مجله ایمنی زیستی

دوره ۱۷، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳

ISSN 2716-9804 الکترونیکی، ISSN 2717-0632 چاپی

تولید تاکسول: از استخراج گیاهی تا روش‌های بیوتکنولوژی و خالص‌سازی نهایی

نوع مقاله: مروری 20.1001.1.27170632.1403.17.3.5.7

مهدی محمودی[۱]، سید احمد سادات نوری[۲*]

۱- فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده فناوری کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران

۲-استاد، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده فناوری کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران

noori@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۱۷، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۱۴

صفحه ۹۹-۸۶

چکیده

تاکسول، یک ترکیب آلکالوئید دی‌ترپنوئید پیچیده، از درختان جنس *Taxus* به‌ویژه *Taxus brevifolia* استخراج می‌شود و در درمان سرطان‌های مختلف، از جمله سرطان تخمدان و سینه، به کار می‌رود. این دارو با مکانیسمی منحصر به‌فرد باعث توقف تقسیم میتوزی سلول‌ها و در نتیجه مرگ سلول‌های سرطانی می‌شود. روش‌های صنعتی رایج برای تولید تاکسول شامل سنتز کامل و نیمه‌سنتز آن است. سنتز کامل به دلیل هزینه بالا و بازده پایین در سطح صنعتی عملی نیست و به همین دلیل، روش نیمه‌سنتز با استفاده از ترکیباتی مانند ۱۰-دی‌استیل‌باکاتین III از برگ‌های سرخدار بیشترین کاربرد را دارد. با وجود این، وابستگی به منابع طبیعی و محدودیت در دسترسی به مواد اولیه از معایب این روش است. استخراج تاکسول از درختان *Taxus* می‌تواند به تخریب محیط زیست و انقراض گونه‌های گیاهی منجر شود. به همین دلیل، پژوهش‌ها روی روش‌های جایگزین مانند کشت سلول‌های گیاهی، استفاده از قارچ‌های اندوفیت و استفاده از گیاهان دیگری مانند فندق متمرکز شده‌اند که با بهره‌گیری از روش‌های مهندسی ژنتیک و تغییر در ژن‌های سنتز کننده تاکسول، می‌توانند نه تنها مقدار تاکسول را افزایش دهند بلکه با کاهش فشار بر منابع طبیعی، جایگزین‌های مناسبی برای تأمین این داروی حیاتی باشند.

واژه‌های کلیدی: تولید تاکسول، سرطان، کشت سلولی، مهندسی ژنتیک

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-02-11]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.5.7]

مقدمه

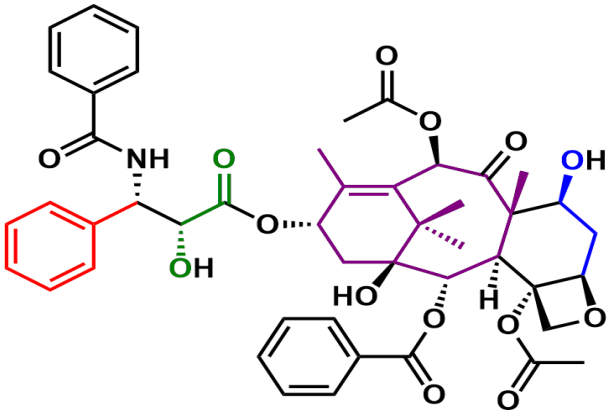
تاکسول یک ترکیب آلکالوئید دی‌ترپنوئیدی است که دارای ساختار بیوشیمیایی بسیار پیچیده است و به گروهی از دی‌ترپن‌ها به نام تاکسان (Taxan) تعلق دارد و از گونه‌های مختلف جنس Taxus بدست می‌آید (Frense, 2007). ساختمان شیمیایی تاکسول (شکل ۱) حاصل از درخت *Taxus brevifolia* برای اولین بار در سال ۱۹۷۱ شناسایی گردید و مشخص شد در ساختار شیمیایی آن دو بخش وجود دارد که شامل: یک حلقه ۴ تایی Oxetane (هسته باکاتین) و یک زنجیر جانبی مشتق شده از فنیل آلانین می‌باشد که به کربن شماره ۱۳ متصل شده است، و هر دو بخش آن‌ها دارای فعالیت اختصاصی ضد تومور میباشند (Jennewein and Croteau, 2001).

تاکسول (که با نام Paclitaxel نیز شناخته می‌شود) به عنوان موثرترین داروی Anti-cancer (ضد سرطان) قرن بیستم شناخته شد و در سال ۱۹۹۲ جهت درمان سرطان تخمدان و در سال ۱۹۹۴ برای درمان سرطان سینه از سوی FDA (سازمان غذا و دارو آمریکا) مورد تایید و برای درمان انواع سرطان‌ها از جمله سینه، تخمدان، ریه، مری، مجاری ادراری و پوست مورد استفاده قرار گرفت (Jennewein et al. 2001). مکانیسم اصلی عمل آن شامل پلیمریزه شدن توبولین و دپلیمریزه شدن آن را متوقف می‌کند و در نتیجه چرخه تقسیم میتوزی سلول متوقف می‌شود و با تشکیل دوک تقسیم غیرطبیعی، موجب توقف رونویسی DNA در مرحله G2/M تقسیم میتوز شده و بدین ترتیب موجب مرگ سلول‌های سرطانی در حال تکثیر می‌شود (Gallego-Jara et al. 2020). مزیت اصلی تاکسول نسبت به اکثر داروهای شیمی درمانی این است که مقاومت سلول‌های سرطانی به دارو را می‌شکند (Jennewein and Croteau, 2001).

