PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, NATURALES Y AMBIENTALES

CARRERA DE QUÍMICA

MONOGRAFÍA

Nombre del estudiante: **Camila Doménica Quinga Caiza**

Nombre del tutor de la monografía:

Patricio Javier Espinoza Montero

Título de monografía

Biosíntesis y evaluación farmacológica del Taxol: una perspectiva desde la minería del genoma.

Área: Química Farmacéutica y Biotecnología

Quito, 2026

II

Dedico este trabajo, ante todo, a mi familia, mi pilar fundamental y quienes me han sostenido en cada paso de este camino con su amor y apoyo incondicional. De manera muy especial, dedico este logro a mi abuelita, quien, aunque hoy no está físicamente a mi lado para celebrar este momento, vive en cada uno de mis recuerdos y en la determinación que me impulsó a cumplir esta meta. Este título también es suyo.

TABLANAL DE CONTENIDO

Resumen 5
1. Abstract 6
3. INTRODUCCIÓN 8
JUSTIFICACIÓN 11
4. OBJETIVOS 12
4.1 OBJETIVO GENERAL 12
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 13
5. DESARROLLO TEÓRICO 13
5.1 Estrategias de búsqueda y criterios de selección 13
5.2 Antecedentes 16
5.3 Actividad biológica 21
5.4 Producción de taxol 24
5.5 Biosíntesis de paclitaxel 26
5.5.1 Etapa i: ciclación inicial y primera oxidación 29
5.5.2 Etapa ii: construcción del núcleo de la baccatina iii, pasos corregidos y descubrimientos recientes 30
5.5.3 Etapa iii: ensamblaje de la cadena lateral 32
5.6 Minería genética en la biosintesis del paclitaxel 38
5.7 Identificación y validación de genes clave en la biosíntesis del paclitaxel 40
5.8 Eliminación/reducción de efectores negativos mediante crispr y arn de interferencia 44
5.9 Control de componentes de la vía metabólica mediante circuitos genéticos ajustables. 46
5.10 Mejora de la producción de taxanos con un consorcio microbiano sintético 48
5.11 Ventajas e inconvenientes de las estrategias sintéticas en la biosíntesis de paclitaxel 50
5.12 Avances recientes, limitaciones y perspectivas futuras 62
6. CONCLUSIONES 65
7. BIBLIOGRAFÍA 66

Resumen

El paclitaxel, comercializado como Taxol®, es un agente quimioterapéutico de amplio valor clínico, reconocido por su eficacia frente a diversos tipos de cáncer. Su estructura, correspondiente a un diterpeno tetracíclico altamente funcionalizado, continúa representando un desafío considerable para la síntesis química total y para su producción a escala industrial. Tradicionalmente, la obtención de este compuesto se ha basado en la extracción a partir de fuentes naturales y en procesos de semisíntesis; no obstante, ambos enfoques presentan limitaciones asociadas con el bajo rendimiento, los costos de producción y la sostenibilidad del suministro.

Esta monografía analiza la biosíntesis del paclitaxel desde una perspectiva centrada en la bioexploración y la minería genómica, integrando avances recientes en la elucidación de su ruta metabólica. Aunque esta vía biosintética ha requerido décadas de investigación para ser parcialmente esclarecida, la incorporación de enfoques multiómicos ha permitido identificar enzimas clave involucradas en etapas críticas de la producción del metabolito. Entre ellas destacan la benzoiltransferasa T3′NBT y la dioxigenasa T2′OGD, cuya caracterización ha contribuido a comprender con mayor precisión los pasos finales de la biosíntesis y a optimizar la expresión de genes candidatos en sistemas heterólogos.

Asimismo, se examina el papel de la biología sintética y la ingeniería metabólica en el desarrollo de plataformas alternativas para la producción de paclitaxel. En este contexto, herramientas como el cribado genético, el modelado computacional y la inteligencia artificial están ampliando las posibilidades de diseño, predicción y optimización de rutas biosintéticas complejas. De igual manera, se discuten los avances en agricultura molecular y en la construcción de consorcios microbianos sintéticos como estrategias sostenibles frente a los métodos convencionales de obtención.

Finalmente, se revisan las perspectivas farmacológicas y terapéuticas del paclitaxel, con énfasis en el desarrollo de formulaciones nanoestructuradas de segunda generación

orientadas a mejorar su biodisponibilidad, eficacia antitumoral y perfil de seguridad. En conjunto, el paclitaxel se presenta como una molécula de relevancia clínica y biotecnológica en continua evolución, cuya viabilidad industrial y potencial terapéutico dependen de la convergencia entre la minería del genoma, la ingeniería metabólica, la biología sintética y la farmacología de precisión.

