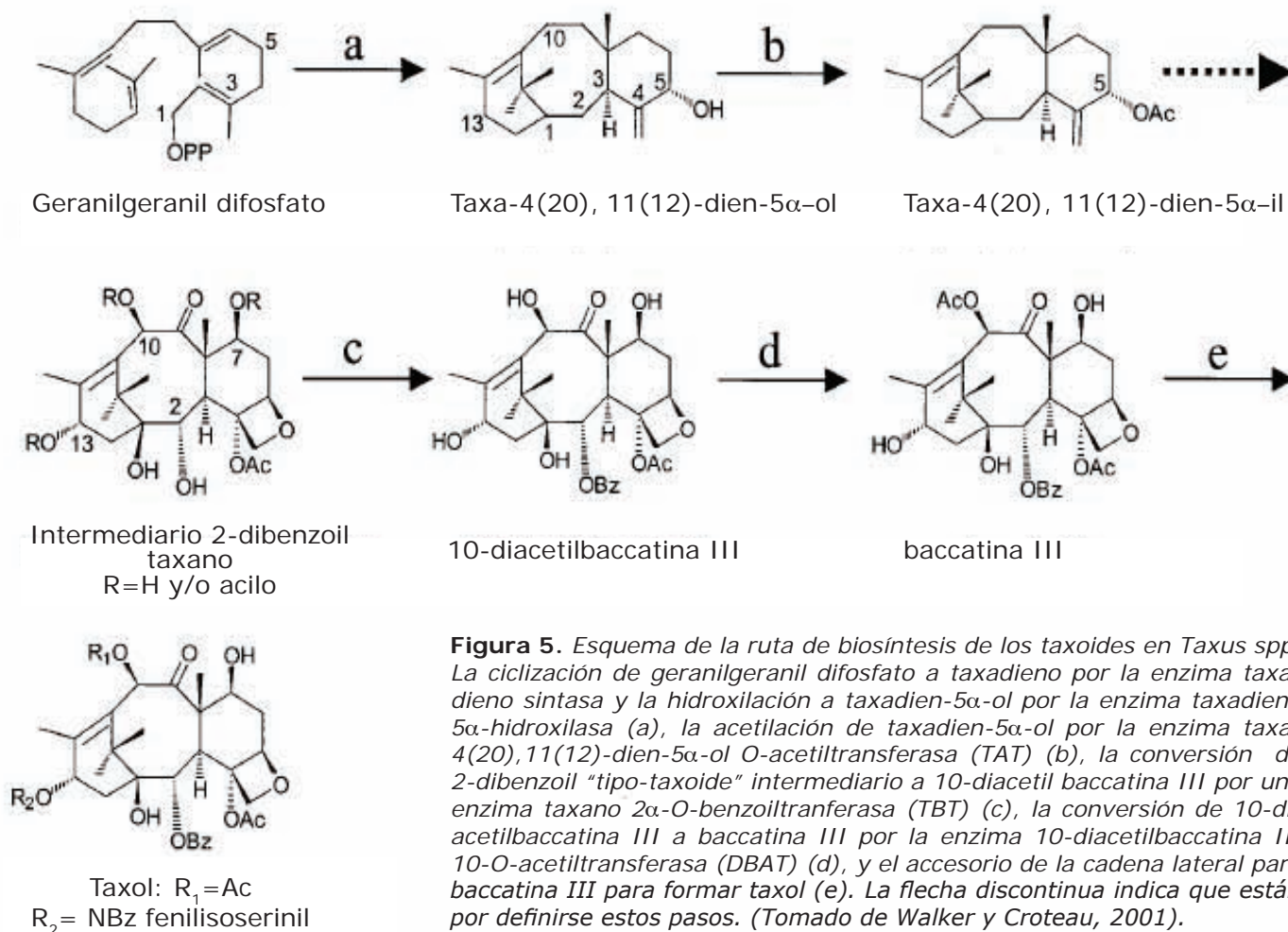


Figura 5. Esquema de la ruta de biosíntesis de los taxoides en *Taxus* spp. La ciclización de geranilgeranil difosfato a taxadieno por la enzima taxadieno sintasa y la hidroxilación a taxadien-5 α -ol por la enzima taxadieno 5 α -hidroxilasa (a), la acetilación de taxadien-5 α -ol por la enzima taxa-4(20),11(12)-dien-5 α -ol O-acetiltransferasa (TAT) (b), la conversión de 2-dibenzoil "tipo-taxoide" intermediario a 10-diacetil baccatina III por una enzima taxano 2 α -O-benzoiltransferasa (TBT) (c), la conversión de 10-diacetilbaccatina III a baccatina III por la enzima 10-diacetilbaccatina III 10-O-acetiltransferasa (DBAT) (d), y el accesorio de la cadena lateral para baccatina III para formar taxol (e). La flecha discontinua indica que están por definirse estos pasos. (Tomado de Walker y Croteau, 2001).

