

# Die Biologie der Taxane

ECKHARD LEISTNER

Die Entwicklung von Paclitaxel zu einem der wichtigsten anti-neoplastischen Chemotherapeutika ist eine Erfolgsgeschichte, die im Jahre 1960 begann, als das National Cancer Institute (NCI) in den USA in Zusammenarbeit mit dem US Department of Agriculture ein Programm initiierte, Pflanzen auf mögliche antineoplastische Wirkstoffe zu untersuchen.

### Historische Anfänge

Im Rahmen dieses Programms wurden 35.000 Pflanzen auf antineoplastische Aktivität getestet. Eine dieser Pflanzenproben war durch den Botaniker Arthur Barclay von der Pazifischen Eibe (*Taxus brevifolia* Nutt.) genommen worden. Extrakte dieser Pflanze zeigten zytotoxische Aktivität gegen Leukämiezellen und eine Vielzahl von Tumoren [1, 2]. Nach vorläufigen Veröffentlichungen in den Jahren 1963, 1967 und 1970 beschrieben Wani, Taylor, Wall, Coggon und McPhail 1971 die Absolutkonfiguration einer aus dem Extrakt gewonnenen antineoplastischen Verbindung [3], die sie Taxol nannten (das spätere „Paclitaxel“). Sie schrieben: „Taxol has potent antileukemic and tumor inhibitory pro-

perties and is the first compound possessing the taxane ring which has been demonstrated to have such activity“.

Die enorme Bedeutung der Verbindung hatten die Autoren jedoch zu diesem Zeitpunkt noch nicht erkannt. Sie versäumten es, die Verbindung vor der Veröffentlichung patentieren zu lassen, so dass sie heute das geistige Eigentum aller daran Interessierten ist.

Gleichwohl ist die Isolierung und Strukturaufklärung dieses wichtigen Wirkstoffes, der Bestandteil eines Arzneimittels ist, das einen Jahresumsatz von zur Zeit einer Mrd. US \$ hat, das wesentliche Verdienst von Wani und Wall (Abb. 1), die auch die Entdecker eines anderen wichtigen Zytostatikums, des Camptothecins, sind.

Die rasche Entwicklung des Paclitaxels zum Arzneistoff wurde jedoch durch widrige Umstände verzögert. Zügige Fortschritte wurden durch die ungeprüfte Annahme behindert, dass der Wirkmechanismus dem des Colchicins und der Vinca-Alkaloide ähnlich sein sollte. Gleichzeitig war es nicht möglich, Paclitaxel in ausreichender Menge für biologische Tests und klinische Untersuchungen bereit zu stellen. Die Menge an Paclitaxel, die aus der Rinde der Pazifischen Eibe gewonnen werden konnte, war zu gering und Schwierigkeiten mit einem Mäusetestsystem erwiesen sich als einschränkend. Die richtige Einschätzung des Paclitaxels wurde erst erreicht, als ihr ungewöhnlicher und neuer Wirkmechanismus (siehe folgendes Kapitel) durch die Arbeitsgruppe um Horwitz im Jahre 1979 erkannt wurde [4].

### Das Vorkommen von Taxanen in verschiedenen *Taxus*-Arten

Nach der Entdeckung des Paclitaxels lag es auf der Hand, die weiteren Inhaltsstoffe der Pazifischen Eibe (*Taxus brevifolia* Nutt.) zu untersuchen. Weitere Taxane, die zum Teil neue Naturstoffe darstellen und die sich zum Teil auch kristallisieren ließen, wurden beschrieben [5, 6].

Darüber hinaus wurden von verschiedenen *Taxus*-Spezies Rinde [7] und Nadeln [8] (Abb. 2) untersucht. In den Nadeln von elf *Taxus*-Arten wurden die folgenden Inhaltsstoffe quantitativ bestimmt [8]: Paclitaxel, 10-Deacetylpaclitaxel, Cephalomannin, Baccatin III, 10-Deacetylbaccatin III und Brevifoliol. Dabei stellte sich heraus, dass die Paclitaxelmenge in Nadeln von *Taxus floridana* (516 µg/g Trockengewicht) und *Taxus globosa* (433 µg/g Trockengewicht) am höchsten waren. Die beiden Arten sind jedoch nicht sehr weit verbreitet. Es mag daher sinnvoller sein, gegebenenfalls auf *Taxus x media* cv. zurückzugreifen, denn



ABB. 1 Mansukh C. Wani und Monroe E. Wall, die Entdecker des Paclitaxels und des Camptothecins.