1. Abstract

Paclitaxel, marketed as Taxol®, is a chemotherapeutic agent of substantial clinical value, widely recognized for its efficacy against several types of cancer. Its structure, corresponding to a highly functionalized tetracyclic diterpene, continues to pose a considerable challenge for total chemical synthesis and large-scale industrial production. Traditionally, the supply of this compound has relied on extraction from natural sources and semisynthetic processes; however, both approaches present limitations related to low yield, production costs, and supply sustainability.

This monograph analyzes paclitaxel biosynthesis from a perspective focused on bioexploration and genome mining, integrating recent advances in the elucidation of its metabolic pathway. Although this biosynthetic route has required decades of research to be partially clarified, the incorporation of multi-omics approaches has enabled the identification of key enzymes involved in critical steps of metabolite production. Among these, the benzoyltransferase T3′NBT and the dioxygenase T2′OGD stand out, as their characterization has contributed to a more precise understanding of the final stages of biosynthesis and to the optimization of candidate gene expression in heterologous systems.

The role of synthetic biology and metabolic engineering in the development of alternative platforms for paclitaxel production is also examined. In this context, tools such as genetic screening, computational modeling, and artificial intelligence are expanding the possibilities for designing, predicting, and optimizing complex biosynthetic pathways.

Likewise, advances in molecular farming and the construction of synthetic microbial consortia are discussed as sustainable strategies compared with conventional production methods.

Finally, the pharmacological and therapeutic perspectives of paclitaxel are reviewed, with emphasis on the development of second-generation nanostructured formulations aimed at improving its bioavailability, antitumor efficacy, and safety profile. Overall, paclitaxel is presented as a molecule of continuing clinical and biotechnological relevance, whose industrial feasibility and therapeutic potential depend on the convergence of genome mining, metabolic engineering, synthetic biology, and precision pharmacology.

3. INTRODUCCIÓN

El paclitaxel, comercializado como Taxol®, es un metabolito diterpénico de elevada relevancia farmacológica debido a su potente actividad antineoplásica y a su amplio uso clínico en el tratamiento de diversos tipos de cáncer, incluidos los de mama, ovario y pulmón (Thapa et al., 2016). Este compuesto se biosintetiza de manera natural en especies del género *Taxus*, particularmente en el tejo del Pacífico (*Taxus brevifolia*), a partir del cual fue identificado originalmente en extractos etanólicos de corteza. Desde su descubrimiento, el paclitaxel ha despertado un interés sostenido en la química orgánica, la biología molecular, la biotecnología y la farmacología, debido tanto a su eficacia terapéutica como a las dificultades asociadas con su obtención en cantidades suficientes para satisfacer la demanda clínica.

Desde el punto de vista estructural, el paclitaxel presenta una arquitectura molecular altamente compleja, caracterizada por un núcleo taxano tricíclico rígido y densamente funcionalizado, múltiples centros quirales, grupos éster, una cadena lateral amídica y un anillo de oxetano. Esta conformación tridimensional es esencial para su actividad biológica, ya que permite su interacción específica con los microtúbulos celulares. A diferencia de otros agentes antimitóticos que inhiben la polimerización de la tubulina, el paclitaxel estabiliza los microtúbulos e impide su despolimerización dinámica durante la división celular. Como consecuencia, altera la progresión del ciclo celular, induce arresto mitótico y promueve la apoptosis en células tumorales (L. Zhang et al., 2023). Sin embargo, la misma complejidad estructural que sustenta su eficacia farmacológica constituye también una de las principales barreras para su síntesis química total y producción a gran escala(X. Liu et al., 2024).

Históricamente, la obtención de paclitaxel se basó en la extracción directa a partir de la corteza de *Taxus*. No obstante, este enfoque presenta importantes limitaciones ambientales, técnicas y económicas. Se ha estimado que se requieren aproximadamente 327 200 kg de corteza para obtener 24 kg de Taxol, lo que evidencia la baja disponibilidad natural del metabolito y la necesidad de desarrollar estrategias de producción más eficientes y sostenibles (Kathiravan et al., 2013). Además, la extracción intensiva compromete la conservación de las especies productoras y no ofrece una solución viable para una demanda farmacéutica creciente.

