

## TAKSOL VE TÜREVLERİNİN BİYOSENTEZİ

### THE BIOSYNTHESIS OF TAXOL AND DERIVATIVES

**Nurgün ERDEMOĞLU Bilge ŞENER**

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı, 06330 Etiler-ANKARA

#### ÖZET

*Taxol, Taxus brevifolia Nutt. 'nın (Taxaceae) kabuklarından izole edilen taksan tipi diterpenoit yapısında kuvvetli bir antikanser bileşiktir. Taxus cinsinin diğer türlerinde de bulunmaktadır. Doğal kaynağında az miktarda olması nedeniyle, taksol üretimi için alternatif metotların geliştirilmesi gerekmektedir. Bu nedenle, kompleks diterpenoit yapısındaki taksolü meydana getiren biyosentez yolları üzerinde yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Taksol ve türevlerinin biyosentezi çok basamaklı bir işlem olup bu çalışmada bir araya getirilmiştir.*

**Anahtar kelimeler:** *Taksol, paklitaksel, biyosentez, Taxus, Taxaceae*

#### ABSTRACT

*Taxol is a potent taxane-type diterpenoid anticancer agent isolated from the bark of the Pacific yew (Taxus brevifolia Nutt. ; Taxaceae). It is also present in other species of the genus Taxus. Alternative methods for the production of taxol have to be developed due to the limitation of its natural source. Therefore, it is of great interest to study the biosynthetic pathways leading to this complex diterpenoid compound. The biosynthesis of taxol and derivatives is a multistep process, which have been reviewed in this study.*

**Key Words:** *Taxol ,paclitaxel, biosynthesis, Taxus, Taxaceae*

## GİRİŞ

Doğal antikanser bileşiklerden birisi olan taksol (1, Paclitaxel)\* ovarium, meme ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinin tedavisinde etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Baş, boyun, gastrointestinal sistem ve mesane kanseri gibi çeşitli kanserlerin tedavisinde de ümit verici görünmektedir (1-3). *Vinca* alkaloidleri, kolşisin ve diğer antimitotik bileşiklerden farklı olarak mikrotubullerde tubulinin polimerizasyonunu artırmak ve dayanıklı mikrotubul toplulukları oluşturmak suretiyle etki göstermektedir (4,5). Elde edilmesindeki ve formülasyonundaki güçlükler nedeniyle bileşiğin klinikte uygulanması için çalışmalar uzun yıllar almıştır (6).

Taksol ilk defa 1971 yılında kuzeybatı pasifiğin iç kısmındaki dağlar ve kıyıları boyunca yetişen *Taxus brevifolia* Nutt.'nın kabuklarından düşük miktarda (% 0.02) izole edilmiştir (7). Diğer *Taxus* türlerinin de taksol ihtiva ettiği belirlenmiştir (8). *Taxus* türleri yavaş büyüyen, her zaman yeşil olan ve yeryüzünde seyrek bir yayılış gösteren ağaçlardır. *Taxus* ağaçlarında bulunan taksolün çok düşük miktarlarda olması ve ağaçların kesilmesiyle çevreye verilen tahrip nedeniyle, ilacın temini için alternatif kaynaklar araştırılmıştır (8,9).

Taksol doğada nadir görülen taksan diterpen iskeletine (pentametiltrisiklo [9.3.1.0<sup>-3-8</sup>]-pentadesen; IUPAC nomenklatürü) sahip, sekiz okso grubu ve bir yan zincir (N-benzoil fenilzoserin) ile toplam 11 stereomerkez taşıyan kompleks bir bileşiktir (7).

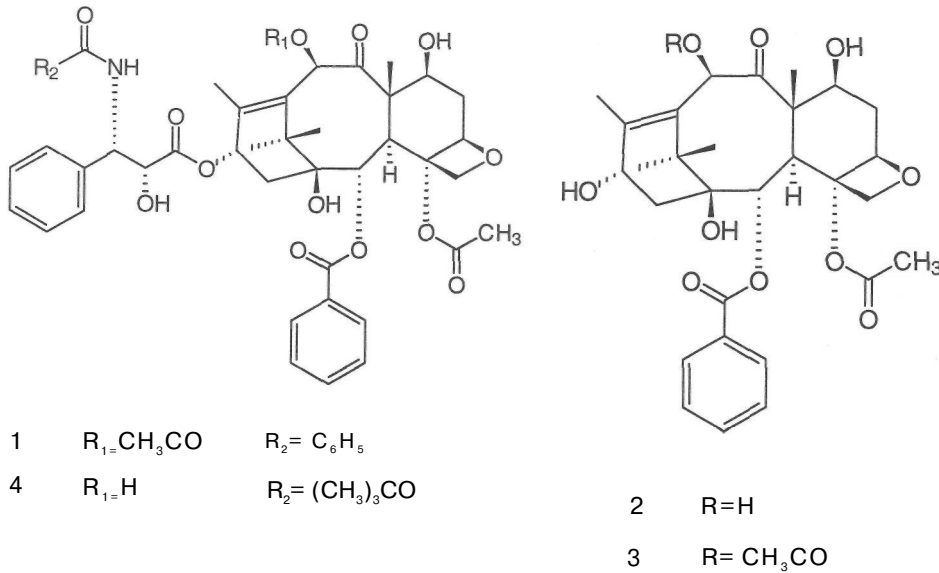
Bugüne kadar HOLTON (10,11), NICOLAOU (12) ve DANISHEFSKY (13) tarafından üç ayrı yolla total sentezi gerçekleştirilmiştir. Ancak yüksek maliyet gerektirmelerinden dolayı bu yaklaşımlar ticari olarak değerlendirilememektedir (14). *Taxus baccata* L.'nin ağaca zarar vermeden toplanabilen ve yenilenebilir kısmı olan yapraklarından yüksek oranda (% 0.1) elde edilen 10-deasetilbakkatin **III** (2) ve bakkatin III'den (3) hareketle yarısentez sonucu taksol (15-17) ve bugün tedavide kullanılan taxotere (4, docetaxel)\*\* (15,18,19) sentezlenmiştir. Son yıllara kadar ilaç hazırlanmasında yarısentez sonucu elde edilen taksol kullanılmıştır (8,14). Çok yeni olarak *Taxus baccata* yapraklarından elde edilen bakkatin **III** ve 10-deasetil türevinden biyotransformasyon yoluyla elde edilen taksol de ilaç hazırlanmasında kullanılmaktadır (14).

Paclitaxel, TAXOL® ün Bristol-Myers Squibb firması tarafından tescilli jenerik ismidir.

Docetaxel, TAXOTERE İN® Rhone-Poulenc Rorer firması tarafından tescilli jenerik ismidir.