از زمان کشف فعالیت ضد توموری تاکسول (در برابر چندین لایه سلول سرطانی)، این دارو با ارزش برای درمان بیش از یک میلیون بیمار مورد استفاده قرار گرفته است و آن را به یکی از پرکاربردترین داروهای ضد تومور تبدیل کرده است. تاکسول اولین دارو هدف‌گیری میکروتوبول بود که در مقالات و منابع متعددی توصیف شد (Jennewein et al. 2001).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-02-11]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.5.7]



شکل ۱- ساختمان شیمیایی تاکسول

۱-روش‌های سنتز تاکسول

۲-۱- روش سنتز کامل تاکسول

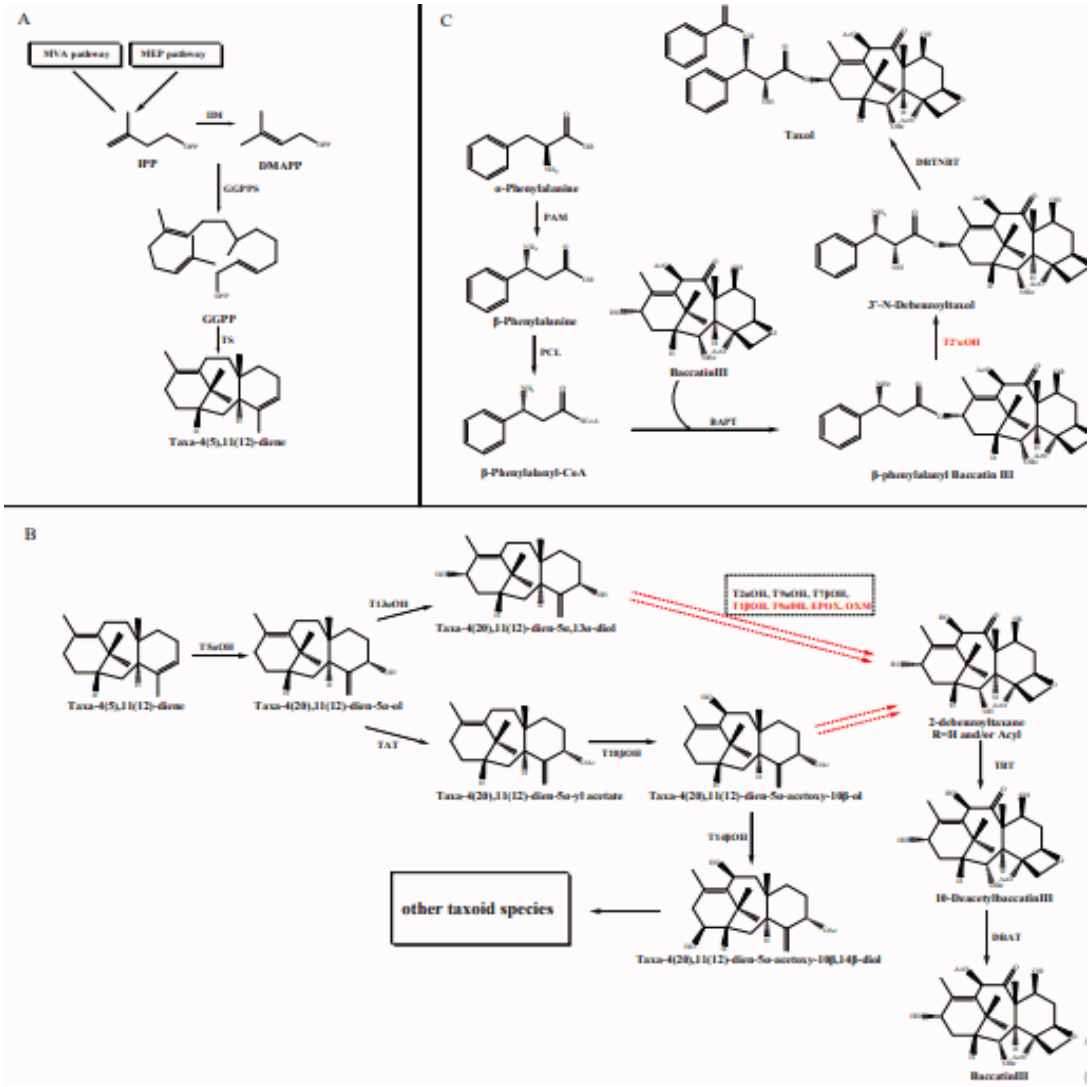
تاکسول دارای ساختاری پیچیده و غیرمعمول می‌باشد (Karuppusamy and Pullaiah, 2022). در طی مراحل بیوسنتز تاکسول یک‌سری واکنش‌های اکسیژنه شدن و سپس اسیلاسیون رخ می‌دهد (Jennewein and Croteau, 2001). بر اساس مطالعات متعددی که در مورد متابولیسم سایر ترپنوییدها صورت گرفته مشخص شده که ژرانیل‌ژرانیل دی-فسفات (GGPP) ماده اصلی و عمومی در بیوسنتز تاکسول میباشد (Jennewein and Croteau, 2001).