La síntesis química total del paclitaxel ha representado un hito para la química orgánica sintética, pero su aplicabilidad industrial continúa siendo limitada. Diversas rutas sintéticas han sido desarrolladas en el ámbito académico; sin embargo, suelen requerir más de 30 etapas de reacción, presentan rendimientos globales bajos y demandan un control estereoquímico riguroso (Min et al., 2023a). Aunque estas aproximaciones no han reemplazado a los métodos convencionales de producción, han sido fundamentales para comprender la relación estructura-actividad del paclitaxel y para orientar el diseño de análogos con propiedades farmacológicas mejoradas.

En este contexto, la semisíntesis a partir de precursores naturales, como la 10-desacetilbacatina III, se ha consolidado como la estrategia predominante a escala industrial. Este enfoque permite aprovechar intermediarios biosintéticos disponibles en fuentes renovables, mejorar el control sobre el rendimiento y la pureza del producto final, y reducir parcialmente la presión sobre las fuentes naturales de paclitaxel (Jiang et al., 2024a). Actualmente, la producción de paclitaxel se sustenta principalmente en tres enfoques complementarios: la extracción natural, la semisíntesis y la producción biotecnológica. Entre ellos, la semisíntesis mantiene una posición dominante por su equilibrio entre eficiencia, reproducibilidad y calidad farmacéutica. No obstante, los avances recientes en ingeniería

metabólica y biología sintética han impulsado el desarrollo de plataformas heterólogas con potencial para transformar los esquemas tradicionales de producción, (Jiang et al., 2024a), (Yin et al., 2025).

La biosíntesis del paclitaxel constituye una de las rutas metabólicas más complejas descritas en plantas. Esta vía se inicia a partir del pirofosfato de geranilgeranilo y comprende múltiples etapas de ciclación, oxidación, acilación y modificación estructural que conducen a la formación progresiva del núcleo taxano funcionalizado. Entre las enzimas más relevantes se encuentran la taxadieno sintasa, diversas monooxigenasas dependientes del citocromo P450 y varias aciltransferasas, responsables de introducir modificaciones clave en la molécula. La elucidación de esta ruta ha avanzado considerablemente gracias a la integración de estudios metabolómicos, transcriptómicos y funcionales, los cuales han permitido identificar enzimas críticas, intermediarios biosintéticos y posibles puntos de regulación metabólica (Gou et al., 2024).

Dentro de este marco, la minería genómica se ha consolidado como una herramienta fundamental para el descubrimiento de genes implicados en la biosíntesis del paclitaxel y de otros metabolitos especializados. El análisis integrado de datos ómicos permite priorizar genes candidatos, asociar perfiles de expresión con la acumulación de intermediarios metabólicos y reconstruir parcialmente rutas biosintéticas complejas. Estos avances han favorecido el diseño de estrategias de ingeniería metabólica orientadas a optimizar la producción de paclitaxel en sistemas heterólogos, como microorganismos, cultivos celulares vegetales y plataformas vegetales modificadas. Además, la minería genómica abre la posibilidad de identificar nuevas variantes estructurales con potencial farmacológico, ampliando así el valor biotecnológico de las especies del género *Taxus* y de sus rutas metabólicas asociadas (Zerbe, 2024).

El estudio del paclitaxel ejemplifica la convergencia entre química orgánica, biotecnología, genómica funcional y farmacología. A pesar de los avances logrados en la comprensión de su estructura, mecanismo de acción y biosíntesis, aún persisten desafíos importantes relacionados con la optimización de su producción, la reconstrucción completa de su vía metabólica y la transferencia eficiente de esta ruta a sistemas heterólogos. Por ello, el análisis integrado de sus estrategias sintéticas, su actividad biológica y las aproximaciones basadas en minería genómica resulta esencial para desarrollar métodos de producción más eficientes, sostenibles y con alto impacto terapéutico.

JUSTIFICACIÓN

La biosíntesis representa una alternativa estratégica, ya que permite el uso de rutas metabólicas enzimáticas altamente específicas, que exhiben una elevada selectividad estereoquímica y operan en condiciones más sostenibles (Xie et al., 2024). El paclitaxel es un diterpeno tetracíclico de alta complejidad estructural, que posee un mecanismo de acción anticancerígeno único basado en la estabilización de los microtúbulos, lo que le confiere una alta eficacia terapéutica, pero también dificulta su producción. Esta complejidad estructural, junto con su baja disponibilidad natural, ha motivado el estudio de su ruta biosintética, en la que enzimas como las monooxigenasas del citocromo P450 y diversas transferasas desempeñan un papel clave en la formación del núcleo taxano (Oudin et al., 2024). Además, el cribado genómico ha permitido la identificación de genes clave y la optimización de rutas metabólicas mediante estrategias de ingeniería genética, aumentando así el potencial de producción en sistemas heterólogos (Perez-Matas et al., 2023).