*Taxus* türlerinden taksol ve diğer taksanları bitki hücre ve doku kültürü metotları ile üretmek için çeşitli gruplar çalışmaktadır. Bu yolla taksol üretimi sağlanmıştır (20,21). Ayrıca *Taxus brevifolia*'dan elde edilen endofitik bir mantar olan *Taxomyces andreana*'nın da taksol ve benzeri taksanları ürettiği belirlenmiştir (22,23). Daha sonra diğer *Taxus* türlerinde de taksol üreten mikroorganizmaların varlığı belirlenmiştir (24,25). Ancak bu üretim alternatifleri henüz ticari olarak uygulanabilir değildir.

Ovaryum, meme ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinin tedavisinde etkili bir ilaç olarak kullanılan taksol'ün artan ihtiyacı ve üretiminin biyolojik metotlar üzerine kurulması (9,14), taksol biyosentezinin ayrıntılı açıklanmasını gerektirmiştir. Bu nedenle dünyada bir çok grup tarafından taksolün biyosentez basamakları araştırılmıştır. Taksol'ün biyosentez basamakları ile ilgili bilgiler, açıklanmayan bazı ara basamaklar olmakla birlikte ancak son yıllarda belirlenebilmiştir (26,27). Bu makalede, bugüne kadar taksol ve türevleri üzerinde gerçekleştirilen biyogenez ve biyosentez çalışmaları derlenmiştir.



## TAKSOL ve TÜREVLERİ ÜZERİNE YAPILAN BİYOGENETİK ÇALIŞMALAR

Taksan diterpenoitlerinin biyosentezi üzerine yapılan ilk çalışmalar LYTHGOE ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir. Geranil geraniolden hareketle bir seri siklizasyon reaksiyonu sonucu taksan yapısını elde ettikleri biyogenetik hipotezi açıklamışlardır (28). POTIER ve arkadaşları bir olefin yapısında olan vertisillen'den hareketle, bir seri oksijenasyon ve asetilasyon reaksiyonları ile taksan türevlerinin biyogenezini bildirmişlerdir (29). Bu hipotez

daha önceki çalışmamızda sunulmuştur (30). Vertisillen C-11, C-12'de bir çift bağ ve C-1'de  $\beta$  pozisyonda hidrojen taşıyan taksan yapısında meydana getirilmiş sentetik bir hidrokarbondur. Vertisillen'in siklizasyonu ile oluştuğu düşünülen taksadien yapısının, taksan türevi bileşiklerin ana iskeleti olan diterpenoit hidrokarbonun prekürsörü olduğu varsayılmaktadır. Hidrokarbon vertisillen'in sentezi gerçekleştirilmesine rağmen, taksan türevlerine *in vitro* siklizasyonları için yapılan çeşitli denemelerde başarı sağlanamamıştır (29).

Taksoitlerin biyogenezi ile ilgili radyoaktif işaretli prekürsörlerle yapılan *in vivo* çalışmalarda taksol'ün ana iskeletinin mevalonat, asetil sübtütüsyonlarının asetat ve yan zincirinin fenilalanin'den oluştuğu gösterilmiştir (31). ZENK ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarla taksan diterpenoit iskeletinin biyosentezindeki ilk basamağın geranilgeranil difosfatın teşekkülü olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışmalarında, taksan iskeletinin mevalonoit orijinli olmadığını tespit etmişlerdir (32). Fakat daha sonra yapılan çalışmalarda izoprenoit biyosentezi için ara ürün olan izopentenildifosfat orijinli alternatif bir yol öne sürülmüştür (26).

FLOSS ve arkadaşları tarafından *in vivo* çalışmalarla, taksolün yan zincirinin biyosentezi açıklanmıştır. Yan zincir türevlerinin tamamen fenilalaninden başladığını belirlemişlerdir (33,34). FLOS ve MOCEK taksol'e giden biyogenetik yolu açıklamışlardır (35). 1995 yılından sonra CROTEAU ve arkadaşları tarafından yapılan yoğun çalışmalarla taksol biyosentezi bazı ara basamakları hariç olmak üzere kesinlik kazanmıştır (26).

Taksanların biyosentezi üzerine yapılan çalışmaların hemen hemen hepsinde, bütün bitki veya yaprak, dal, kabuk gibi bitki kısımlarında radyoaktif veya stabil izotopla işaretlenmiş prekürsörlerin kullanıldığı *in vivo* deneyler yer almaktadır (35).

Taksol ve benzeri taksoitlerin kompleks bir diterpen yapısında olmaları nedeniyle biyosentezleri üç basamakta tamamlanmaktadır:

- a) Diterpen kısmının meydana gelmesi
- b) Fenilizerin yan zincirinin meydana gelmesi
- c) Taksan türevlerinin meydana gelmesi

#### **a) Diterpen Kısmının Meydana Gelmesi**

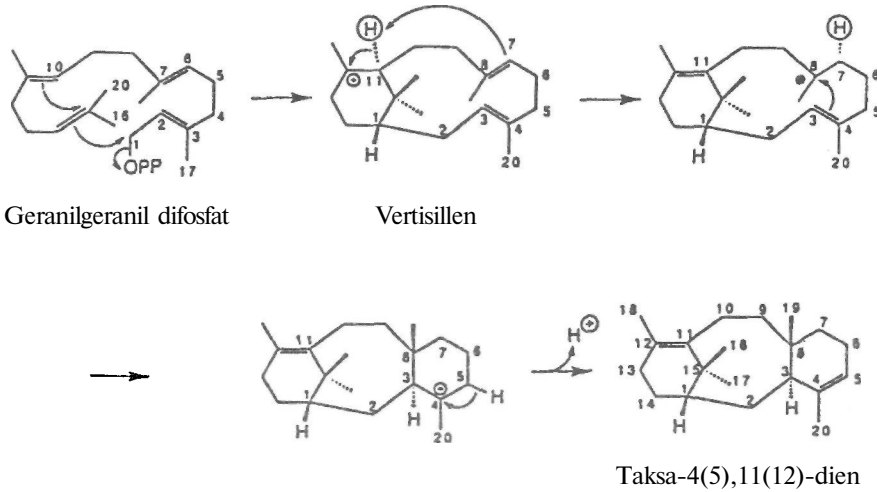
Taksoitlerin diterpen kısmı taksadien oluşumunu takiben taksadienol'ün meydana gelmesi ve nihayet taksadienol'ün açılması ile teşekkül etmektedir.

### Taksadien Oluşumu

Taksol ve benzeri taksoitlerin biyosentezinde ilk basamak diterpenoit prekürsörü olan geranilgeranil pirofosfatın taksa-4(5),11(12)-dien'e siklizasyonudur (36) (Şekil 1). C-4(20) ekzosiklik bağlı bileşiklerin çok sayıda olmasından dolayı daha önceden bu bileşik, ekzosiklik izomeri olan taksa-4(20),11(12)-dien olarak düşünülmüştür (29,35). *T. brevifolia*'nın gövde kesitleriyle yapılan *in vivo* çalışmalarda taksa-4(5),11(12)-dien işaretlenerek kullanılmış ve sonuçta taksol ve benzeri taksoitlerin yapılarında varlığı tespit edilmiştir. *T. brevifolia*'nın kabuklarında taksa-4(5),11(12)-dien çok az miktarda (kuru ağırlıkta 5-10 µg/kg) bulunurken, ekzosiklik izomer saptanmamıştır (36).