اولین مرحله در بیوسنتز تاکسول و ترکیبات مشابه، تبدیل GGPP به تاکسادین است. تولید ایزومر تاکسادین به‌عنوان یک مسیر فرعی در این بیوسنتز شناخته می‌شود. آنزیمی به نام تاکسادین‌سنتاز که یک آنزیم پلاستیدی است، تبدیل GGPP را به تاکسادین کاتالیز می‌کند. این آنزیم برای فعالیت بهینه به یک یون فلزی دو ظرفیتی به عنوان کوفاکتور نیاز دارد و بدین‌منظور یون Mg^{2+} بسیار موثرتر از Mn^{2+} و سایر فلزات دو ظرفیتی است. آنزیم تاکسادین‌سنتاز در حالت طبیعی محلول و منومریک با وزن مولکولی ۷۹ کیلو دالتون است و بهترین فعالیت را در pH ۸/۵ دارد. مرحله دوم در بیوسنتز کامل تاکسول، هیدروکسیله شدن تاکسادین میباشد که طی این هیدروکسیله شدن تاکسادین به یک ترکیب الکلی به نام تاکسادینول تبدیل می‌شود. آنزیم هیدروکسیلازی که این واکنش را کاتالیز می‌کند نوعی سیتوکروم p450 می‌باشد. نقش تاکسادینول به عنوان یک واسطه مسیر بیوسنتزی تاکسوییدها به وسیله تبدیل تاکسادینول رادیواکتیو (در شرایط *in vivo*) به تاکسوییدهای پیشرفته شامل ۱۰-داستیل‌باکاتین III ، سفالومانین و تاکسول در ساقه *Taxus brevifolia* به اثبات رسیده است. مرحله سوم در بیوسنتز کامل تاکسول، استیلاسیون

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-02-11]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.5.7]

تاکسادینول و می‌باشد. مشخص شده که اغلب ۲ تشکیل حلقه اکستان تاکسوییدهای طبیعی در کربن C5 استیله هستند (Gallego-Jara et al. 2020).



شکل ۲- مسیر بیوسنتزی احتمالی تاکسول. (A) منبع و تشکیل هسته تاکسان. (B) اصلاح اسکلت هسته تاکسان سنتز زنجیره جانبی-β فنیل‌آلانین- CoA و (C) مونتاژ تاکسول فلش‌های ممتد مراحل شناسایی‌شده را نشان می‌دهند. فلش‌های نقطه‌چین مراحل ناشناخته را نشان می‌دهند. مراحل علامت‌گذاری شده با رنگ قرمز نمایانگر واکنش‌های آنزیمی غیرمشخص هستند. قاب نقطه‌چین مراحل میانی مسیر را نشان می‌دهد که در آن چندین آنزیم و ترتیب واکنش‌های آن‌ها ناشناخته است

واکنش‌های بعدی در مسیر بیوسنتز تاکسول شامل هیدروکسیله شدن‌های اضافی، اسیلاسیون‌ها روی گروه‌های هیدروکسی، اکسید شدن هیدروکسیل به کربونیل و تولید حلقه اکستان

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-02-11]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.5.7]

می‌باشد. تاکسوییدهای طبیعی دامنه وسیعی از الگوهای اکسیژنه شدن و اسیلاسیون را نشان می‌دهند. اکسیژنه شدن احتمالا از C5 شروع شده و به دنبال آن C15، C2، C9 C2 و در پایان C13 اکسیژنه می‌شوند(Jennewein and Croteau, 2001).

شکل ۲ مسیر بیوسنتز تاکسول را نشان می‌دهد. همانطور که در شکل مشخص است ابتدا پیش‌ماده ژرانیلژرانیل‌دی‌فسفات (GGPP) به وسیله تاکسادین‌سنتاز به تاکسادین تبدیل می‌شود. در مرحله بعد هیدروکسیلاسیون تاکسادین به وسیله آنزیم تاکسادین α۵ هیدروکسیلاز انجام و به تاکسادینول تبدیل می‌گردد. سپس استیلاسیون تاکسادینول به وسیله آنزیم تاکسادینول‌استیل‌ترانسفراز کاتالیز می‌شود. در مرحله بعد ۲-بنزوییل که یک واسطه در مسیر بیوسنتزی تاکسان‌دبنزوییل‌ترانسفراز (TBT) به ۱۰-داستیل باکاتینIII تبدیل می‌شود. در مرحله بعد ۱۰-داستیل باکاتین III توسط آنزیم ۱۰-داستیل باکاتین III استیل ترانسفراز به باکاتین IIIتبدیل میشود. در مرحله آخر اتصال زنجیره‌های جانبی به باکاتین III انجام می‌شود که باعث تشکیل ساختار اصلی تاکسول می‌شود (Liu et al. 2020). محققان زیادی تلاش کردند تا سنتز کامل تاکسول را انجام دهند اما سنتز کامل داروی تاکسول بسیار پرهزینه است و بازده واکنش‌ها در این روش کمتر بوده، بنابراین این روش صرفه اقتصادی نداشته و هیچ سهمی در تولید تجاری این دارو نداشته است (Liu et al. 2020).

۲-۲- روش نیمه‌سنتز تاکسول

در روش نیمه‌سنتز از دیگر تاکسوییدهای هم‌خانواده تاکسول که ساختار اصلی مشترکی با آن دارند به عنوان آغازگرهای واکنش سنتز استفاده می‌شود که مناسب‌ترین آن‌ها باکاتین III و ۱۰-د استیل‌باکاتین III می‌باشد. این دو ترکیب در برگ *T. baccata* وجود دارند، به این ترتیب با استفاده از برگ و با توسعه روش‌های نیمه‌سنتزی می‌توان بهره‌وری تولید تاکسول را افزایش داد (Liu et al. 2020) .

در روش نیمه‌سنتزی، ابتدا ترکیب ۱۰-deacetylbaccatin III که دارای ساختار اصلی تاکسول است، از برگ‌های درخت سرخدار استخراج می‌شود. سپس این ترکیب از طریق استیله شدن به baccatin III تبدیل می‌شود. در مرحله بعد، Benzonate 2-phenylisoserine به baccatin III متصل می‌شود تا تاکسول نهایی را تشکیل دهد (Liu et al. 2020). این روش تقریبا ۸۰ درصد تولید جهانی تاکسول را شامل است. از مهم‌ترین معایب این روش، وابستگی به منابع طبیعی و محدودیت در دسترسی به مواد اولیه است. در حالی که این روش می‌تواند مقادیر

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-02-11]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.5.7]

بیشتری از تاکسول را تولید کند، اما همچنان به استخراج ترکیبات اولیه از گیاهان وابسته است که ممکن است تحت تأثیر عوامل محیطی و زیست‌محیطی قرار گیرد (Liu et al. 2020).