La importancia de desarrollar métodos de producción alternativos se evidencia en el crecimiento sostenido del mercado del paclitaxel, que superó los 5.000 millones de dólares en 2023 y se prevé que alcance los 15.000 millones de dólares en 2032. Sin embargo, su

producción aún depende en gran medida de fuentes vegetales o cultivos celulares para precursores como la baccatina III, que requieren modificaciones químicas adicionales, lo que incrementa significativamente los costos debido a los bajos rendimientos. Esta limitación, junto con la incapacidad de los métodos tradicionales para satisfacer la creciente demanda, subraya la necesidad urgente de implementar estrategias más eficientes y sostenibles (Oudin et al., 2024).

Actualmente, el concepto de molecular farming está emergiendo como una estrategia relevante para la producción de compuestos farmacéuticos a partir de organismos vivos utilizados como biofábricas. El uso de cultivos celulares de Taxus, cultivos in vitro y microorganismos genéticamente modificados ha demostrado ser una alternativa prometedora para la producción sostenible de paclitaxel, ofreciendo ventajas en términos de control, escalabilidad y eficiencia (Yin et al., 2025; Li et al., 2023). Además, herramientas como la ingeniería metabólica y la biología sintética han permitido el diseño de rutas biosintéticas en sistemas como bacterias y cianobacterias, capaces de producir precursores de taxanos a partir de fuentes simples como el dióxido de carbono (Zhong et al., 2024). En este sentido, la biotecnología se justifica como una alternativa viable a los métodos tradicionales, integrando sostenibilidad, eficiencia y potencial de innovación en la producción de paclitaxel.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Describir la biosíntesis y farmacología del Taxol a través a través de un enfoque de minería genética.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Examinar los antecedentes históricos, así como las características fisicoquímicas y farmacológicas del Taxol.
- Describir los genes candidatos involucrados en la culminación de la ruta biosintética del Taxol y las estrategias viables de ingeniería metabólica aplicadas a su producción.
- Evaluar los avances recientes en la minería genética orientada al estudio del Taxol.
- Analizar el estado actual y las perspectivas futuras de la producción biotecnológica del Taxol.

5. DESARROLLO TEÓRICO

5.1 ESTRATEGIAS DE BÚSQUEDA Y CRITERIOS DE SELECCIÓN

En un contexto de creciente interés por los compuestos anticancerígenos de origen natural, el paclitaxel, comercializado como Taxol®, se ha consolidado como uno de los fármacos más relevantes en la investigación biomédica y farmacológica contemporánea. Su importancia clínica, junto con los desafíos asociados a su síntesis, producción sostenible y optimización terapéutica, ha impulsado un aumento sostenido de publicaciones científicas en áreas como la química de productos naturales, la biotecnología, la biología sintética, la ingeniería metabólica y la farmacología.

Con el propósito de examinar la evolución reciente del interés académico en torno al paclitaxel, se realizó una revisión bibliométrica de publicaciones científicas registradas entre 2021 y 2025. Este análisis permitió recopilar información sobre el número de documentos relacionados con Taxol durante dicho periodo y ofrecer una aproximación cuantitativa a la dinámica de producción científica en este campo.

Los documentos fueron obtenidos de la base de datos ScienceDirect y Scopus mediante una estrategia de búsqueda centrada en términos asociados con paclitaxel, Taxol,

biosíntesis, minería genómica, producción biotecnológica y evaluación farmacológica. Los registros recuperados fueron exportados en formato RIS y posteriormente analizados con el software VOSviewer, versión 1.6.20. Para explorar las principales tendencias temáticas, se aplicó un análisis de coocurrencia de palabras clave, estableciendo un umbral mínimo de ocurrencia con el fin de seleccionar los términos más representativos del corpus documental.