*T. brevifolia*'nın gövde örneklerinden hazırlanan, hücreden serbest bir enzim sisteminin geranilgeranil pirofosfatın taksa-4(5),11(12)-dien'e dönüşümünü iki değerli metal iyonuna bağlı olarak katalize ettiği gösterilmiştir. Bu enzim esas olarak gövde kabuklarında bulunmakta ve kambiyum hücrelerine yapışmaktadır. Siklizasyonu gerçekleştiren taksadien sentaz enzimi kromatografi ve elektroforez yolu ile temizlenerek 79000 molekül ağırlığında monomerik bir protein olarak belirlenmiştir. Taksadien sentaz PH 8.5'ta ve kofaktör olarak  $Mg^{+2}$  iyonunun varlığında aktiftir (37).

Önerilen siklizasyon reaksiyonunun mekanizması incelendiğinde; geranilgeranil difosfatın taksadien sentaz katalizörlüğünde taksa-4(5),11(12)-dien'e siklizasyonu sırasında geçici bir ara ürün olarak 1S-vertisillen oluşmaktadır. C-11 $\alpha$  protonunun C-7'ye transferi ile başlayan ve transannular B/C halkasının kapanmasıyla taksenil katyonunun oluşması, takiben C-5'de deprotonasyonla taksa-4(5),11(12)-dien ara ürünü elde edilmektedir (38) (Şekil 1).



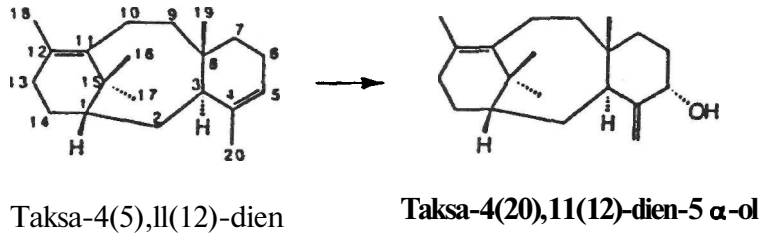
Şekil 1. Geranilgeranil difosfat'ın Taksa-4(5),11(12)-dien'e Dönüşmesi.

Biyosentezin diğer basamaklarına göre oldukça yavaş olan bu ilk basamak, cDNA'yı kodlayan taksadien sentaz'ın araştırılmasına neden olmuştur. Enzimi klonlama amacıyla kullanmak için amino asit sırasını belirlemek üzere yapılan girişimler başarılı olamamıştır. Amino asit sırasını öğrenmek için PCR (Polimer Chain Reaction)'a bağlı, diğer bilinen bitkisel orjinli terpenoit sıklaz'ların homolog sıralanmasına dayalı olarak adapte edilmiş stratejiler geliştirilmiştir. Bu metotlar sayesinde küçük bir DNA bölümü elde edilmiş ve *T. brevifolia* gövdesindeki cDNA'yı ortaya çıkarmak için kullanılmıştır. Bu yolla çeşitli cDNA klonları izole edilmiştir. İzole edilen cDNA'lardan birisi fonksiyonel olarak *Escherichia coli*'ye aktarılmıştır. Bu şekilde geranilgeranil pirofosfatın taksa-4(5),11(12)-dien'e siklizasyonunu sağlayan bir enzim elde edilmiştir. Enzim 2586 nükleotit ve 862 amino asit artığına, uzun bir plastidal yapıya ve 98303 molekül ağırlığına sahip bulunmuştur. Diğer Gymnospermae bitkilerinden elde edilen terpenoit sıklaz'larla karşılaştırıldığında önemli bir benzerlik görülmüştür. Bu da, bu sınıf enzimlerin belli bir kökenden geldiği fikrini desteklemektedir (39).

Taksadien sentaz'ın hasar görmemiş dokulardaki olası rolünü belirlemek üzere *T. canadensis*'in heterotrofik süspansiyon hücre kültürleri deneysel bir sistem olarak kullanılmıştır. Bu kaynaktan izole edilen enzim *T. brevifolia*'dan elde edilen enzimle aynı bulunmuştur. Hücre kültürlerinde taksol birikimi ve enzim aktivite düzeylerinin analizleri yapılmış, taksadien sentaz aktivitesinin taksol birikiminin başlamasından önce arttığı, stasyonere fazda sürekliliğinin devam ettiği ve *in vitro* olarak ölçülen sentaz aktivitesinin *in vivo* taksol birikiminin maksimum hızından daha fazla olduğu belirlenmiştir (26).

#### *Taksadienol Oluşumu*

C-4(5) çifte bağ taşıyan oksijenli taksoitlerin olmamasına karşılık C-4(20)-en-5-oksi fonksiyonel grubu taşıyan çok sayıda taksoitin bilinmesi, taksa-4(5),11(12)-dien'in C-5'de hidroksilasyonu ile çifte bağın kaydığını düşündürmektedir. Taksoitlerin biyosentezindeki muhtemel ikinci basamak, taksadien-5-hidroksilaz tarafından katalizlenen 5 $\alpha$ -hidroksilasyon basamağıdır (Şekil 2). *Taxus* gövdesinden hazırlanan mikrozomal preparasyonlar ve kültüre alınmış hücrelerde taksa-4(5),11(12)-dien'in bir alkole dönüşümünün NADPH ve oksijen bağımlı olarak taksa-4(5),11(12)-dien-5 $\alpha$ -hidroksilaz tarafından katalizlendiğini göstermiştir. Taksa-4(5),11(12)-dien-5 $\alpha$ -ol'ün oluşumu total sentezle hazırlanan standartla karşılaştırılarak doğrulanmıştır (26,27,40).



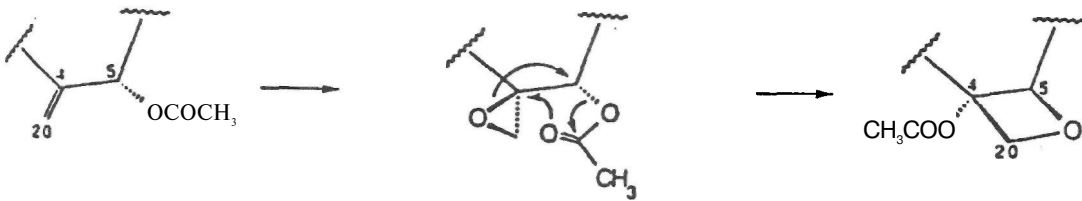
**Şekil 2.** Taksadienol'ün Meydana Gelmesi

Taksadien'in taksadienol'e dönüşümündeki mekanizmanın bir epoksit ara ürünü mü içerdiği yoksa C-5'e oksijen girmesi şekilde mi olduğu henüz belli değildir. Bununla birlikte ilk oksijenli ara ürünü meydana getiren hidroksilasyon reaksiyonunun sık görülmeyen bir çift bağın yer değiştirmesi ile ilgili olduğu bilinmekte ve taksol'ün oksetan halkasının bu bölgeden oluşmasının sağlanması bakımından önem taşımaktadır (36). Bir biyosentez ara ürünü olan taksa-4(5),11(12)-dien-5α-ol'ün önemi *T. brevifolia*'nın gövde disklerinde 10-deasetilbakkatin III, sefalomannin ve taksol'e *in vivo* dönüşümü ile doğrulanmıştır. *In vivo* çalışmalarla taksoit biyosentezindeki ilk oksijenasyon basamağının ardından gelen metabolik transformasyonlara göre daha yavaş gerçekleştiği için gen izolasyonunda önemli olduğu belirlenmiştir (26).