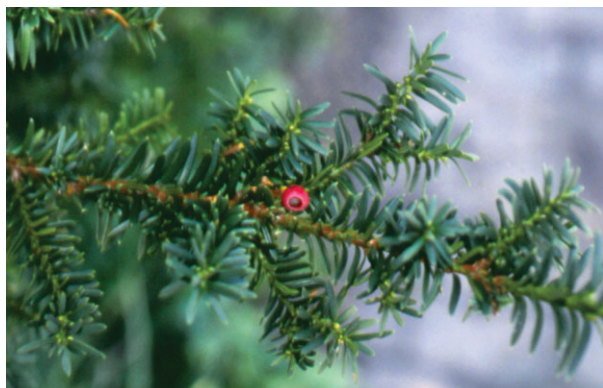


ABB. 2 Zweige eines weiblichen Baumes von *Taxus brevifolia* Nutt. (Photo: B. Bös, www.giftpflanzen.com)

Pflanzen dieser Art wachsen relativ schnell und sind leichter zugänglich. Ihr Paclitaxelgehalt liegt bei 211 µg/g Trockengewicht.

Es wurden auch die Nadeln von Pflanzen untersucht, die zwar zur Familie der Taxaceae zählen, nicht aber zur Gattung *Taxus* selbst. In diesen Pflanzen waren Taxane nicht nachweisbar.

Während bei *Taxus brevifolia* der Gehalt an Baccatin III (296 µg/g Trockengewicht) größer ist als von 10-Deacetylbaccatin III (41 µg/g Trockengewicht), ist das relative Mengenverhältnis beider Metaboliten bei allen anderen Arten umgekehrt. Deacetylbaccatin III in *Taxus canadensis* liegt bei 2665 µg/g Trockengewicht, Baccatin III bei 224 µg/g Trockengewicht. Der Paclitaxelgehalt in der Rinde von *Taxus baccata* beläuft sich auf ca. 0,06 %, wobei der Gehalt männlicher Bäume höher sein soll als der weiblicher Bäume [7].

Die so gewonnenen Daten scheinen jahreszeitlichen Schwankungen zu unterliegen. Die Signifikanz dieser quantitativen Daten ist eventuell mit Vorsicht zu betrachten, weil der Gehalt einzelner Taxane in Kulturvarietäten innerhalb der Arten *Taxus baccata*, *Taxus cuspidata* oder *Taxus media* bereits starken Schwankungen unterliegt [8].