Se ha observado cómo este paso alternativo fue especialmente frecuente en cultivos de células suplementadas con metil jasmonato (20)

Otra Cit P450 hidroxilasa (taxoide 14 β -hidroxilasa; T14 β H) responsable para la producción de taxa-4(20),11(12)-dien-5 α -acetoxi-10 β -14 β -diol fue encontrada después (21). Esta enzima hidroxila a la posición del C10, pero no los hidroxila en la posición C13, sugiriendo que esta enzima podría estar involucrada en la producción del taxol desde este compuesto sin presentar alguna hidroxilación a la posición C14.

Después de la formación de taxa-4(20),11(12)-dien-5 α ,10 β -diol 5-acetato, se originan hidroxilaciones en las posiciones de C1, C2, C4 y C7, oxidación de C9 y epoxidación en el doble enlace C4C5 tomando lugar en la ruta biosintética del taxol. El orden de las hidroxilaciones mediadas por enzimas Cit P450 no es completamente conocida, pero ésta se ha determinado en base a la frecuencia de la oxidación de los taxoides que se han encontrado en cultivos de células, una secuencia probable podría ser: C5, C10, C2, C9, C13 y finalmente C1.

Se podría tomar en cuenta que algunos de los taxoides considerados podrían no participar en la formación del taxol o podrían ser artefactos de los cultivos *in vitro*, pero esta secuencia de oxidación se ha validado por análisis filogenéticos de enzimas taxoide oxigenasas P450 clonadas previamente. Sin embargo, la formación del anillo de oxetano es también muy importante, esto es esencial para la actividad anti-cáncer de la molécula del taxol. Diferentes mecanismos para su formación fueron propuestos, en la actualidad se acepta que tal proceso involucra la epoxidación del puente doble 4(20) seguido por una migración del grupo α -acetoxi del C5 a la posición C4 junto con la expansión del oxirano al grupo oxetano.

Es posible que la formación de oxirano/oxetano preceda a la hidroxilación del C1 en la biosíntesis del taxol, y en este caso el intermediario polihidroxiado hipotético podría ser más bien un taxadien-hexaol que un heptaol hidroxilado a C1 (22) La enzima que epoxida el doble enlace C4-C20 aún no se ha caracterizado funcionalmente y la expansión del anillo de oxirano-oxetano es también

un paso incompletamente conocido. Después de la formación del precursor polihidroxilado hipotético por la actividad de la enzima 2α -O-benzoil transferasa (DBT), el próximo compuesto obtenido es 10-diacetil baccatina III.

La enzima 10-diacetil-baccatinaIII-10-O-acetil transferasa (DBAT) entonces acila el grupo hidroxilo a la posición C10 para formar baccatina III. Un paso esencial en la biosíntesis del taxol es la esterificación del C13 del grupo hidroxilo de la baccatina III con la β -fenilalanoil-CoA cadena lateral. La cadena lateral es obtenida del aminoácido α -fenilalanina por la acción de la fenilalanina aminomutasa (PAM) (23) La cadena lateral C-13(2´R,´S),-N-benzoil-3´ fenilisoserina es esencial para la citotoxicidad, por lo que en relación con la cadena lateral se considera que la modificación o eliminación del 2´OH disminuye la actividad. Un grupo benzoil, alcanoil o tiogloil N-acilo en el C´3 es necesario. Un grupo fenilo o análogo similar es requerido. Si ocurre una reducción del grupo carbonilo C9 a un a-OH grupo ligeramente se incrementa la actividad. La esterificación, epimerización o remoción del grupo OH de C7 no causa disminución significativa de la actividad.

La oxigenación del C6 reduce la actividad, pero si se forma una contracción del anillo C a 5 anillos eslabonados, se reduce la actividad. La desacetilación y desoxiacetilación al C4 reduce la actividad en el C4 reduciéndose la actividad citotóxica. El grupo benzoiloxi del OH del C2 es esencial para la actividad pero si incrementa con la meta-substitución del grupo 2-benzoil. Los grupos acetil o acetoxi del C10 no son necesarios para la actividad.