#### *Taksadienol'ün Açılması*

C-5 pozisyonundan açılmış doğal olarak bilinen pek çok taksoitin varlığı, biyosentezde muhtemel sonraki basamak olarak taksa-4(5),11(12)-dien-5α-ol'ün açılmasını düşündürmektedir.

Reaksiyon mekanizmasına bakıldığında, taksadienol'ün açılması ile 4(20)-en-5α-asetat grubunun oluştuğu görülmektedir. Daha sonra 4(20) çifte bağın epoksidasyonu ve bunu takiben intramoleküler asetoksi göçü meydana gelmekte ve oksiran halkasının açılması ile oksetan halkası oluşmaktadır (26,27,29,35) (Şekil 3).

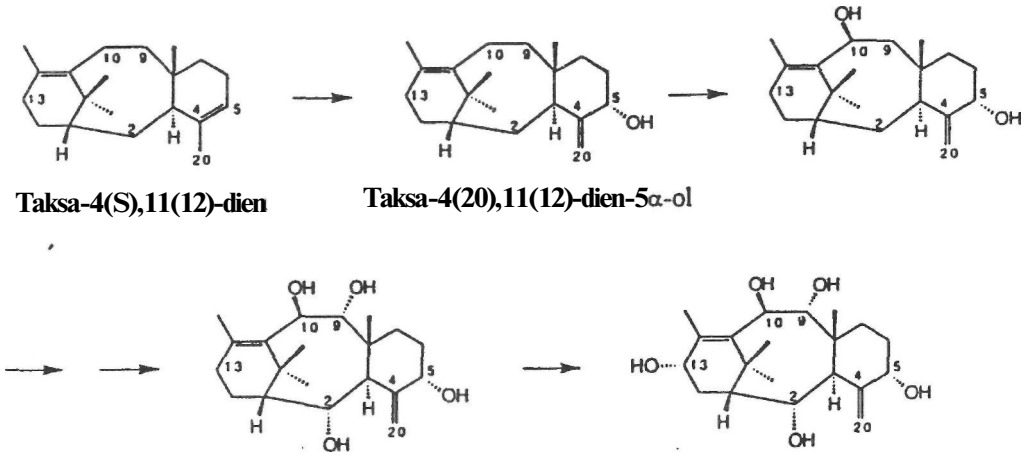


**Şekil 3.** Taksadienol'ün Açılması.

*T. canadensis* hücre kültür süspansiyonundan hazırlanan çözünebilir bir enzimin asetil koenzim A'ya bağlı olarak taksa-4(5),11(12)-dien-5 $\alpha$ -ol'ün açılmasını katalize ettiği gösterilmiştir. Transasetilaz kısmen saflaştırılarak monomerik protein yapısında bir enzim olduğu belirlenmiştir (26).

### Çeşitli Oksijenasyon Basamakları

Taksan iskeletinin oluşumunu takiben çeşitli fonksiyonel grupların halkaya bağlanması için ek oksijenasyonlar ve hidroksil grubunun açılması gerçekleşmektedir. Doğal taksoitlerdeki oksijenasyon C-5, C-10, C-2, C-9 ve C-13 konumlarındadır (35). Bu da taksa-4(5),11(12)-dien'in pentaol seviyesine kadar dönüşebildiği düşünülmektedir (26,40) (Şekil 4).



Şekil 4. Taksa-4(5), 11(12)-dien' in Hidroksilasyonu.

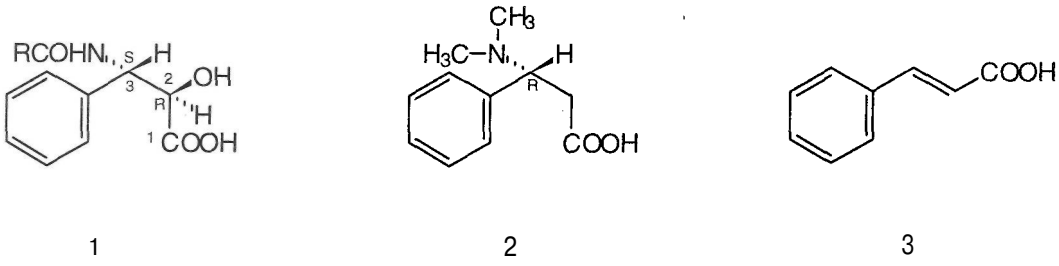
Oksijenasyon reaksiyonlarının muhtemelen sitokrom P450 oksijenaz tarafından katalize edildiği düşünülmektedir. C-5'ten sonraki hidroksilasyon basamakları için gerekli oksijenasyon reaksiyonlarının sırası bilinmemektedir (26,40).

### b) Fenilzoserin Yan Zincirinin Meydana Gelmesi

Taksanlarda üç tip fenilpropanoit yan zinciri görülmektedir:

- N-açıl (2R,3S)-fenilzoserin (1) (N açıl grupları: benzoil, tigloil veya hekzanoil)
- (3R)-N,N-dimetil-P-fenilalanin (Winterstein asiti) (2)
- Sinamik asit (3)





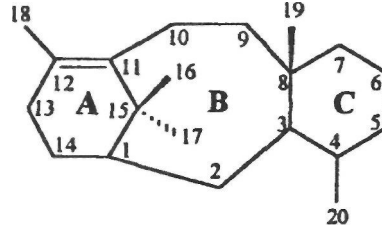
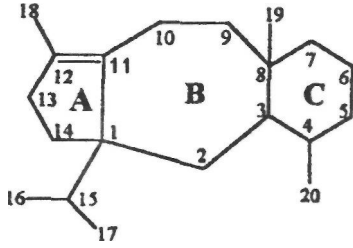
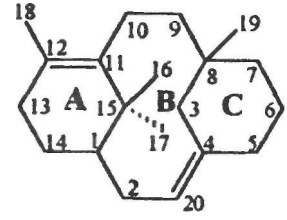
*T. brevifolia*'nın kesilmiş gövde veya iç kabuğunda işaretlenmiş radyoaktif veya stabil prekürsörlerle yapılan çalışmalar sonucunda FLOS ve arkadaşları fenilpropanoit yan zincirinin fenilalanin'den sinnamik asit yoluyla değil,  $\beta$ -fenilalanin ve fenilizoserin yoluyla meydana geldiğini göstermişlerdir. Biyosentez bir fenilalanin aminomutaz reaksiyonunu içermektedir (33,41).