۳- منابع تهیه و استخراج تاکسول

۳-۱- استخراج از گیاهان سرخدار

سرخدار گیاهی دیپلوئید با تعداد کروموزوم 2n=2x=24 متعلق به رده Taxales و از خانواده Taxaceae می‌باشد. تاکسول عمدتاً توسط جنس *Taxus*، خانواده Taxaceae تولید می‌شود. این جنس شامل: *T. brevifolia* (سرخدار اقیانوس آرام یا سرخدار غربی)، *T. baccata* (سرخدار اروپایی یا انگلیسی)، *T. floridana* (سرخدار فلوریدا)، *T. globosa* (سرخدار مکزیکی)، T.wallichiana (سرخدار هیمالیا)، *T. canadensis* (سرخدار کانادایی)، *T. chinensis* (سرخدار چینی) و *T. cuspidata* (سرخدار ژاپنی). غلظت تاکسول در این درختان بسیار کم است و از صفر تا ۰/۰۶۹ درصد متغیر است (میلی‌گرم در یک گرم وزن پودر خشک). بیشترین میزان این ماده باارزش در گونه *T. baccata* گزارش شده است (Liu et al. 2020).

میزان پاکلیتاکسل در انواع گونه‌های سرخداریان بسیار ناچیز (۰/۰۱ تا ۰/۰۳ میلی گرم در یک گرم وزن پودر خشک) است (Gallego et al. 2017).

T.baccata و *T.brevifolia* به عنوان دو گونه مهم Taxus در استان‌های ساحلی دریای خزر از جمله گیلان، مازندران و گلستان به صورت طبیعی وجود دارند(Rahmati et al. 2017) مقدار طبیعی پاکلیتاکسل که در اندام‌های مختلف گیاه سرخدار (*Taxus* spp) یافت می‌شود، به طور قابل توجهی متفاوت است. تحقیقات نشان می‌دهد که غلظت پاکلیتاکسل در قسمت‌های مختلف سرخدار متفاوت است به این صورت که در برگ‌های سوزنی غلظت تاکسول بین ۰/۰۰۳ میلی گرم در یک گرم پودر خشک گزارش شده است. بالاترین غلظت تاکسول در پوست درختان سرخدار می‌باشد به طوری که مقدار آن بین ۰/۰۵ تا ۰/۰۰۸ میلی گرم در یک گرم پودر خشک گزارش شده است (Tandoğan et al. 2023) .

از زمان کشف خواص ضد توموری قوی تاکسول، تقاضا و قیمت آن در سطح جهانی به طور تصاعدی افزایش یافته است. با وجود تلاش‌هایی که در ۲۰ سال گذشته برای توسعه روش‌های ارزان‌تر و پایدارتر انجام شده است، استخراج تاکسول از درختان هنوز هم رایج‌ترین روش استفاده شده است، این موضوع به این معنی است که برای درمان یک بیمار با ۲ گرم تاکسول، باید چهار درخت قطع شوند (Li et al. 2017).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-02-11]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.5.7]

۲-۳- استخراج از درخت فندق *Corylus arellana* L.

پاکلیتاکسل و دیگر ترکیبات خانواده Taxane در درخت فندق (*Corylus avellana*) که شباهت متابولیکی نزدیکی با درخت سرخدار (*Taxus* spp.) ندارد، نیز شناسایی شده‌اند. این درخت به عنوان یک منبع بالقوه برای تولید پاکلی‌تاکسل مورد توجه قرار گرفته است (Liu et al. 2016). فندق گیاهی دیپلوئید با تعداد کروموزوم – 2n=2x=22 از خانواده *Betulaceae* و از جنس *Corylus* است. این گیاه که قبلاً برای جنبه‌های تغذیه‌ای کشت می‌شد، امروزه به عنوان یکی از روش‌های امید بخش تولید پاکلیتاکسل مورد توجه قرار گرفته است و از آن به عنوان یک گونه‌ی تولید کننده پاکلیتاکسل در میان نهاندانگان نام برده شده است (Gallego et al. 2017).

به دلیل رشد کند گونه‌های سرخدار در وضعیت کشت درون شیشه‌ای، دانشمندان در تلاش برای کشت فندق به منظور تولید پاکلیتاکسل می‌باشند. از کشت سلولی پوسته‌ی سخت یا سبز آن و برگ فندق و همزیستی آن با قارچ‌های همزیست درخت سرخدار (قارچ‌های اندوفیت)، تولید پاکلیتاکسل امکانپذیر است که مقدار طبیعی آن در اندام‌های مختلف درخت فندق یافت می‌شود، به طور قابل توجهی متفاوت است (Adabi et al. 2024). تحقیقات نشان می‌دهد که غلظت پاکلیتاکسل در قسمت‌های مختلف فندق متفاوت است، به این صورت که در برگ‌ها بالاترین غلظت پاکلیتاکسل معمولاً در برگ‌ها با مقادیر گزارش شده بین ۱/۰۵ تا ۱/۶۸ میکروگرم در هر گرم یافت می‌شود. غلظت در شاخه‌ها معمولاً کمتر است و به طور کلی در حدود ۰/۰۱ تا ۰/۰۵ میکروگرم در هر گرم بیان می‌شود. پوسته‌های سخت قهوه‌ای فندق نیز حاوی پاکلیتاکسل با غلظت‌های گزارش شده بین ۰/۱۱ تا ۰/۲۸ میکروگرم در هر گرم هستند. پوشش پوسته سبز نیز حاوی پاکلیتاکسل با غلظت‌هایی بین ۰/۷ تا ۳/۵۹ میکروگرم در هر گرم است. مطالعات اضافی نشان داده‌اند که مقادیر کمی از پاکلیتاکسل همچنین می‌تواند در ریشه‌ها و سایر محصولات جانبی گیاه فندق شناسایی شود (Hoffman and Shahidi, 2009; Qaderi et al. 2012). این یافته‌ها نشان می‌دهند که گیاه فندق، به ویژه برگ‌ها و پوسته‌های آن، می‌تواند به عنوان یک منبع تجدیدپذیر برای پاکلیتاکسل عمل کند، این موضوع با توجه به دسترسی محدود به این ترکیب از منابع سنتی مانند درخت سرخدار، حائز اهمیت است. از طرفی مقدار تاکسول در گیاه فندوق در مقایسه با سرخدار بسیار کمتر است و همچنان سرخدار بهترین منبع تولید تاکسول می‌باشد.