La contracción del anillo A da productos con citotoxicidad reducida, pero la misma capacidad de polimerización de la tubulina. Una desconocida éster CoA ligasa probablemente activa el compuesto que puede unir a baccatina III. La enzima que cataliza la conjugación de la β -fenilalanoil-CoA cadena lateral a baccatina III es C-13-fenilpropanoil-CoA

transferasa (BAPT), mejorando o produciendo el compuesto 3´-N-dibenzoil-2´-dioxitaxol. Este compuesto, por la acción de una enzima desconocida Cit P450 hidroxilasa que hidroxila la posición C2´ y la enzima 3´-N-dibenzoil-2´-dioxitaxol N-benzoil transferasa (DBTNBT) que conjuga a benzoil-CoA a 3´-N-dibenzoil-2´-dioxitaxol produciendo taxol como un compuesto final (24). En la Tabla 1 se resumen los genes clonados involucrados en la ruta de biosíntesis del taxol (25).

En el metabolismo del paclitaxel, la regulación del flujo del carbono parece ser importante, porque la fuente de carbono es usada tanto en el metabolismo primario como en el secundario. Se conoce que los carbohidratos entran a la planta por una de las tres siguientes rutas: (a) a través de los canales plasmodesmata, (b) a través de la plasmamembrana como sacarosa y (c) a través de la plasmamembrana como hexosas. Cada ruta tiene el potencial de transmitir diferentes señales a un mecanismo de detección de carbohidratos. También se ha reportado que los grupos acetatos son buenos precursores para la síntesis del grupo acetilo de la molécula de taxol, y que la fenilalanina es un precursor para la síntesis de la cadena lateral de la molécula de taxol.


En resumen, la primera etapa específica de la biosíntesis de paclitaxel es la ciclación del GGPP en taxa-4(5), 11(12)-dieno, reacción catalizada por la enzima taxadieno sintasa. Posteriormente el esqueleto de taxano es modificado oxidativamente en un proceso que transcurre en unas diez etapas para dar lugar a la baccatina III. Entre los pasos intermediarios, está la ciclización de geranilgeranil difosfato a taxadieno, el cual es catalizado por la enzima taxadieno sintasa (TS) y la acetilación de 10-diacetilbaccatina III a baccatina III es catalizada por la enzima 10-diacetil baccatina III-10-O-acetil-transferasa (DBAT). En las últimas etapas de la ruta de síntesis del paclitaxel, tiene lugar la inclusión de la cadena de N-benzoil-3-fenilisoserina (26). 

TABLA 1

Genes clonados involucrados en la ruta de biosíntesis del taxol. (Tomado de Walker y Croteau, 2001).

Enzima	cDNA correspondiente a la enzima		
	Número de accesión en el banco de genes	Pares de bases	Enzima (kDa)
Taxadieno sintasa	AY364469	2,586	98.3
Geranil geranil pirofosfato sintasa	AF081514	1,182	42.6
Taxa-4(20),11(12)-dien-5 α -ol O-acetiltransferasa	AF190130	1,317	49
2 α -O-benzoil transferasa	AF297618	1,320	50
10-diacetil baccatina III-10-O-acetil-transferasa	AF193765	1,320	49
Taxano 10- β hidroxilasa	AF318211	1,494	56.7
Taxano 13- α hidroxilasa	AY056019	1,458	54.7
Baccatina III es C-13-fenilpropa-noil-CoA transferasa	AY082804	1,335	50
3'-N-dibenzoil-2'-dioxitaxol N-benzoil transferasa	AF466397	1,323	49
Taxano 2- α hidroxilasa	AY518383	1,488	55
Taxano 7- β hidroxilasa	AY307951	1,503	56.3
Taxano 5- α hidroxilasa	AY289209	1,509	56.8
Fenilalanina aminomutasa	AY582743	2,094	76.5

REFERENCIAS

- Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E (2010) Cancer Statistics, 2010. CA Cancer J Clin. <http://caonline.amcancersoc.org/cgi/content/abstract/caac.20073v1>
- G Ming-Bo, Z Wei, Y Xiang-Guo, X Hong-Bin (2010) Production of two intermediate taxoids, 2-hydroxy-5 α ,10 β -diacetoxytaxadiene and 2-hydroxy-5 α ,10 β ,14 β -triacetoxytaxadiene, from *Taxus chinensis* cell culture. African Journal of Biotechnology 9(49): 8486-8491.
- Soto M, Sanjurjo M, González MT, Cruz D, Giral F (2000) El tejo mexicano (*Taxus globosa* Sch.). Potencial de su aprovechamiento en taxol. Ciencia Ergo Sum 7:277-279.
- Liao Z, Chen M, Sun X, K Tang (2006) Micropropagation of endangered plant species. Methods Mol Biol 318: 179-185.
- Vongpaseuth K, Roberts SC (2007) Advances in the understanding of paclitaxel metabolism in tissue culture. Curr Pharm Biotechnol 8:219-236.
- Centelles JJ, Imperial S (2010) Paclitaxel, descubrimiento, propiedades y uso clínico. Fitoterapia 29:69-75.
- Eisenreich W, Mewnhard B, Hylands PJ, Zenk MH, Bacher A (1996) Studies on the biosynthesis of taxol: the taxane carbon skeleton is not of mevalonoid origin. PNAS 93:6431-6436.
- Sparano JA, Wang M, Martino S, Jones V, Perez EA, Saphner T, Wolff AC, Sledge GW, Wood WC, Davidson NE (2008) Weekly paclitaxel in the adjuvant treatment of breast cancer. N Engl J Med 358(16):1663-1671.
- Heinig U, Jennewein S (2009) Taxol: A complex diterpenoid natural product with an evolutionarily obscure origin. African Journal of Biotechnology 8(8):1370-1385.
- Diaz JF, Barasoain I, Souto AA, Amat-Guerri F, Andreu JM (2005). Macromolecular accessibility of fluorescent taxoids bound at a paclitaxel binding site in the microtubule surface. J Biol Chem 280: 3928-3937.