### ***Benzoat Kısmı***

Fenilalanin'den meydana gelen fenilpropanoit yan zincirinin diterpen ana yapısına bağlanmasından sonra yan zincirde benzoilasyonun meydana geldiği bildirilmiştir. Benzoat kısmı  $\beta$ -fenilalanin ve fenilizoserin yoluyla fenilalanin'den meydana gelmektedir (34).

### **c) Taksan Türevlerinin Meydana Gelmesi**

Bugüne kadar *Taxus* türlerinden 250'den fazla taksan türevi bileşik izole edilmiştir (42). Bu bileşikler "taksoitler" adıyla da bilinmektedir. *Taxus* türlerinden elde edilen bu bileşikler; temel taksoit halka sistemi, A-Nortaksoit [11(15 $\rightarrow$ 1)abeotaksoit] ve 2(3 $\rightarrow$ 20)abeotaksoit halka sistemi olmak üzere başlıca üç farklı ana iskelete sahiptir (42,43).

**Temel taksoit halka sistemi****(6/8/6 üyeli)****A-Nor taksoitler****(5/7/6 üyeli)****2(3→20)abeotaksoitler****(6/10/6 üyeli)**

Doğal olarak izole edilen taksoitler 7 ana grup altında toplanabilirler (42,43):

- I. C-4(20) Ekzosiklik çifte bağ taşıyan taksoitler
- II. Bir transannular bağlı taksoitler  
[ C-12(16)-oksido veya C-3(1 1) köprülü ]
- III. C-4(20) Epoksit halkası taşıyan taksoitler
- IV. C-4(20) Oksetan halkası taşıyan taksoitler
- V. A-Nor taksoitler
- VI. 2(3→20) Abeotaksoitler
- VII. Diğerleri

A-Nortaksoit ve 2(3→20)abeotaksoit halka sistemi taşıyan diterpenler için geranilgeranil pirofosfat'tan hareketle bir seri siklizasyon reaksiyonu sonucu, Şekil 5'de verilen biyogenetik hipotez kabul edilmektedir (44).

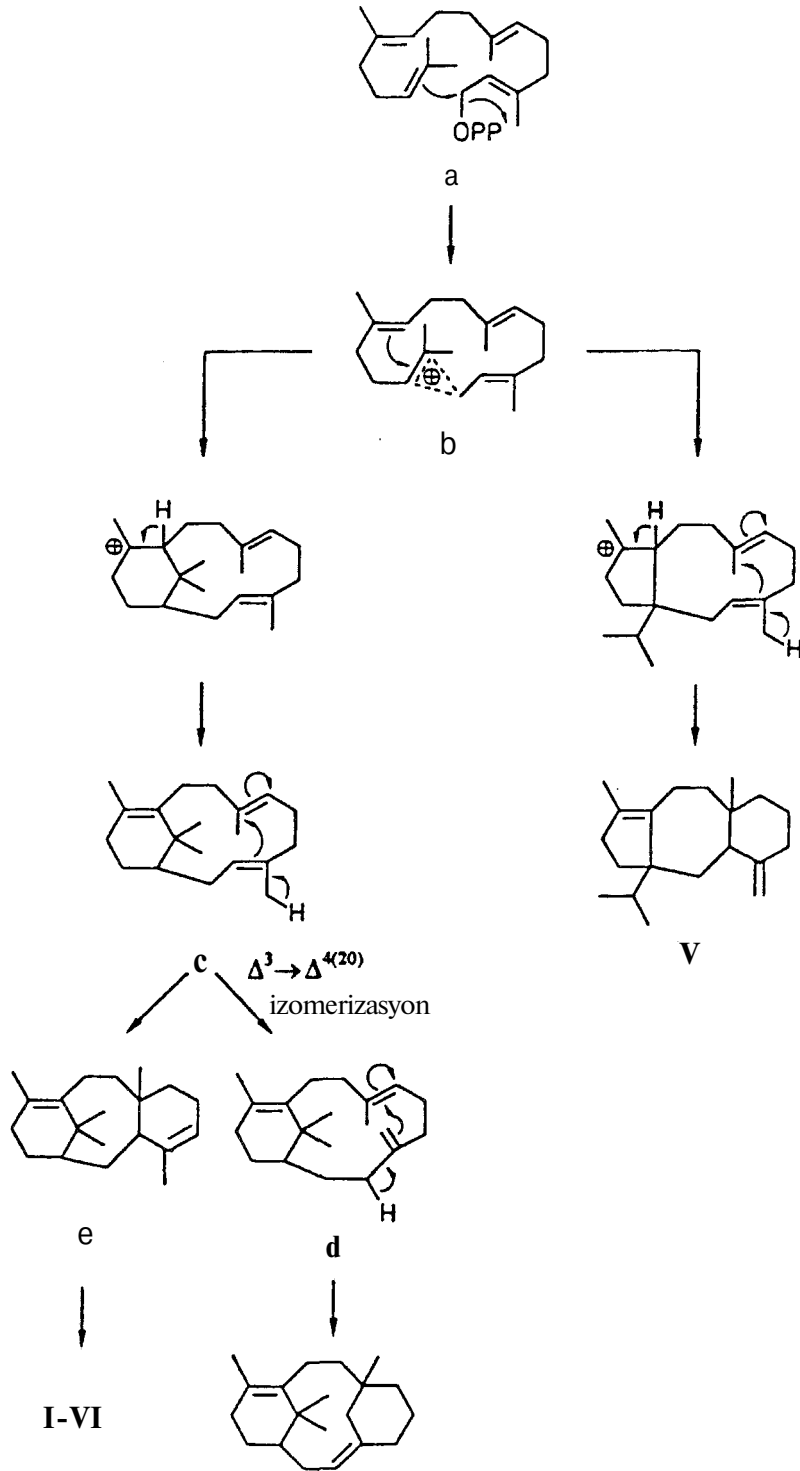
Her üç grup için de ana prekürsör geranilgeranil pirofosfat'tır (a). Prekürsörün siklizasyon şekline (b) bağlı olarak 5 veya 6 üyeli A halkasının oluşumu gerçekleşir (44) (Şekil 5).

I. ( C-4(20) ekzosiklik çifte bağ taşıyan taksoitler), II. (Bir transannular bağlı taksoitler), III. (C-4(20) epoksit halkası taşıyan taksoitler) ve IV. (Bir oksetan halkası taşıyan taksoitler) grup bileşikler geranilgeranil pirofosfat'ın siklize olduğu taksa-4(5),11(12)-dien'den (e) hareketle meydana gelirler (Şekil 5). Taksadien'den hareketle de sırasıyla 4(20)ekzosiklik çifte bağ, 4(20)epoksit halkası ve oksetan halkası taşıyan bileşikler oluşmaktadır (26,44) (Şekil 3). Bir transannular bağ taşıyan bileşiklerin muhtemelen bitkideki bir parçalanma mekanizması ile meydana geldiği düşünülmektedir (45).