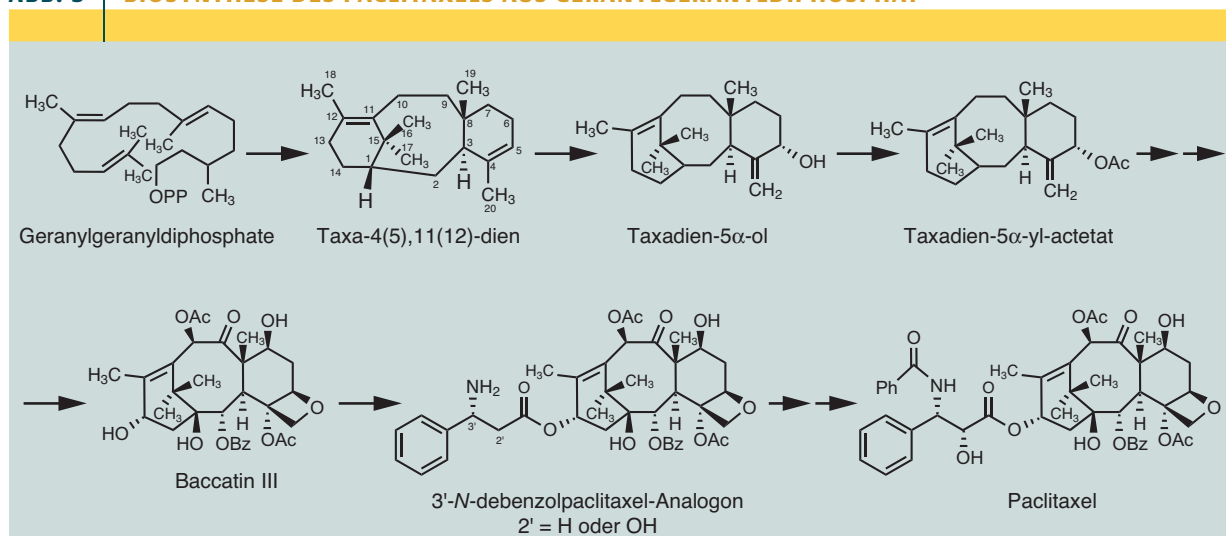
### Biosynthese des Paclitaxels

Untersuchungen zur Biosynthese eines Naturstoffes mögen von rein akademischen Interesse sein, beim Paclitaxel aber haben solche Untersuchungen einen sehr konkreten Hintergrund: Um Paclitaxel oder Docetaxel (ein Strukturanalogon von Paclitaxel) herzustellen, greift man auf biologisches Material zurück, weil die chemische Synthese vom Aufwand her wirtschaftlich nicht vertretbar ist. Die Kenntnis des Biosyntheseweges, seiner zugehörigen Gene und Enzyme sowie deren Regulationsmechanismen ist der Schlüssel für eine optimale Produktion von Paclitaxel oder Baccatin III, einem Ausgangspunkt für die semi-synthetische Herstellung von Paclitaxel und Docetaxel. Es zeichnet sich auch ab, dass eine Beschäftigung mit dem Biosyntheseweg der Taxane die Herstellung neuer antineoplastischer Verbindungen ermöglicht, die zur zweiten Generation antineoplastischer Taxane führen kann.

Zerlegt man das Paclitaxelmolekül visuell, dann erkennt man zwei Strukturelemente, nämlich drei aromatische Ringe, die aus dem Phenylalanin-Stoffwechsel stammen, sowie ein hoch oxygeniertes Taxangrundgerüst, das terpenoiden Ursprungs ist (Abb. 3).

Man kennt heute ca. 350 verschiedene Taxane [9], ein Hinweis darauf, wie variabel dieses Terpenoid ist, das sich letztlich immer aus dem Geranylgeranyldiphosphat ableitet. Letzteres Molekül gehört noch zum Primärstoffwechsel, seine Zyklisierung zum Taxa-4(5),11(12)-dien ist der erste

ABB. 3 BIOSYNTHESE DES PACLITAXELS AUS GERANYLGERANYLDIPHOSPHAT



Der erste Schritt wird von der Taxadiensynthase katalysiert. Es folgen Acylierungen und mehrere Hydroxylierungen unter Beteiligung von Cytochrom-P450-Monooxygenasen.

Schritt auf dem Weg zum terpenoiden Sekundärstoffwechsel der Taxane (Abb. 3). Geranylgeranyldiphosphat seinerseits stammt aus Isopentenylidiphosphat, das zu Dimethylallylpyrophosphat isomerisiert, wodurch die beiden Ausgangsverbindungen für das Geranylgeranyldiphosphat geschaffen werden. Da es zwei Wege zum Isopentenylidiphosphat gibt, den klassischen im Cytosol ablaufenden Weg aus Mevalonsäure und den Pyruvat/Glycerinaldehydphosphatweg in den Plastiden, sei darauf hingewiesen, dass der letztere Weg zur Paclitaxelbiosynthese führt [9, 10]. Die Terpensynthase oder Terpenzyklase, die diese Reaktion katalysiert, heißt Taxadiensynthase und führt zu Taxa-4(5),11(12)-dien (Abb. 3). Das zyklisierende Enzym gehört zu einer Gruppe von Terpenzyklasen, die einander sehr ähnlich sind und als Kofaktor meistens  $Mg^{2+}$  benötigen. Man vermutet, dass die Terpenzyklasen einen gemeinsamen evolutionären Ursprung haben, denn sie katalysieren ähnliche Reaktionsmechanismen und haben ähnliche konservierte Strukturen wie z.B. Aminosäurehomologien. Ihre Gene haben eine ähnliche Anzahl von Introns sowie ähnliche Exongrößen.

Man schätzt, dass zur Biosynthese des Paclitaxels ca. 20 Gene/Enzyme notwendig sind [11], von denen etwa zehn bis heute bekannt sind. Welche Funktion diese Gene haben, lässt sich beim Blick auf das Paclitaxelmolekül abschätzen: Das Taxangrundgerüst im Paclitaxel enthält acht Sauerstofffunktionen, die – soweit noch nicht bekannt – sehr wahrscheinlich durch Cytochrom-P450-Monooxygenasen eingeführt werden. Die erste Hydroxylierung erfolgt am C5 und ergibt 5 $\alpha$ -Hydroxy-taxa-4(20),11-dien (Taxadien-5  $\alpha$ -ol) [9] (Abb. 3). Die weiteren Hydroxylierungsschritte könnten am C10, C2, C9 und C13 in dieser möglichen Reihenfolge ablaufen, Hydroxylierungen am C7 und C1 jedoch finden wahrscheinlich spät statt [12]. Die beteiligten Cytochrom-P450-Monooxygenasen sind sehr substratspezifisch.