Como resultado del análisis, se identificaron 18 términos relevantes, organizados en tres grupos temáticos principales. Estos clústeres permitieron reconocer las áreas de investigación predominantes y las conexiones conceptuales más frecuentes dentro de la literatura reciente sobre paclitaxel. En conjunto, este enfoque bibliométrico proporcionó una base objetiva para delimitar los ejes teóricos de la monografía y orientar la discusión hacia los avances más significativos en biosíntesis, minería genómica, producción biotecnológica y aplicaciones farmacológicas del Taxol.

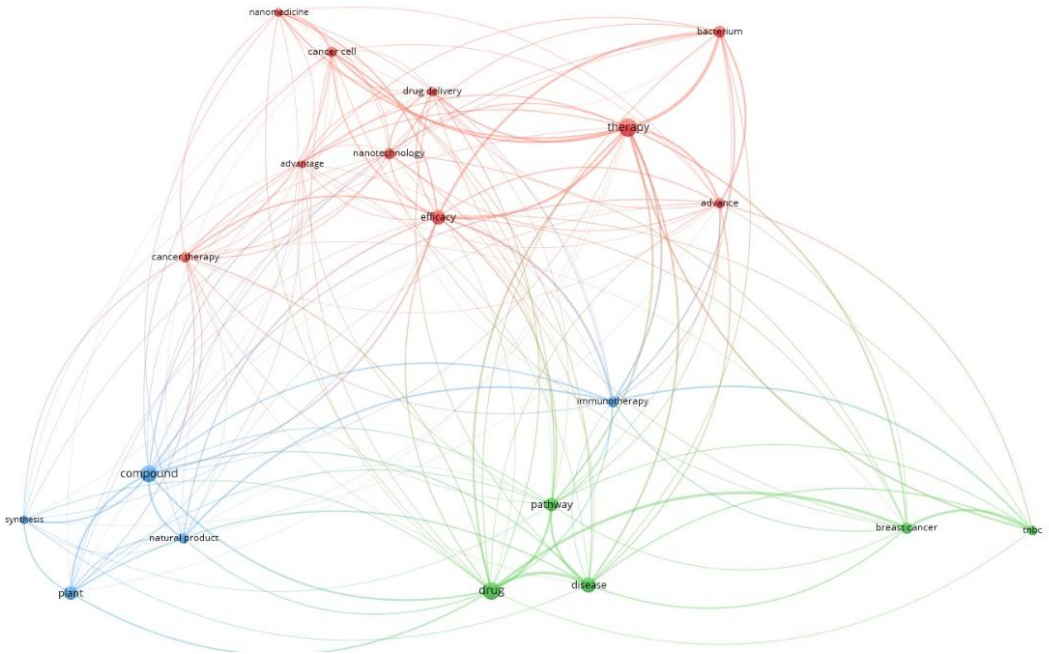


Figura 1. Mapa de co-ocurrencia de palabras clave del paclitaxel obtenido con VOSviewer (ScienceDirect).

En la red de coocurrencia generada mediante VOSviewer (Figura 1) , los nodos representan las palabras clave identificadas en el corpus documental, mientras que su tamaño refleja la frecuencia de aparición de cada término. Por su parte, los enlaces entre nodos indican la fuerza de asociación entre las palabras clave, lo que permite reconocer patrones temáticos y relaciones conceptuales dentro de la literatura analizada.

El análisis permitió identificar tres grupos principales. El primer clúster estuvo relacionado con aplicaciones terapéuticas y nanotecnología, e incluyó términos asociados con terapia, administración de fármacos y nanomedicina. El segundo grupo se vinculó con aspectos farmacológicos y clínicos, agrupando palabras clave como fármaco, enfermedad, cáncer de mama y cáncer de mama triple negativo. Finalmente, el tercer clúster se asoció con el origen natural y la producción del paclitaxel, incluyendo términos como planta, producto natural, compuesto y síntesis.

En conjunto, la red de coocurrencia evidencia que la investigación reciente sobre paclitaxel se concentra principalmente en tres ejes: el desarrollo de sistemas avanzados de administración de fármacos, sus aplicaciones terapéuticas en el tratamiento del cáncer y los estudios orientados a su producción, obtención y síntesis. La proximidad y conexión entre estos grupos sugieren una fuerte interrelación entre las áreas farmacológicas, biotecnológicas y químicas, lo que refleja el carácter multidisciplinario del estudio del Taxol.