V. grup bileşikler (A-nortaksoitler) geranilgeranil pirofosfat'ın siklizasyonu ile oluşan ara ürün b'nin kapanma şekline göre, önce 5 üyeli A halkasının ve ardından 6 üyeli C halkasının oluşumu meydana gelmektedir (44,46) (Şekil 5).

VI. grup bileşikler [2(3→20)abeotaksoitler] prekürsör c'den  $\Delta^3 \rightarrow \Delta^{4(20)}$  izomerizasyon ile oluşan izomerik vertisilladien'den (d) hareketle meydana gelirler (44,47) (Şekil 5).

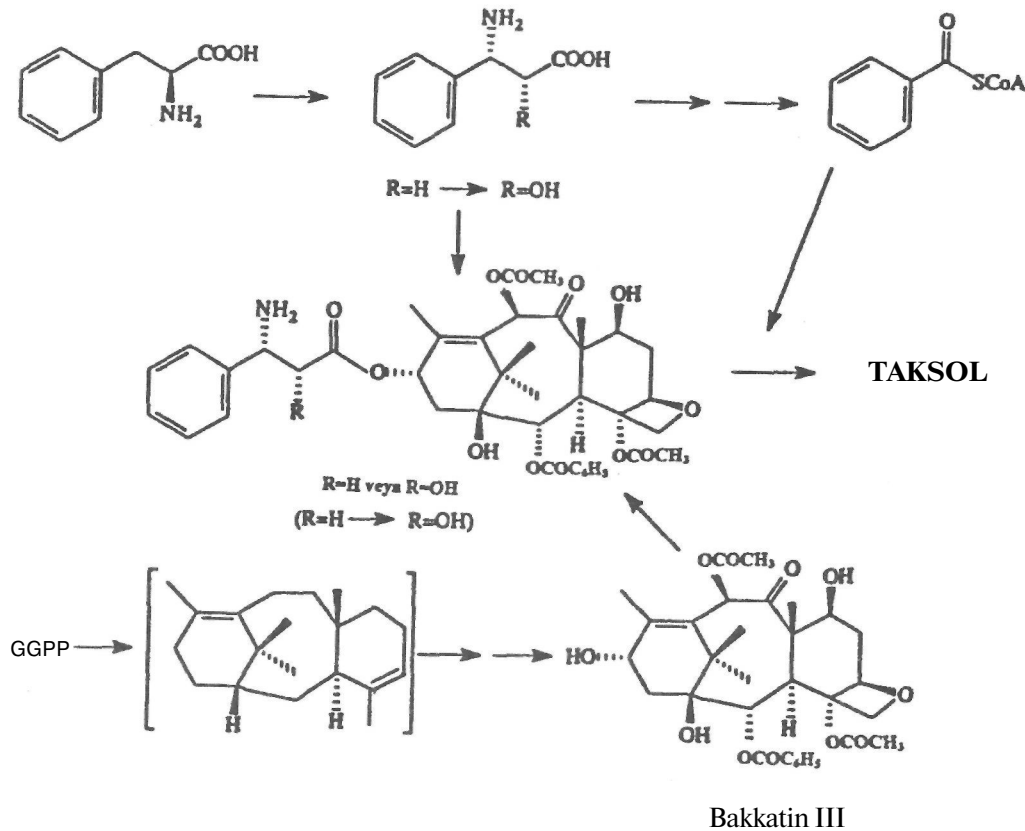
VII. grup içinde çeşitli yapıda taksoitler yer almaktadır. Bu grup içerisinde bulunan bisiklik türevlerden *T. canadensis'ten* elde edilmiş olan canadensene'nin *T. canadensis* içerisinde bulunan taksoitlerin biyogenezinde rol alan bir prekürsör olabileceği düşünülmüş (48) ve deneysel modeller oluşturularak bu hipotez desteklenmeye çalışılmıştır (49). Yine *T. chinensis'ten* elde edilmiş olan bisiklik bileşiklerin, bisiklik vertisillen yoluyla taksanların biyogenezi hipotezini doğruladığı bildirilmiştir (50) (Şekil 1).



Şekil 5. Taksan Türevlerinin Biyosentezi.

### Taksol'ün Biyosentezi

IV. grup taksoitlerin bir üyesi olan taksol, bitkide başlangıç maddesi olarak bilinen bakkatin III'ten hareketle meydana gelmektedir. Asiklik diterpenoit prekürsörü olan geranilgeranil pirofosfatın taksadiene siklizasyonu ile başlayan bir seri hidrosilasyon, açılasyon ve oksetan halkasının oluşması neticesinde bakkatin III meydana gelmektedir. Bu reaksiyonlardan bağımsız olarak fenilalanin'den  $\beta$ -fenilalanin ve fenilzoserin yoluyla fenilpropanoit yan zinciri teşekkül etmektedir. Bu zincirin C-13'ten bakkatin III'e bağlanması, fenilalanin orjinli benzoat kısmının yan zincire eklenmesiyle taksol biyosentezi tamamlanmaktadır (34,35) (Şekil 6).



Şekil 6. Taksol'ün Biyosentezi.

Son yıllarda *T. baccata* köklerinde yapılan bir çalışmada taksol'ün prekürsörü olarak bilinen bakkatin III'ün, 10-deasetilbakkatin III'ün asetillendiği bir ara reaksiyon sonucu olduğu bildirilmiştir. *T. baccata* köklerinin ham ekstresi içinde 10-deasetilbakkatin III'ün asetilasyonunu sağlayan enzimatik bir reaksiyonun varlığı da tespit edilmiştir (51).

STROBEL ve arkadaşları tarafından çeşitli *Taxus* türlerinde taksol'ün oluşumu radyoaktif işaretli asetat prekürsörü kullanılarak incelenmiştir. Sonuçta taksol'ün biyosentezinin en fazla kabukta kambiyum bölgesinde, takiben floem ve sert odun bölgesinde gerçekleştiği tespit edilmiştir (52). STROBEL ve arkadaşları tarafından *T. brevifolia*'da yapılan *in vitro* bir çalışma ile, taksol üretimine çevresel, genetik ve bitki kısmı gibi fizyolojik ve mikrobiyolojik faktörlerin etki ettiği gösterilmiştir (41).

## SONUÇ

Doğal antikanser bileşiklerden birisi olan taksol bugün ovaryum, meme ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserinin tedavisinde tek veya diğer kemoterapötik bileşiklerle birlikte kullanılmaktadır (1,2). İlk olarak Pasifik kıyıları boyunca yetişen *Taxus brevifolia* ağaçlarının kabuğundan elde edilmiştir (7). Ağaçtaki taksol miktarının düşük olması nedeniyle prelinik ve klinik çalışmalar, taksol teminindeki güçlükten dolayı sınırlandırılmıştır (6,9). 1 kg kuru ağaç kabuğundan 50-150 mg saftaksol elde edilmekte, 1 g madde temin edebilmek için 3 veya 4 adet 60 yıllık ağacın kabuğu gerekli olmaktadır (53). *Taxus* türlerinde bulunan taksol miktarının düşük olması, tedavide kullanılacak olan taksolün temini için alternatif kaynaklar aranmasına yol açmıştır. Bu amaçla çeşitli araştırmacılar tarafından taksolün yarısentetik, sentetik ve biyolojik (genetik, doku ve hücre kültürü, mikroorganizmalardan elde etme) yollarla elde edilmesi yönünde çalışmalar yapılmış ve yapılmaya da devam etmektedir (6,8,9,14).