In weiteren Reaktionen spielen Coenzym-A-abhängige Acylierungen eine Rolle. Eine dieser Reaktionen führt nach der ersten Hydroxylierung am C5 zur Acetylierung des Taxadien-5 $\alpha$ -ols, so dass Taxa-4(5),11(12)-dien-5 $\alpha$ -yl-acetat (Taxadien-5 $\alpha$ -yl-acetat) (Abb. 3) gebildet wird [9]. Von dieser Substanz weiß man, dass sie Substrat für weitere Oxygenierungen ist, so dass man annimmt, dass die Acetylierung auf einer frühen Stufe der Paclitaxel-Biosynthese stattfindet.

Die Untersuchung der Einführung der aromatischen Reste am C13 des Taxangerüsts hat zu Überraschungen geführt: Biosynthetisch entsteht Paclitaxel aus Baccatin III und einem Phenylpropan, das aus Phenylalanin, jedoch nicht über Zimtsäure gebildet wird.

Das Phenylalanin unterliegt einer Phenylalaninaminomutase-Reaktion zum Phenylisoserin, einer Verbindung, die auch zum Benzoyl-Coenzym A umgesetzt wird und dann für den finalen Schritt der Paclitaxel-Biosynthese verantwortlich ist [13, 14]. Der dann aus Benzoyl-Coenzym A gebildete N-Benzoyl-Rest ist essentiell für die antineoplastische Wirksamkeit des Paclitaxels.

Auf eine besondere Reaktion im Taxoid-Stoffwechsel ist die Arbeitsgruppe um Croteau gestoßen: Sie fanden ein Gen, welches für die Einführung einer Hydroxygruppe am C14 des Taxangrundgerüsts verantwortlich ist [15]. Substrate des entsprechenden Enzyms sind Taxadien-5  $\alpha$ -yl-acetat (5  $\alpha$ -Acetoxy-taxadien) und 5  $\alpha$ -Acetoxy-10 $\beta$ -hydroxy-taxadiene, wobei das letztere Substrat bevorzugt umgesetzt wird. Ein Blick auf die Paclitaxelstruktur (Abb. 3) zeigt, dass dieses Molekül nicht am C14, sondern am C13 eine Sauerstofffunktion trägt. Also kann das an der Position 14 hydroxylierende Enzym/Gen nicht für einen Schritt in der Paclitaxel-Biosynthese verantwortlich sein. Es spielt allerdings eine Rolle bei der Bildung weiterer Taxane, eröffnet also einen Nebenweg, der vom Paclitaxel-Biosyntheseweg führt. Daraus ergibt sich nun die Möglichkeit, dieses Gen durch „*Metabolic Pathway Engineering*“ herunter zu regulieren, so dass der Fluss an Metaboliten gezielter und mit größerer Ausbeute auf das Paclitaxel gerichtet wird. Andererseits kann jedoch auch die Hydroxylierung am C14 zu neuen Taxanen führen, die vielleicht der 2. Generation der antineoplastischen Taxane angehören könnten. Aus diesen Entwicklungen mag man auch erkennen, wie wichtig die Molekularbiologie für die Pharmazeutische Biologie geworden ist.

### Produktion von Paclitaxel in Zellkulturen

Wollte man Paclitaxel für pharmazeutisch-medizinische Zwecke aus der *Taxus-brevifolia*-Pflanze gewinnen, so müsste man für 1 kg Taxol 6 bis 7 Tonnen Rinde aufarbeiten, für die 2.000 bis 3.000 Bäume notwendig wären. Die Bäume würden dann aber – ihrer Rinde entledigt – absterben. Aus diesem Grund würde der natürliche Baumbestand bald aufgebraucht sein, zumal die Pflanzen sehr langsam wachsen. Die Gewinnung von Paclitaxel für therapeutische Zwecke wäre so nicht machbar. Da auch die chemische Synthese keine Möglichkeit der großtechnischen Herstellung bietet, bleibt nur der Rückgriff auf biologische Herstellungsverfahren. Hierzu kann man entweder von Bac-



**ABB. 4** Mikroskopisches Bild kultivierter Zellen von *Taxus brevifolia*.

catin III oder 10-Deacetylbaaccatin ausgehen, die aus Nadeln von *Taxus baccata* oder *Taxus yuanaensis* gewonnen und synthetisch zu Paclitaxel umgesetzt werden, oder man bedient sich einer pflanzlichen Zellkultur. Beide Verfahren werden für die Herstellung der Präparate Taxol® und Taxotere® eingesetzt: während Paclitaxel für Taxol® ausschließlich aus einer dafür entwickelten Pflanzenzellkultur gewonnen wird, wird Docetaxel (Taxotere®) semisynthetisch aus *Taxus*-Nadeln hergestellt. Jedoch ist auch die Gewinnung von 10-Deacetylbaaccatin oder Baaccatin III aus Nadeln von *Taxus*-Pflanzen nicht trivial. Denn einerseits ist pflanzliches Material in seiner Qualität schwankend, und andererseits müssen das 10-Deacetylbaaccatin und Baaccatin III von einer Vielzahl unerwünschter Metaboliten abgetrennt werden.