11. Barrales CHJ, Soto HM, Ramos VAC, Luna PRG, Trejo TLI, Martínez VM, Ramirez GME (2009) Inducción de callos *in vitro* de *Taxus globosa* a partir de acículas. 6^a Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales. Rev Latinoam de Quím Supl esp. ISSN 0370-5943. pp. 89.
12. Maheshwari P, Garg S, Kumar A (2008) Taxoids: Biosynthesis and *in vitro* production. Biotechnol Mol Biol Rev 3(4):071-087.
13. Eisenreich W, Mewnhard B, Hylands PJ, Zenk MH, Bacher A (1996) Studies on the biosynthesis of taxol: the taxane carbon skeleton is not of mevalonoid origin. PNAS 93:6431-6436.
14. Cusidó RM, Palazón J, Bonfill M, Navia-Osorio A, Morales C, Piñol MT (2002) Improved paclitaxel and baccatin III production in suspension cultures of *Taxus media*. Biothechnol Prog 18:418-423.
15. Walker K, Long R, Croteau R (2002) The final acylation step in taxol biosynthesis: cloning of the taxoid C13-side-chain N-benzoyltransferase from *Taxus*. PNAS 99:9166-9171.
16. Palazón J, Cusidó RM, Bonfill M, Mallol A, Moyano E, Morales C, Piñol MT (2003) Elicitation of different *Panax ginseng* transformed root phenotypes for an improved ginsenoside production. Plant Physiol Biochem 41:1019-1025.
17. Hezari M, Lewis NG, Croteau R (1995) Purification and characterization of taxa-4(5),11(12)-diene synthase from pacific yew (*Taxus brevifolia*) that catalyzes the first committed step of Taxol biosynthesis. Arch Biochem Biophys 322, 437-444.
18. Wildung MR, Croteau R (1996) A cDNA clone for taxadiene synthase that catalyzes the committed step of Taxol biosynthesis. J Biol Chem 271, 9201-9204.
19. Schoendorf A, Rithner ChD, Williams R, Croteau RB (2000) Molecular cloning of a cytochrome p450 taxane 10 β -hydroxylase cDNA from *Taxus* and functional expression in yeast. PNAS 98:1501-1506.
20. Walker K, Klettke K, Akiyama T, Croteau RB (2004) Cloning, heterologous expression, and characterization of a phenylalanine aminomutase involved in taxol biosynthesis. J Biol Chem 279:53947-53954.
21. Wheeler AL, Long RM, Ketchum RE, Rithner CD, Williams RM, Croteau R (2001) Taxol biosynthesis: differential transformations of taxadien-5 α -ol and its acetate ester by cytochrome p450 hydroxylases from *Taxus* suspension cells. Arch Biochem Biophys 390:265-278.
22. Jennewein S, Rithner ChD, Williams RM, Croteau R (2003) Taxol metabolism: taxoid 14 β -hydroxylase is a cytochrome p450-dependent monooxygenase. Arch Biochem Biophys 413:262-270.
23. Croteau RB, Ketchum REB, Long RM, Kaspera R, Wildung MR (2006) Taxol biosynthesis and molecular genetics. Phytochem Rev 5:75-97.
24. Walkerm K, Croteau R (2001). Taxol biosynthetic genes. Phytochemistry 58:1-7.
25. Kai G, Zhao L, Zhang L, Li Z, Guo B, Zhao D, Sun X, Miao Z, Tang K (2005) Characterization and expression profile analysis of a new cDNA encoding taxadiene synthase from *Taxus media*. J Biochem Mol Biol 38(6):668-675.
26. Wickremesinha ER, Artica R (1994) *Taxus* cell suspension cultures: optimizing growth and taxol production. J Plant Physiol 144:183-188.