Durante el periodo comprendido entre 2021 y 2025, la producción científica relacionada con el Taxol mostró una tendencia relativamente estable, aunque con ligeras fluctuaciones en el número de publicaciones anuales. El mayor número de documentos se registró en 2021, con 1216 artículos, seguido de una disminución en 2022. A partir de 2023, se observó una recuperación gradual en la producción científica, que alcanzó nuevamente

valores elevados en 2024 y se mantuvo en niveles similares en 2025, como se muestra en la Figura 2.

Estos resultados evidencian el interés sostenido de la comunidad científica en el estudio del paclitaxel, particularmente en áreas relacionadas con sus aplicaciones farmacéuticas, el diseño de nuevas plataformas de administración, la nanotecnología, la biotecnología y las estrategias de producción sostenible. Esta tendencia confirma la relevancia del Taxol no solo como agente quimioterapéutico establecido, sino también como modelo de estudio para el desarrollo de nuevas aproximaciones terapéuticas y biotecnológicas.

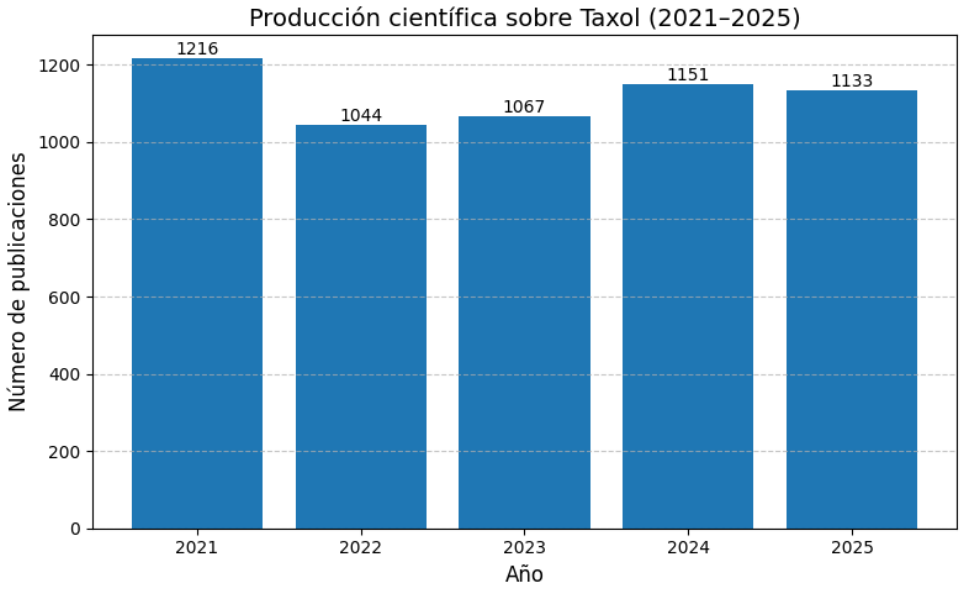


Figura 2. Producción científica anual sobre Taxol (2021–2025)

5.2 ANTECEDENTES

El Taxol® —paclitaxel— es un diterpenoide taxano altamente oxidado, aislado originalmente de la corteza de *Taxus brevifolia*. Su estructura fue establecida por Wani y colaboradores en 1971, marcando un hito en la química de productos naturales y en el

desarrollo posterior de agentes antineoplásicos de origen vegetal. Desde el punto de vista estructural, el paclitaxel posee un esqueleto taxano tetracíclico altamente oxigenado [6–8–6–4], caracterizado por un sistema policíclico rígido, una olefina anti-Bredt tensionada entre C11–C12 y 11 estereocentros, incluidos tres centros cuaternarios y siete centros quirales contiguos. El anillo B adopta una conformación silla-bote altamente tensionada y funcionalizada, mientras que el anillo C se dispone sobre el anillo D de oxetano. La reactividad de los distintos grupos funcionales del núcleo taxano está determinada por efectos estéricos, conformacionales y estereoelectrónicos, los cuales contribuyen de manera conjunta a que la síntesis del paclitaxel represente uno de los mayores desafíos de la química orgánica sintética.