Die Zellkulturtechnik bietet dem gegenüber eine Reihe von Vorteilen: Zunächst kann die Paclitaxel-Bildung durch Methyljasmonat als Elicitor stimuliert werden. Der Zusatz von Methyljasmonat zum Kulturmedium kann die Taxol-Produktion von 3 mg bis auf 117 mg pro Liter Medium erhöhen [16]. Methyljasmonat hat zwei Stereozentren, die im natürlichen Diastereomer die 3R,7S-Konfiguration haben. Jedoch hat sich gezeigt, dass die höchste Stimulierung der Paclitaxel-Bildung durch das 3R,7R-Isomer des Methyljasmonats erreicht wird [17]. Entscheidend für die Gewinnung des Paclitaxels ist auch, dass es von den *Taxus*-Zellen (Abb. 4) in das Kulturmedium abgegeben und aus diesem in relativer Reinheit durch Etherextraktion gewonnen werden kann.

Ein weiterer Vorteil der Zellkulturtechnik liegt darin, dass man den Produktionsprozess unter genau definierbaren Bedingungen und unter Ausschluss von Witterungseinflüssen durchführen kann. Die Herstellung des Paclitaxels mit Hilfe der Zellkulturtechnik wird daher seit dem Jahr 2000 bei der Firma Phyton in Ahrensburg durchgeführt [18]. Diese Firma verfügt über die weltweit größten Fermenteranlagen für pflanzliche Zellkulturen (Abb. 5).

Die für die Inokulation der Medien notwendigen Zellen (Abb. 4) werden selektiert, tiefgefroren vorgehalten und in einer Produktionskaskade angezogen, bei der eine Fermenterkapazität von 130.000 Liter pro Produktionszyklus eingesetzt wird. Ein Produktionszyklus dauert etwa acht Monate.

### Isolierung von Paclitaxel aus Mikroorganismen

Bei der Entwicklung des Paclitaxels zum neuen Arzneimittel war die Bereitstellung ausreichender Mengen dieser Verbindung ein schwer zu überwindender Engpass. Aus dieser Situation heraus ist es verständlich, dass verschiedene Wege zur Gewinnung von Paclitaxel beschränkt wurden. Während die Synthese zwar machbar ist, erwies sie sich jedoch mehr als intellektuelle und experimentelle Herausforderung, als dass sie nach wirtschaftlichen Prinzipien geboten erschien. Einen überraschenden Weg ging die Arbeitsgruppe um Strobel. In der Annahme, dass Paclitaxel



**ABB. 5** Fermenteranlage zur Produktion von Paclitaxel mit Hilfe der Zellkulturtechnik bei der Firma Phyton in Ahrensberg.

nicht durch die *Taxus-brevifolia*-Pflanze selbst, sondern durch einen mit der Pflanze assoziierten Mikroorganismus gebildet werden könnte, untersuchten sie die mikrobielle Besiedlung der Pflanze und stießen in der „inneren Rinde“ (Phloem) der Pflanze auf einen Pilz, den sie *Taxomyces andreanae* nannten [19]. Der Pilz ist bisher nur aus der *Taxus-brevifolia*-Pflanze isoliert worden und produziert offensichtlich Paclitaxel, dessen Identität durch eine Reihe von Methoden (Dünnschichtchromatographie, Massenspektroskopie, monoklonale Antikörper) nachgewiesen wurde. Die Menge an Paclitaxel, die der isolierte Pilz *in vitro* produziert, liegt allerdings bei nur maximal 95 bis 200 ng pro Liter Kulturbrühe. Diese extrem geringe Menge sollte jedoch nicht verwundern, denn isolierte Endophyten produzieren *in vitro* häufig überhaupt keine Naturstoffe mehr. Andererseits wurde diese Beobachtung auch so interpretiert, dass bei der extrem geringen Menge an Paclitaxel eine Kontamination durch eine authentische Probe Paclitaxel, die im Labor vorhanden war, stattgefunden haben könnte.

Strobel und seine Mitarbeiter begegneten dieser Kritik durch Applikation radioaktiver Biosynthesestufen an den Pilz ( $^{14}\text{C}$ -markiertes Phenylalanin, Acetat und Mevalonsäure). Sollte das Paclitaxel in der Kulturbrühe des *Taxomyces andreanae*-Pilzes radioaktiv markiert worden sein, dann musste man annehmen, dass das Paclitaxel ein Produkt des Pilzes, nicht aber eine Kontamination durch eine authentische Probe sein müsste, denn nur der Pilz selbst könnte isoliert und *in vitro* in der Lage sein, die radioaktiven Vorstufen zu Paclitaxel umzuwandeln. In der Tat zeigten diese Experimente, dass Paclitaxel ein authentisches Produkt des Pilzes ist.