Tedavide taksolün artan ihtiyacı ve alternatif taksol kaynakları içinde gelecekte en ümit verici yolun biyolojik metotlar olmasından dolayı, taksolün bitkideki biyosentezinin tam olarak bilinmesi gerekmektedir. Bugüne kadar biyosentez ile ilgili çalışmaların özetlendiği bu derlemede, taksol ve türevlerinin biyosentezinin üç basamakta gerçekleştiği ve bu basamaklarla ilgili çalışmalar özetlenmiştir.

## KAYNAKLAR

1. **Rowinsky, E.K.** "The Development and Clinical Utility of the Taxane Class of Antimicrotubule Chemotherapy Agents" *Annu. Rev. Med.* , 48, 353-74 (1997).
2. **Eisenhauer, E.A., Vermorken, J.B.** "The Taxoids" *Drugs*, 55(1), 5-30 (1998).
3. **Arbuck, S.G., Blaylock, B.A.** "Taxol: Clinical Results and Current Issues in Development" in *Taxol: Science and Applications*, Suffness, M. (Ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida, 379-415(1995).
4. **Schiff, P.B., Fant, J., Horwitz, S.B.** "Promotion of Microtubule Assembly *in vitro* by Taxol" *Nature*, 277, 665-7 (1979).
5. **Horwitz, S.B.** "Mechanism of Action of Taxol" *Trends Pharmacol. Sci.* 13(4), 134-6, (1992).
6. **Suffness, M., Wall, M.E.** "Discovery and Development of Taxol" in *Taxol: Science and Applications*, Suffness, M. (Ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida, 3-25 (1995).
7. **Wani, M.C., Taylor, H.L., Wall, M.E., Coggon, P., McPhail, A.T.** "Plant Antitumor Agents. VI. The Isolation and Structure of Taxol, A Novel Antileukemic and Antitumor Agent from *Taxus brevifolia*" *J. Am. Chem. Soc.* 93(9), 2325-7 (1971).
8. **Croom, E.M.** "Taxus for Taxol and Taxoids" in *Taxol: Science and Applications*, Suffness, M. (Ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida, 37-70 (1995).
9. **Cragg, G.M., Schepartz, S.A., Suffness, M., Grever, M.R.** "The Taxol Supply Crisis. New NCI Policies for Handling the Large-Scale Production of Novel Natural Product Anticancer and Anti-HIV Agents" *J. Nat. Prod.*, 56(10), 1657-68 (1993).
10. **Holton, R.A., Somoza, C, Kim, H., Liang, F., Biediger, J., Boatman, P..D., Shindo, M., Smith, C.C, Kim, S., Nadizadeh, H., Suzuki, Y., Tao, C, Vu, P., Tang, S., Zhang, P., Murthi, K.K., Gentile, L.N., Liu, J.H.** "First Total Synthesis of Taxol. 1. Functionalization of the B Ring" *J. Am. Chem. Soc.* **116**, 1597-8 (1994).
11. **Holton, R.A., Kim, H., Somoza, C, Liang, F., Bieddiger, J., Boatman, P..D., Shindo, M., Smith, C.C, Kim, S., Nadizadeh, H., Suzuki, Y., Tao, C, Vu, P., Tang, S., Zhang, P., Murthi, K.K., Gentile, L.N., Liu, J.H.** "First Total Synthesis of Taxol. 2. Completion of the C and D Ring" *J. Am. Chem. Soc.* **116**, 1599-1600 (1994).
12. **Nicolaou, K.C., Yang, Z., Liu, J.J., Ueno, H., Nantermet, P.G., Guy, R.K., Claiborne, C.F., Renaud, J., Couladouros, E.A., Paulvannan, K., Sorensen, E.J.** "Total Synthesis of Taxol" *Nature*, **367**, 630-4 (1994).

- 13 **Danishefsky, S.J., Masters, J.J., Young, W.B., Link, J.T., Snyder, L.B., Magee, T.V., Jung, D.K., Isaacs, R.C.A., Bornmann, W.G., Alaimo, C.A., Coburn, C.A., Di Grandi, M.J.** "Total Synthesis of Baccatin III and Taxol" *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 2843-59 (1996).
- 14 **Wall, M.E., Wani, M.** "History and Future Prospects of Camptothecin and Taxol" in *The Alkaloids*, Cordell, G. (Ed.), Vol. 50, Academic Press, New York, 509-36 (1998).
- 15 **Holton, R.A., Biediger, R.J., Boatman, P.D.** "Semisynthesis of Taxol and Taxotere" in *Taxol: Science and Applications*, Suffness, M. (Ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida, 97-122(1995).
- 16 **Nicolaou, K.C., Dai, W., Guy, R.K.** "Chemistry and Biology of Taxol" *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 106(1), 15-44, (1994).
- 17 **Gueritte-Voegelein, F., Senilh, V., David, B., Guenard, D., Potier, P.** "Chemical Studies of 10-Deacetylbaccatin III. Hemisynthesis of Taxol Derivatives" *Tetrahedron*, 42, 4451-60 (1986).
- 18 **Lacroix, H., Ligeza, C.** "Docetaxel (Taxotere) An Update" *Exp. Opin. Invest. Drugs*, 7(2), 273-81 (1998).
- 19 **Colin, M., Guenard, D., Gueritte-Voegelein, F., Potier, P.** "Preparation of Taxol Derivatives as Antitumor Agents" *Eur. Pat. Appl.* EP 253738 A1, 20 jan 1988.
- 20 **Christen, A.A., Gibson, D.M., Bland, J.** "Production of Taxol or Taxol-like Compounds in Cell Culture" *US Patent*, No. 5, 019, 504, 28 May 1991.
- 21 **Gibson, D.M., Ketchum, R.E.B., Hirasuna, T.J., Shuler, M.L.** "Potential of Plant Cell Culture for Taxane Production" in *Taxol: Science and Applications*, Suffness, M. (Ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida, 71-96 (1995).
- 22 **Stierle, A., Strobel, G., Stierle, D.** "Taxol and Taxane Production by *Taxomyces andreanae*, an Endophytic Fungus of Pacific Yew" *Science*, 260(5105), 214-7 (1993).
- 23 **Stierle, A., Strobel, G., Stierle, D., Grothaus, P., Bignami, G.** "The Search for a Taxol-Producing Microorganism Among the Endophytic Fungi of the Pacific Yew, *Taxus brevifolia*" *J. Nat. Prod.*, 58(9), 1315-24 (1995).
- 24 **Strobel, G., Hess, W.M., Ford, E., Sidhu, R.S., Yang, X.** "Taxol from Endophytes and the Issue of Biodiversity" *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 17(5/6), 417-23 (1996).
- 25 **Strobel, G., Yang, X., Sears, J., Kramer, R., Sidhu, R.S., Hess, W.M.** "Taxol from *Pestalotiopsis microspora*, an Endophytic Fungus of *Taxus wallichiana*" *Microbiology*, 142(2), 435-40(1996).
- 26 **Hezari, M., Croteau, R.** "Taxol Biosynthesis: An Update" *Planta Med.*, 63, 291-5 (1997).