۳-۳- استخراج از قارچ‌های اندوفیت

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-02-11]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.5.7]

مطالعات استیرل و همکاران (۱۹۹۵) نشان داد که پاکلیتاکسل توسط قارچ‌های درون‌زیست درختان سرخدار (*Taxomyces andreanae*) نیز تولید می‌شود. حدود ۲۵ گونه‌ی قارچی مختلف تولید کننده پاکلیتاکسل شناسایی شده‌اند که از جمله آن‌ها می‌توان به *Aspergillus*، *Penicillium*، Fusarium و Taxomyces اشاره کرد (Pandy et al. 2023). در یک مطالعه، هفت قارچ اندوفیت برای تولید تاکسول غربالگری شدند که پنج مورد از آن‌ها نتایج مثبت نشان دادند. تولید این ترکیب با استفاده از تکنیک‌هایی مانند کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) تأیید شد (Pandy et al. 2023). در مطالعه دیگر گزارش شد که *Aspergillus niger* مقدار ۱۷۳/۹ میکروگرم در لیتر تاکسول تولید کرده است، در حالی که سایر ایزوله‌های قارچی مقادیر کمتری در محدوده ۲ تا ۲/۵۵ میکروگرم در لیتر تولید کردند. مشکلات اصلی در به‌کارگیری قارچ‌های اندوفیت برای تولید پاکلی‌تاکسل شامل جداسازی و کشت آن‌ها است. این قارچ‌ها از گونه‌های گیاهی مختلف، از جمله انواع گونه‌های سرخدار، جداسازی می‌شوند. برای تولید پاکلیتاکسل توسط قارچ، باید بتوان یک نوع سویه از قارچ را خالص‌سازی و در محیط کشت مناسب کشت کرد. شناسایی سویه قارچی نیازمند تحقیقات دقیق بر ویژگی‌های زیستی است. به طور کلی، گونه‌های سرخدار و قارچ‌های اندوفیت منابع تأمین تجاری پاکلی‌تاکسل و تاکسان نام برده شده‌اند (Pandy et al. 2023).

۴- روش‌های افزایش تولید تاکسول

۴-۱- کشت سوسپانسیون سلولی

کشت‌های سوسپانسیون سلولی عموماً به منظور تهیه سلول‌های منفرد و جدا از هم، از کالوس‌ها تشکیل می‌شوند. کشت سوسپانسیون باید در محیط کشت‌های مایع، در درجه حرارت مناسب و شرایط تاریکی تعیین شده انجام شود، بنابراین به دلیل غوطه‌ور شدن سلول‌ها در محیط کشت مایع، ظروف محتوی آن‌ها باید روی شیکر با سرعت مناسب قرار بگیرد تا سلول‌ها به اکسیژن کافی دسترسی پیدا کنند. سلول‌ها در محیط کشت مایع به دلیل تماس نزدیک با مواد غذایی و هورمون‌ها، دارای رشد و تکثیر بیشتری نسبت به محیط جامد هستند و در زمان‌های مشخصی باید کشت شوند تا مواد غذایی تازه در دسترس سلول‌ها قرارگیرد و همچنین سلول‌های مرده خارج شوند تا نسبت تعداد سلول‌های تولید شده به مقدار مواد غذایی محیط کشت تنظیم گردد. زمانی که تغییرات وزنی سلول‌های موجود در کشت سوسپانسیون سلولی به موازات زمان رسم شود، یک منحنی سیگموئیدی تشکیل خواهد شد (Mendonça et al. 2012).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-02-11]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.5.7]

مطالعه دیگر بر روی استفاده از محرک‌ها نشان داد که استفاده از بوتیونین و پراکسید هیدروژن، تولید تاکسول را به طور قابل توجهی در کشت سلول‌های *T. globosa* افزایش داد. نتایج نشان داد غلظت تاکسول به ۱۵۷ میکروگرم بر یک گرم وزن خشک رسید (Barrales-Cureño et al. 2022). مطالعه دیگری نشان داد که استفاده از کشت‌های پرتراکم می‌تواند به فرآیند تولید پایدارتر تاکسول منجر شود و حداکثر غلظت‌ها در محدوده ۲۵۹-۱۴۰ میلی‌گرم بر لیتر را به دست آورد. این رویکرد شامل محرک‌های خاصی مانند متیل جاسمونات است که مراحل کلیدی در مسیر بیوسنتز را تنظیم می‌کند (Tabata, 2006). یک مطالعه حداکثر تولید تاکسول ۱/۹۶ میلی‌گرم بر گرم را در محیطی که با آمینواسیدها و کیتوزان تکمیل شده بود، گزارش کرد (Amirkavei-Najafabadi, et al. 2020). کشت سلولی یکی از روش‌های امیدوار کننده و منبع پایدار تولید پاکلی‌تاکسل در نظر گرفته می‌شود، ولی هزینه بالای آن و در صورت بروز مشکل از جمله محیط کشت نامناسب و بازده ناپایدار محصول، مشکل‌ساز خواهد بود، این روش به صورت تلفیقی به همراه القاگر و دیگر روش‌های افزایش میزان پاکلی‌تاکسل مانند استفاده از الیسیتورها (محرک‌ها) به کار گرفته می‌شود (Liu et al. 2016).