Diese Beobachtungen wurden durch die Isolierung weiterer Pilze aus verschiedenen *Taxus*-Pflanzen weiter untermauert, wobei beide (Pilz und Pflanze) Produzenten von

Paclitaxel sind. Die Verbindung kommt z.B. auch in *Sporormia minima*, *Trichothecium spec.*, *Pestalotiopsis microspora* und einem nicht identifizierten Pilz vor, der aus der „inneren Rinde“ von *Taxus wallichiana* isoliert wurde [20]. Das Ergebnis, dass auch Pilze Produzenten von Paclitaxel sein können, haben auch italienische Wissenschaftler bestätigt, die Taxane in Pilzisolaten aus *Taxus baccata* und *Taxus brevifolia* nachgewiesen haben [21], und eine koreanische Arbeitsgruppe fand [22], dass ein Pilzisolat aus den Bodenproben eines *Taxus-brevifolia*-Waldes Paclitaxel bildete. Diese Befunde haben weitere Versuche stimuliert, die schließlich die Erkenntnis brachten, dass Paclitaxel-produzierende Endophyten nicht nur in *Taxus*-Arten, sondern auch in anderen Pflanzen (z.B. Rubiaceen) vorkommen [23].

Bei der Vielfalt der Pilze, aus denen Paclitaxel bisher isoliert wurde, verwundert es nicht, dass die Verbindung sogar in Bakterien, unter anderem einem *Kitasatospora*-Stamm, entdeckt wurde [24]. In allen diesen Fällen zeigte sich aber, dass die produzierte Menge an Paclitaxel höchstens im Bereich von µg (oder sogar ng) Paclitaxel pro Liter Medium lag, eine Menge, die eine kommerzielle Produktion noch nicht zulässt.

### Horizontaler Gentransfer?

Der Befund, dass Paclitaxel nicht nur in *Taxus*-Pflanzen, sondern auch in assoziierten Mikroorganismen vorkommt, hat den Blick auf das Naturstoffpotenzial endophytischer Mikroorganismen geschärft. Es ist davon auszugehen, dass Endophyten ein bevorzugter Syntheseort für pharmazeutisch interessante Naturstoffe sind [25, 26].

Man fragt sich allerdings auch, wie es möglich ist, dass der gleiche Naturstoff in verwandtschaftlich so weit voneinander entfernten Organismen (Bakterium, Pilz und *Taxus*-Pflanze) vorkommen kann. Chemotaxonomien leiten aus dem Vorkommen von Naturstoffen evolutionäre Beziehungen zwischen Organismen ab: Gleiche oder ähnliche Naturstoffe in unterschiedlichen Taxa werden als Merkmal betrachtet, das auf die Verwandtschaft zweier Taxa hindeuten kann. Eine Verwandtschaft zwischen *Taxus*-Pflanze und assoziiertem Mikroorganismus erscheint aber aufgrund der großen taxonomischen Distanz zwischen beiden Taxa unmöglich. Man mag daher spekulieren, dass die Entwicklung des Paclitaxels in der Evolution zweimal stattgefunden hat, einmal in Gymnospermen und einmal in Mikroorganismen. Dass so ein kompliziertes Molekül mit zwölf Stereozentren jedoch wiederholt erfunden wurde, erscheint ebenfalls unwahrscheinlich.

Man muss auch davon ausgehen, dass Paclitaxel, als es aus der Rinde von *Taxus brevifolia* isoliert wurde, nicht nur das Produkt des mit der *Taxus*-Pflanze assoziierten Pilzes war, sondern genuine Verbindung der pflanzlichen Zellen, denn sonst wäre nicht zu erklären, dass pflanzliche Zellkulturen Paclitaxel produzieren können: Pflanzliche Zellkulturen von *Taxus brevifolia* sind steril, leben also in Kultur ohne den assoziierten Pilz und können trotzdem Pacli-

taxel bilden (siehe oben). Es kommt hinzu, dass das Taxadiensynthese-Gen (siehe oben) eine lange N-terminale Zielsequenz hat, die die Taxadiensynthese in die Chloroplasten einschleust, ein untrügliches Zeichen dafür, dass das Gen ein pflanzliches Gen ist, nicht aber ein Strukturelement des Pilzes [9].