27. **Rohr, J.** "Biosynthesis of Taxol", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 36(20), 2190-5 (1997).
28. Harrison, J.W., Scrowston, R.M., Lythgoe, B. "Taxine. Part IV. The Constitution of Taxine-I", *J. Chem. Soc. (C)*, 1933-45 (1966).
29. **Gueritte-Voegelein, F., Guenard, D., Potier, P.** "Taxol and Derivatives: A Biogenetic Hypothesis" *J. Nat. Prod.*, 50(1), 9-18 (1987).
30. **Şener, B., Küçükboyacı, N.** "Taxus Türlerinde Bulunan Taksan Tipi Diterpenoitler" *J. Inst. Sci. Tech., Gazi Univ.*, 7, 87-111 (1994).
31. **Zamir, L.O., Nedeia, M.E., Garneau, F.X.** "Biosynthetic Building Blocks of *Taxus canadensis* Taxanes" *Tetrahedron Lett.*, 33(36), 5235-6 (1992).
32. **Eisenreich, W., Menhard, B., Hylands, P.J., Zenk, M.H.** "Studies on the Biosynthesis of Taxol: The Taxane Carbon Skeleton is not Mevalonoid Origin" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93,6431-6(1996).
33. **Fleming, P.E., Mocek, U., Floss, H.G.** "Biosynthesis of Taxoids. Mode of Formation of the Taxol Side Chain" *J. Am. Chem. Soc.*, 115(2), 805-7 (1993).
34. **Fleming, P.E., Floss, H.G., Haertel, M., Knaggs, A.R., Lansing, A., Mocek, U., Walker, K.D.** "Biosynthetic Studies on Taxol" *Pure & Appl. Chem.*, 66(10/11), 2045-8 (1994).
35. **Floss, H.G., Mocek, U.** "Biosynthesis of Taxol" in *Taxol: Science and Applications*, Suffness, M. (Ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida, 191-208 (1995).
36. **Koepp, A.E., Hezari, M., Zajicek, J., Vogel, B.S., Lafever, R.E., Lewis, N.G., Croteau, R.** "Cyclization of Geranylgeranyl Diphosphate to Taxa-4(5),11(12)-diene Is the Committed Step of Taxol Biosynthesis in Pacific Yew" *J. Biol. Chem.*, 270(15), 8686-90 (1995).
37. **Hezari, M., Lewis, N.G., Croteau, R.** "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(2), 437-44 (1995).
38. **Lin, X., Hezari, M., Koepp, A.E., Floss, H.G., Croteau, R.** "Mechanism of Taxadiene Synthase, a Diterpene Cyclase That Catalyzes the First Step of Taxol Biosynthesis in Pacific Yew" *Biochemistry*, 35(9), 2968-77 (1996).
39. **Wildung, M.R., Croteau, R.** "A cDNA Clone for Taxadiene Synthase, the Diterpene Cyclase That Catalyzes the Committed Step of Taxol Biosynthesis" *J. Biol. Chem.*, 271(16), 9201-4(1996).
40. **Croteau, R., Hefner, J., Hezari, M., Lewis, N.G.** "Taxol Biosynthesis: Cyclization and Early Hydroxylation Steps of the Pathway" *Curr. Top. Plant Physiol.*, 15, 94-104 (1995).

41. **Strobel, G.A., Stierle, A., Van Kuijk, F.J.G.M.** "Factors influencing the *In vitro* Production of Radiolabeled Taxol by Pacific Yew, *Taxus brevifolia*" *Plant Sci*, 84(1), 65-74(1992).
42. **Erdemoğlu, N.** "Türkiye'de Yetişen *Taxus baccata* L. Bitkisinin Taksan Türevi Bileşikleri Üzerinde Araştırmalar" Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara (1999).
43. **Kingston, D.G.I.** "Natural Taxoids: Structure and Chemistry" in *Taxol: Science and Applications*, Suffness, M. (Ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida, 287-316 (1995).
44. **Das, B., Rao, S.P., Das, R.** "Naturally Occuring Rearranged Taxoids" *Planta Med.*, 61(5), 393-7 (1995).
45. **Appendino, G., Lusso, P., Gariboldi, P., Bombardelli, E., Gabetta, B.** "A 3,11-Cyclotaxane from *Taxus baccata*" *Phytochemistry*, 31(12), 4259-62 (1992).
46. **Zhang, S., Lee, C.T., Chen, K., Kashiwada, Y., Zhang, D., McPhail, A.T., Lee, K.H.** "Structure and Stereochemistry of Taxuchin A, a New 11(15→1) Abeo-Taxane Type Diterpene from *Taxus chinensis*" *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, (13), 1561-2 (1994).
47. **Appendino, G., Cravotto, G., Enriu, R., Jakupovic, J., Gariboldi, P., Gabetta, B., Bombardelli, E.** "Rearranged Taxanes from *Taxus baccata*" *Phytochemistry*, 36(2), 407-11 (1994).
48. **Zamir, L.O., Zhou, Z.H., Caron, G., Nedeá, M.E., Sauriol, F., Mamer, O.** "Isolation of a Putative Biogenetic Taxane Precursor from *Taxus canadensis* Needles" *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, (5), 529-30 (1995).
49. **Boulanger, Y., Khiat, A., Zhou, Z.H., Caron, G., Zamir, L.O.** "NMR and Molecular Modeling Study of Paclitaxel Putative Precursors, Tetrahedron, 1996, 52(27), 8957-68.
50. **Fang, W., Fang, Q.C., Liang, X.T.** "Bicyclic Taxoids from Needles of *Taxus chinensis*" *Planta Med.*, 62(6), 567-9 (1996).
51. **Zocher, R., Weckwerth, W., Hacker, C., Kammer, B., Hornbogen, T., Ewald, D.** "Biosynthesis of Taxol : Enzymatic Acetylation of 10- Deacetylbaaccatin III to Baaccatin III in Crude Extracts from Roots of *Taxus baccata*" *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **229(1)**, 16-20(1996)
51. **B., Hornbogen, T., Ewald, D.** "Biosynthesis of Taxol: Enzymatic Acetylation of 10- Deacetylbaaccatin III to Baaccatin III in Crude Extracts from Roots of *Taxus baccata*" *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 229(1), 16-20 (1996).