۲-۴- پیش‌بیان ژن‌های کلیدی در مسیر تولید تاکسول

با بررسی‌های انجام شده بر مسیر تولید باکاتین III، مشخص شده است که میزان بیان برخی از ژن‌ها می‌تواند محدودکننده سرعت بیوسنتز ماده نهایی باشد. به عنوان مثال، آنزیم TXS یکی از آنزیم‌های کلیدی در مسیر بیوسنتز باکاتین III است که به عنوان یک عامل محدودکننده سرعت تولید این ترکیب عمل می‌کند. افزایش بیان این ژن از طریق مهندسی ژنتیک می‌تواند سبب افزایش عملکرد پاکلی‌تاکسل در سلول‌های گیاهی *T. baccata* شود (Brzycki Newton et al. 2023). آنزیم DBAT نیز یکی دیگر از آنزیم‌های کلیدی در مسیر تولید پاکلیتاکسل است که با استفاده از انتقال ژن از طریق سیستم اگروباکتریوم به سلول‌های *T. baccata* به طور موفقیت‌آمیزی سبب افزایش عملکرد باکاتین III تولیدی شده است. ژن *T7BOH* مسئول هیدروکسیلاسیون کربن شماره هفت حلقه تاکسان در مسیر تولید پاکلیتاکسل است. تصور می‌شود که این کربن در فعالیت عملکردی پاکلیتاکسل نقشی ندارد، اما افزایش بیان این ژن از طریق مکانیزم‌های مهندسی ژنتیک می‌تواند سبب حرکت هرچه بیشتر مسیر به سمت افزایش تولید پاکلی‌تاکسل بیشتر شده است (Chau et al. 2024). به طور کلی، بررسی ژن‌های موثر در بیوسنتز پاکلیتاکسل به منظور دست‌ورزی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-02-11]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.5.7]

ژنتیکی آن‌ها برای بهبود عملکرد پاکلیتاکسل ضروری است و مهندسی مناسب در این راه می‌تواند باعث افزایش تولید این ماده باارزش شود.

۳-۴- ژن‌های سنتز کننده تاکسول

ژن‌های *DBAT*، *TXS*، *DBTNBT*، *BAPT*، *T5α10ßOH*، *T9αOH*، *T13αOH*، *T10ßOH* و *T5αOH* جزء ژن‌های کلیدی در مسیر تولید پاکلیتاکسل هستند (Chau et al. 2024). ژن‌های *αOH2T* و *ßOH14T* در این مسیر به سیتوکروم P450 معروفند. عملکرد این ژن‌ها شامل هیدروکسیل کردن کربن‌های هدف در فرآیند تولید پاکلیتاکسل است. این آنزیم‌ها نقش اساسی در انتقال الکترون در زنجیره تنفسی دارند و در مراحل اکسیداسیون مرتبط با متابولیسم‌های ثانویه گیاهی برای تشکیل ساختارهای پیچیده ترکیبات طبیعی گیاهی نقش ایفا می‌کنند (Mizutani, 2012).

به طور کلی، هفت واکنش هیدروکسیلاسیون در مسیر تولید پاکلیتاکسل رخ می‌دهد که تنها پنج مورد از آن‌ها در مسیری که منجر به تولید پاکلیتاکسل می‌شود، شرکت می‌کنند. این آنزیم‌های هیدروکسیل‌کننده نیازمند اکسیژن جوی هستند که نشان می‌دهد واکنش‌های انجام شده توسط سیتوکروم P450 وابسته به Monooxygenase نقش اصلی در تشکیل متابولیت‌های ثانویه گیاه بر عهده دارند (Heinig and Jennewein, 2009) . بر اساس مطالعه‌ای که در سال ۲۰۲۳ روی کشت‌های سلولی *T. chinensis* انجام شد، بر اساس متیله‌کردن DNA به وسیله کریسپر(NtDRM)، فعالیت ژن *PAL* را کاهش و افزایش ۲۵ برابری تاکسول حاصل شد. همچنین علاوه بر رویکردهای ژنتیکی، از مهار کننده‌های شیمیایی به نام کافئیک اسید و پیپرونیل اسید استفاده شد که مراحل خاصی از مسیر فنیل‌پروپانوئید هدف قرار می‌دهند و افزایش ۳/۵ برابری تاکسول حاصل شد (Brzycki et al. 2023). به طور خلاصه، ژن‌های سنتزکننده تاکسول در فرآیندهای آنزیمی پیچیده مورد نیاز برای تولید تاکسول نقش اساسی دارند و بر عملکرد و کارایی این ترکیب مهم ضد سرطانی تأثیر می‌گذارند. تحقیقات بیشتر در مورد این مسیرها و تنظیم آنها نویدبخش افزایش سنتز تاکسول از طریق روش‌های بیوتکنولوژی است. افزایش بیان این ژن‌ها باعث افزایش مقدار تاکسول تولیدی می‌شود.