Als Erklärung für das erratische Vorkommen von Paclitaxel in der Natur bleibt daher eine letzte Möglichkeit: Dass nämlich das Gencluster für die Bildung des Paclitaxels in der Evolution von einem Organismus „erfunden“ und in andere Organismen durch Horizontalen (Lateralen) Gentransfer abgegeben wurde [27]. Voraussetzung für so einen Horizontalen Gentransfer ist, dass die beteiligten Organismen eng miteinander assoziiert sind. Ohne Zweifel ist das hier der Fall.

Man kann dann noch die Frage stellen, welcher der am Horizontalen Gentransfer beteiligten Organismen denn wohl der Donor und wer der Empfänger des Genclusters war. Hier ist nun wohl zu vermuten, dass entweder das Bakterium oder der Pilz der Donor gewesen ist, weil Gene von Mikroorganismen dazu tendieren, in Clustern aufzutreten, so dass nur ein einziger Übergang des gesamten Clusters auf die Pflanze nötig gewesen wäre. Im Gegensatz zu Mikroorganismen (Pilze, Bakterien) sind die Gene eines Stoffwechselweges höherer Pflanzen (in diesem Fall der *Taxus*-Pflanze) im Allgemeinen im Genom verstreut. Bei einem möglichem Übergang der Gene von der *Taxus*-Pflanze auf den Mikroorganismus wäre zu postulieren, dass mehrere untereinander koordinierte Genübergänge stattgefunden haben müssten, eine Annahme, die den Horizontalen Gentransfer sehr kompliziert machen würde.

### Zusammenfassung

*Paclitaxel ist eine Verbindung, die innerhalb der Vertreter der Gattung Taxus verbreitet ist. Erstaunlicherweise kommt die Verbindung nicht nur in Höheren Pflanzen, sondern in sehr geringer Menge in einer ganzen Reihe von in vitro kultivierbaren Pilzen und sogar in Bakterien vor. In der Vergangenheit hat eine Untersuchung der Biosynthese des Paclitaxels gute Fortschritte gemacht, so dass die Möglichkeit besteht, die Herstellung des Paclitaxels in pflanzlichen Zellkulturen durch „Metabolic Pathway Engineering“ zu optimieren. Eine mikrobielle Produktion des Paclitaxels scheint ebenfalls möglich, wenn molekularbiologische Verfahren zur Optimierung eingesetzt werden.*

### Danksagung

Dr. M. Wani vom Research Triangle Institut, USA, sowie Dr. H. Heckenmüller, Phyton GmbH, Ahrensburg, wird gedankt für die Bereitstellung von Bildmaterial sowie den Firmen Bristol-Myers Squibb und Aventis für Informationsmaterial.

### Widmung

Diese Arbeit ist Prof. Dr. Axel Zeek, Göttingen, zum 65. Geburtstag gewidmet.