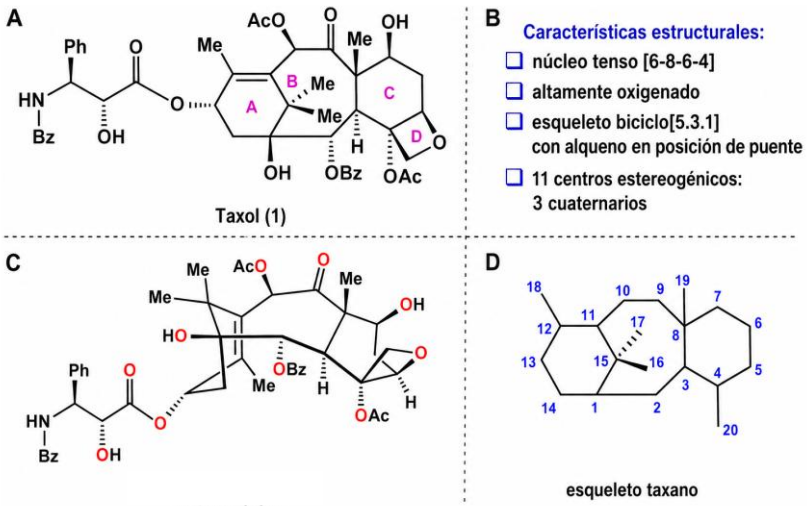


Figura 3. Análisis estructural del Taxol (1). (A) Estructura química, (B) Características estructurales principales, (C) Conformación tridimensional, y (D) Numeración del esqueleto base de taxano. adaptado de Min y col. (Min et al., 2023b)

La estructura del paclitaxel comprende cuatro anillos fusionados que conforman el núcleo de baccatina III, unido en C-13 a una cadena lateral de N-benzoil-3-fenilisoserina (Gou et al., 2024). La molécula contiene diversos grupos funcionales relevantes, incluidos dos ésteres de acetato en C-4 y C-10, un éster de benzoato asociado con la cadena lateral de

fenilisoserina, varios grupos hidroxilo en C-1, C-7 y C-13, y un anillo de oxetano entre C-4 y C-5 (Barrales-Cureño HJ, 2016). Esta complejidad funcional y estereoquímica explica tanto su actividad biológica como las dificultades asociadas con su síntesis y modificación estructural.

En cuanto a sus propiedades fisicoquímicas, el paclitaxel es un sólido cristalino, con un punto de fusión aproximado de 216–217 °C, y presenta un carácter marcadamente lipofílico. Su solubilidad en agua es extremadamente baja, inferior a 0,3 µg/mL, lo que condiciona su formulación farmacéutica y su biodisponibilidad. Además, exhibe una elevada unión a proteínas plasmáticas, cercana al 89 %, y un amplio volumen de distribución, estimado en aproximadamente 77 L (Weaver, 2014). Estas características han determinado la necesidad de emplear excipientes solubilizantes, como Cremophor EL en la formulación comercial Taxol®, para permitir su administración intravenosa (Weaver, 2014).

Históricamente, el paclitaxel fue aislado por primera vez de la corteza del tejo del Pacífico (*T. brevifolia*) en 1971; sin embargo, su rendimiento natural resultó extremadamente bajo. Esta limitación impulsó el desarrollo de estrategias alternativas de producción. Uno de los avances industriales más relevantes fue la semisíntesis desarrollada por Holton en 1994 (Holton et al., 1994), basada en el uso de 10-desacetilbaccatina III u otros derivados de baccatina obtenidos en cantidades relativamente abundantes a partir de Taxus baccata. Estos precursores son posteriormente funcionalizados mediante el acoplamiento químico de la cadena lateral de fenilisoserina (Min et al., 2023b).

Una estrategia semisintética ampliamente utilizada implica el empleo de la lactama de Ojima, un derivado protegido de la fenilisoserina, que se acopla al grupo hidroxilo en C-13 de la baccatina. Posteriormente, se llevan a cabo etapas de hidrogenación y desprotección para

obtener paclitaxel (Min et al., 2023b). En términos generales, las rutas semisintéticas requieren entre 8 y 10 pasos y pueden alcanzar rendimientos globales aproximados de 20 a 60 %, dependiendo del método empleado. Entre sus principales ventajas se encuentran la reducción de la tala de árboles completos y el aprovechamiento de precursores naturales renovables. No obstante, el proceso continúa siendo químicamente complejo y costoso.

En contraste, la síntesis total del paclitaxel, lograda por primera vez por Holton y colaboradores en 1994, requiere varias decenas de etapas y presenta rendimientos globales inferiores al 0,1 %, lo que explica su limitada aplicación comercial (Tan et al., 2026). Aunque la síntesis total no constituye una estrategia industrial viable, ha proporcionado información fundamental sobre la relación estructura-actividad del paclitaxel y ha permitido el diseño racional de análogos taxanos con propiedades farmacológicas mejoradas. Paralelamente, se han explorado métodos alternativos, como cultivos celulares de *Taxus*, producción en levaduras genéticamente modificadas y síntesis biocatalítica; sin embargo, la semisíntesis química sigue siendo el enfoque predominante en la producción industrial.