۵- جداسازی و خالص سازی تاکسول از طریق Preparative HPLC

ستون HPLC معکوس فاز، معمولاً C18، به دلیل کارایی‌اش در جداسازی ترکیبات هیدروفوبیک مانند تاکسول به‌طور معمول استفاده می‌شود. فاز

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-02-11]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.5.7]

متحرک معمولاً شامل مخلوطی از آب و حلال‌های آلی (مانند استونیتریل یا متانول) با افزودنی‌هایی برای بهبود جداسازی است. Preparative HPLC می‌تواند سطوح تصفیه قابل توجهی را به دست آورد و اجازه جداسازی تاکسول و آنالوگ‌های طبیعی آن از عصاره خام را فراهم کند. پس از ایزوله‌سازی، خلوص و ساختار تاکسول را می‌توان با استفاده از تکنیک‌هایی مانند طیف‌سنجی UV، NMR و طیف‌سنجی جرمی تأیید کرد (Saklani et al. 2022). Preparative HPLC یک تکنیک حیاتی برای ایزوله‌سازی و تصفیه تاکسول از مخلوط‌های پیچیده است و یک روش قابل اعتماد برای به دست آوردن این عامل درمانی ارزشمند با خلوص و بازده بالا فراهم می‌کند (Shirshekanb et al. 2017).

نتیجه‌گیری و بحث

در این مقاله مروری بر روش‌های مختلف تولید داروی حیاتی تاکسول اشاره شد. روش‌های سنتی مانند استخراج مستقیم از درخت سرخدار یا سنتز کامل شیمیایی به دلیل مضرات زیست‌محیطی، هزینه بالا و بازده کم، چالش‌برانگیز می‌باشند. روش نیمه‌سنتز اگرچه متداول‌اند، اما همچنان به منبع طبیعی (درخت) وابسته است. راه‌حل پایدار برای آینده، تمرکز بر روش‌های بیوتکنولوژی مانند کشت سلولی گیاهی بهینه‌شده به ویژه مهندسی متابولیک است (Ghorbani Serayedashti and Abedfar, 2024). با شناسایی و دست‌ورزی ژن‌های کلیدی مسیر بیوسنتز تاکسول (مانند *TXS* و *DBAT*) و استفاده از فناوری‌هایی مانند کریسپر، می‌توان تولید این دارو را در سیستم‌های کنترل‌شده (مانند بیوراکتورها) به طور چشمگیری افزایش داد و وابستگی به گیاهان طبیعی را از بین برد. چشم‌انداز نهایی دستیابی به پلتفرم‌های میکروبی یا گیاهی مهندسی‌شده است که امکان تولید پایدار، مقرون‌به‌صرفه و مطمئن این داروی ضدسرطان را فراهم می‌کنند.

فهرست منابع

References

Adabi R, Rezaei A. 2024. Influence of mild γ-irradiation on growth and paclitaxel biosynthesis in hazel (*Corylus avellana* L.) *in vitro* culture. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 156(1): 6. https://doi.org/10.1007/s11240-023-02618-z.

Amirkavei Najafabadi B, Qavami N, Ebrahimi MA, Ebrahimi P, Zarinpanjeh N. 2020. Enhancement of taxol production by applying amino acid complex along with chitosan in suspension culture of *Taxus baccata* L. Journal of Medicinal Plants. 19(76): 99-109. https://doi.org/10.29252/jmp.19.76.99.

Barrales-Cureño HJ, Ramos Valdivia AC, Soto Hernández M. 2022. Increased production of taxoids in suspension cultures of *Taxus globosa* after elicitation. Future Pharmacology. 2(1): 45-54. https://doi.org/10.3390/futurepharmacol2010004.

Brzycki Newton C, Young EM, Roberts SC. 2023. Targeted control of supporting pathways in paclitaxel biosynthesis with CRISPR-guided methylation. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-02-11]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.5.7]

11: 1272811. https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1272811.

Chau M, Jennewein S, Walker K, Croteau R. **2024.** Taxol biosynthesis: molecular cloning and characterization of a cytochrome P450 taxoid 7β-hydroxylase. Chemistry and Biology. 11(5): 663-672. https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2004.02.025.

Frense D. 2007. Taxanes: Perspectives for biotechnological production. Applied Microbiology and Biotechnology. 73(6): 1233-1240. https://doi.org/10.1007/s00253-006-0711-0.

Gallego A, Malik S, Yousefzadi M, Makhzoum A, Tremouillaux-Guiller J, Bonfill M. 2017. Taxol from *Corylus avellana*: paving the way for a new source of this anti-cancer drug. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 129(1): 1-16. https://doi.org/10.1007/s11240-016-1164-5.

Gallego-Jara J, Lozano-Terol G, Sola-Martínez RA, Cánovas-Díaz M, de Diego Puente T. 2020. A comprehensive review about Taxol®: History and future challenges. Molecules. 25(24): 5986. https://doi.org/10.3390/molecules25245986.

Ghorbani Serayedashti F, Abedfar A. 2024. An overview of the importance and application of sourdough ecosystem in the biological and nutritional safety of gluten-free breads. Journal of Biosafety. 16(4): 35-54. (In Farsi with English abstract)

Heinig U, Jennewein S. 2009. Taxol: A complex diterpenoid natural product with an evolutionarily obscure origin. African Journal of Biotechnology. 8: 942-963.

Hoffman A, Shahidi F. 2009. Paclitaxel and other taxanes in hazelnut. Journal of Functional Foods. 1(1): 33-37. https://doi.org/10.1016/j.jff.2008.09.004.

Jennewein S, Croteau R. 2001. Taxol: biosynthesis, molecular genetics, and biotechnological applications. Applied Microbiology and Biotechnology. 57(1): 13-19 . https://doi.org/10.1007/s002530100757.

Jennewein S, Rithner CD, Williams RM, Croteau RB. 2001. Taxol biosynthesis: taxane 13α-hydroxylase is a cytochrome P450-dependent monooxygenase. Proceedings of the National Academy of Sciences. 98(24): 13595-13600. https://doi.org/10.1073/pnas.251539398.