## Zitierte Literatur

- [1] Bartsch, V.: Das Taxol®-Buch. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (2004).
- [2] Nicolaou, K.C., Dai, W.-M., Guy, R.K.: Chemie und Biologie von Taxol. *Angew. Chem.* 106 (1994), 38-69.
- [3] 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 (1971), 2325-2327.
- [4] Schiff, P.B., Fant, J., Horwitz, S.B.: Promotion of Microtubule Assembly *in vitro* by Taxol. *Nature* 277 (1979), 665-667.
- [5] Rao, K.V., Bhakuni, R.S., Hanuman, J.B., Davies, R., Johnson, J.: Taxanes from the Bark of *Taxus brevifolia*. *Phytochemistry* 41 (1996), 863-866.
- [6] Rao, K.V., Juchum, J.: Taxanes from the Bark of *Taxus brevifolia*. *Phytochemistry* 47 (1998), 1315-1324.
- [7] Nadeem, M., Rikhari, H.C., Kumar, A., Palni, L.M.S., Nandi, S.K.: Taxol Content in the Bark of Himalayan Yew in Relation to Tree Age and Sex. *Phytochemistry* 60 (2002), 627-631.
- [8] Van Roozendaal, E.L.M., Lelyveld, G.P., Van Beek, T.A.: Screening of the Needles of Different Yew Species and Cultivars for Paclitaxel and Related Taxoids. *Phytochemistry* 53 (2000), 383-389.
- [9] Walker, K., Croteau, R.B.: Taxol Biosynthetic Genes. *Phytochemistry* 58 (2001), 1-7.
- [10] Trapp, S.C., Croteau, R.B.: Genomic Organization of Plant Terpene Synthases and Molecular Implications. *Genetics* 158 (2001), 811-832.
- [11] Ketchum, R.E.B., Rithner, C.D., Qiu, D., Kim, Y.S., Williams, R.M., Croteau, R.B.: Taxus Metabolomics: Methyl Jasmonate Preferentially Induces Production of Taxoids Oxygenated at C-13 in *Taxus media* Cell Cultures. *Phytochemistry* 62 (2003), 901-909.
- [12] Jennewein, S., Rithner, C.D., Williams, R.M., Croteau, R.B.: Taxol Biosynthesis: Taxane 13<sub>β</sub>-Hydroxylase is a Cytochrome P450-Dependent Monooxygenase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98 (2001), 13595-13600.
- [13] Walker, K.D., Floss, H.G.: Detection of a Phenylalanine Aminomutase in Cell-Free Extracts of *Taxus brevifolia* and Preliminary Characterization of Its Reaction. *J. Am. Chem. Soc.* 120 (1998), 5333-5334.
- [14] Walker, K., Long, R., Croteau, R.: The Final Acylation Step in Taxol Biosynthesis: Cloning of the Taxoid C13-side-chain N-benzoyltransferase from *Taxus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99 (2002), 9166-9171.
- [15] Jennewein, S., Rithner, C.D., Williams, R.M., Croteau, R.: Taxoid Metabolism: Taxoid 14 $\beta$ -hydroxylase is a Cytochrome P450-dependent Monooxygenase. *Arch. Biochem. Biophys.* 413 (2003), 262-270.
- [16] Ketchum, R.E.B., Croteau, R.B.: Recent Progress toward an Understanding of Taxol Biosynthesis in Plant Cell Cultures. In: Towards Natural Medicine Research in the 21<sup>st</sup> Century. Ageta H, Aimi N, Ebizuka Y, Fujita T and Honda G. Eds. Elsevier Science BV (1998), 339-348.
- [17] Yukimune, Y., Hara, Y., Nomura, E., Seto, H., Yoshida, S.: The Configuration of Methyl Jasmonate Affects Paclitaxel and Baccatin III Production in *Taxus* Cells. *Phytochemistry* 54 (2000), 13-17.
- [18] Bristol-Myers Squibb (2004), persönliche Mitteilung
- [19] 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 (1995), 1315-1324.
- [20] Shrestha, K., Strobel, G.A., Shrivastava, S.P., Gewali, M.B.: Evidence for Paclitaxel from Three New Endophytic Fungi of Himalayan Yew of Nepal. *Planta Med.* 67 (2001), 374-376.
- [21] Caruso, M., Colombo, A.L., Fedeli, L., Pavesi, A., Quaroni, S., Saracchi, M., Ventrella, G.: Isolation of Endophytic Fungi and Actinomycetes Taxane Producers. *Ann. Microbiol.* 50 (2000), 3-13.
- [22] Noh, M.-J., Yang, J.-G., Kim, K.-S., Yoon, Y.-M., Kang, K.-A., Han, H.-Y., Shim, S.-B., Park, H.-J.: Isolation of a Novel Microorganism, *Pestalotia heterocornis*, Producing Paclitaxel. *Biotechnol. Bioeng.* 64 (1999), 620-623.
- [23] Strobel, G., Daisy, B.: Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiol. Molec. Biol. Rev.* 67 (2003), 491-502.
- [24] Caruso, M., Colombo, A.L., Crespi-Perellino, N., Fedeli, L., Malyszko, J., Pavesi, A., Quaroni, S., Saracchi, M., Ventrella, G.: Studies on a Strain of *Kitasatospora sp.* Paclitaxel Producer. *Ann. Microbiol.* 50 (2000), 89-102.
- [25] Strobel, G.A., Long, D.M.: Endophytic Microbes Embody Pharmaceutical Potential. *ASM News* 64(1998), 263-268.
- [26] Strobel, G.A., Daisy, B., Castillo, U., Harper, J.: Natural Products from Endophytic Microorganisms. *J. Nat. Prod.* 67 (2004), 257-268.
- [27] Walton, J.D.: Commentary: Horizontal Gene Transfer and the Evolution of Secondary Metabolite Gen Clusters in Fungi: An Hypothesis. *Fungal Genetics and Biology* 30 (2000), 167-171.

## Der Autor



Prof. Dr. rer. nat. Eckhard Leistner (geb. 1941); Studium der Biologie und Chemie in München (LMU). Promotion im Fach Botanik bei Prof. M. H. Zenk; 1969-71 Postdoctorate Fellow (Stipendiat der Deutschen Forschungsgemeinschaft) bei Prof. Ian D. Spenser am Department of Chemistry der McMaster University in Hamilton, Ontario, Kanada; 1973 Habilitation; 1975 Wiss. Rat und Prof. am Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie der Universität Münster; 1983 Direktor am Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität Bonn; Gastaufenthalte 1979 und 1992 in den USA.

## Anschrift:

Prof. Dr. Eckhard Leistner  
Universität Bonn  
Institut für Pharmazeutische Biologie  
Nussallee 6  
53115 Bonn  
eleistner@uni-bonn.de