Karuppusamy S, Pullaiah T. 2022. Botany of paclitaxel producing plants. Academic Press, USA. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90951-8.00008-4.

Li D, Fu D, Zhang Y, Ma X, Gao L, Wang X, Zhao K. 2017. Isolation, purification, and identification of taxol and related taxanes from taxol-producing fungus *Aspergillus niger* subsp. taxi. Journal of Microbiology and Biotechnology. 27(8): 1379-1385. https://doi.org/10.4014/jmb.1701.01018.

Liu W, Gong T, Zhu P. 2016. Advances in exploring alternative Taxol sources. RSC Advances. 6(54): 48800-48809. https://doi.org/10.1039/C6RA06640B.

Liu J, Liu X, Wu J, Li CC. 2020. Total synthesis of natural products containing a bridgehead double bond. Chemistry. 6(3): 579-615. https://doi.org/10.1016/j.chempr.2019.12.027.

Mendonça EG, Paiva LV, Stein VC, Pires MF, Santos BR, Pereira FJ. 2012. Growth curve and development of the internal calli structure of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. Brazilian Archives of Biology and Technology. 55(6): 887-896. https://doi.org/10.1590/S1516-89132012000600012.

Mizutani M. 2012. Impacts of diversification of cytochrome P450 on plant metabolism. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 35(6): 824-832. https://doi.org/10.1248/bpb.35.824.

Pandy R, Kumar SS, Suresh P, Annaraj J, Pandi M, Vellasamy S, Sagadevan S. 2023. Screening and characterization of fungal taxol-producing endophytic fungi for evaluation of antimicrobial and anticancer activities. Open Chemistry. 21(1): 20220344. https://doi.org/10.1515/chem-2022-0344.

Qaderi A, Omidi M, Etminan A, Oladzad A, Ebrahimi C. Dehghani MM, Mehrafarin A. 2012. Hazel (*Corylus avellana* L.) as a new source of taxol and taxanes. Journal of Natural Products. 65(10): 1395-1407. https://doi.org/10.1021/np50123a002.

Rahmati Z, Payam Nour V, Ghasemi Bezdi K, Ebrahimi P. 2017. Optimization of culture medium for *in vitro* callogenesis in *Taxus baccata* L. and *T. brevifolia* Nutt. Forest and Wood Products. 70(3): 381-

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-02-11]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.5.7]

391. https://doi.org/10.22059/jfwp.2017.111443.561.

Saklani R, Tiwari AK, Yadav PK, Yadav P, Chourasia MK. 2022. Validated HPLC-UV method for simultaneous estimation of paclitaxel and doxorubicin employing ion pair chromatography: Application in formulation development and pharmacokinetic studies. BioMed Research International. 2022(1): 7708235. https://doi.org/10.1155/2022/7708235.

Shirshekanb M, Rezadoost H, Javanbakht M, Ghassempour AR. 2017. The combination process for preparative separation and purification of paclitaxel and 10-deacetylbaccatin III using Diaion® Hp-20 followed by hydrophilic interaction based solid phase extraction. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 16(4): 1396-1414.

Stierle A, Strobel G, Stierle D, Grothaus P, Bignami G. 1995. The search for a taxol-producing microorganism among the endophytic fungi of the Pacific yew, Taxus brevifolia. Journal of Natural Products. 58(9): 1315-1324. https://doi.org/10.1021/np50123a002.

Tabata H. 2006. Production of paclitaxel and the related taxanes by cell suspension cultures of *Taxus* species. Current Drug Targets. 7(4): 453-461. https://doi.org/10.2174/138945006776359368.

Tandoğan M, Özel HB, Gözet FT, Şevik H. 2023. Determining the taxol contents of yew tree populations in Western Black Sea and Marmara regions. Bioresources. 18(2): 3496-3508. https://doi.org/10.15376/biores.18.2.3496-3508.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-02-11]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.5.7]

Production of Paclitaxel: From Plant Extraction to Biotechnological Methods and Final Purification

Mahdi Mahmoudi[1], Seyed Ahmad Sadat-Noori[2*]

1- Master's graduate, Department of Agricultural Sciences and Plant Breeding, Aburaihan Faculty of Agricultural Technology, University of Tehran, Pakdasht, Tehran, Iran
2- Professor, Department of Agricultural Sciences and Plant Breeding, Aburaihan Faculty of Agricultural Technology, University of Tehran, Pakdasht, Tehran, Iran
noori@ut.ac.ir

Abstract

Paclitaxel, a complex diterpenoid alkaloid, is extracted from trees of the genus *Taxus*, particularly *Taxus brevifolia*, and is used in the treatment of various cancers, including ovarian and breast cancer. This drug operates through a unique mechanism, halting mitotic cell division and thereby inducing the death of cancer cells. Common industrial methods for paclitaxel production include total synthesis and semi-synthesis. Total synthesis is not feasible on an industrial scale due to high costs and low yields, making semi-synthesis the most widely used method. Semi-synthesis relies on compounds such as 10-deacetylbaccatin III, derived from yew leaves. However, reliance on natural resources and limited access to raw materials are significant drawbacks of this approach. Extracting paclitaxel from *Taxus* trees can lead to environmental degradation and the extinction of plant species. As a result, research has focused on alternative methods, such as plant cell culture, the use of endophytic fungi, and the utilization of other plants like hazelnut. By employing genetic engineering techniques and manipulating the genes involved in paclitaxel biosynthesis, these methods can not only increase paclitaxel production but also reduce pressure on natural resources, offering sustainable alternatives for the supply of this vital drug.

Keywords: Production of taxol, Cancer, Cell culture, Genetic engineering

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-02-11]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.5.7]