Aunque la semisíntesis continúa siendo el estándar industrial, la investigación actual se orienta cada vez más hacia la producción biotecnológica mediante biología sintética e ingeniería metabólica. Este enfoque busca superar las limitaciones de los métodos tradicionales, particularmente la complejidad química y la dependencia de precursores vegetales, mediante la expresión heteróloga de enzimas biosintéticas en microorganismos o sistemas celulares modificados.

Los avances recientes en secuenciación genómica de especies de Taxus y en la elucidación de la ruta biosintética del paclitaxel han sido esenciales para el desarrollo de estas estrategias (Oudin et al., 2024). La identificación de enzimas clave, como la taxano-9α-

hidroxilasa (T9αH) y la taxano oxetanasa 1 (TOT1), ha permitido profundizar en los pasos necesarios para la formación de baccatina III y otros intermediarios avanzados de la ruta (Jiang et al., 2024c). Asimismo, la optimización de redes reguladoras y el uso de enzimas como FoTO1 han contribuido al incremento del rendimiento de precursores tempranos en plataformas heterólogas (McClune et al., 2025).

A nivel metabólico, la modificación de las vías del mevalonato (MVA) y del metileritritol fosfato (MEP) ha sido una estrategia central para aumentar el flujo de precursores hacia la biosíntesis de taxanos (Ajikumar et al., 2010; Wu Ying-Mei, 2022). Sin embargo, la canalización eficiente del carbono hacia productos deseados continúa siendo un desafío debido a la formación de subproductos y al desperdicio metabólico. Para mitigar estas limitaciones, se han implementado estrategias de ingeniería enzimática guiada por estructura, orientadas a mejorar la especificidad de enzimas como la taxadieno sintasa y reducir la generación de compuestos no deseados (Tan et al., 2026a).

Una de las aproximaciones más prometedoras es la vía enriquecida con isopentenol, conocida como IUP, la cual permite la generación ortogonal de precursores isoprenoides, como IPP y DMAPP. Esta estrategia desacopla parcialmente la biosíntesis de paclitaxel del metabolismo central del huésped, por ejemplo, en *Saccharomyces cerevisiae*, lo que facilita la optimización del proceso y reduce la competencia por recursos celulares. Además, al requerir menos pasos metabólicos y cofactores, la IUP puede favorecer la viabilidad celular y mejorar la eficiencia global de producción, superando algunas de las restricciones asociadas con las rutas convencionales MVA y MEP (Ward et al., 2019).

En conjunto, los antecedentes estructurales, sintéticos y biotecnológicos del paclitaxel evidencian la complejidad de esta molécula y la necesidad de enfoques integrados para su

producción sostenible. La transición desde la extracción natural y la semisíntesis hacia plataformas basadas en genómica, biología sintética e ingeniería metabólica representa una oportunidad clave para mejorar el acceso a este fármaco y ampliar el desarrollo de nuevos taxanos con potencial terapéutico.

5.3 ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Los estudios de relación estructura-actividad (*structure–activity relationship*, SAR) han demostrado que la cadena lateral ubicada en C-13 desempeña un papel determinante en las propiedades terapéuticas del Taxol®. Esta región estructural es esencial para la interacción del compuesto con su diana biológica y, por tanto, para su actividad antitumoral. La potente actividad anticancerígena del Taxol frente a células de carcinoma KB fue reportada inicialmente en 1964, hallazgo que impulsó investigaciones posteriores orientadas a comprender su mecanismo de acción y su potencial clínico (Bruňáková et al., 2026).

El principal mecanismo de acción del Taxol consiste en la inhibición de la progresión del ciclo celular durante la fase M. Este efecto se debe a su unión directa, específica y reversible a la β-tubulina, lo que estabiliza los microtúbulos e impide su despolimerización dinámica. Como consecuencia, se altera la organización normal del huso mitótico, se bloquea la división celular y se desencadenan procesos de muerte celular programada. Además de su efecto antimitótico, el Taxol puede interferir en diversas vías de señalización celular relacionadas con proliferación, supervivencia y apoptosis, lo que contribuye a su actividad farmacológica global (Chavez et al., 2019).

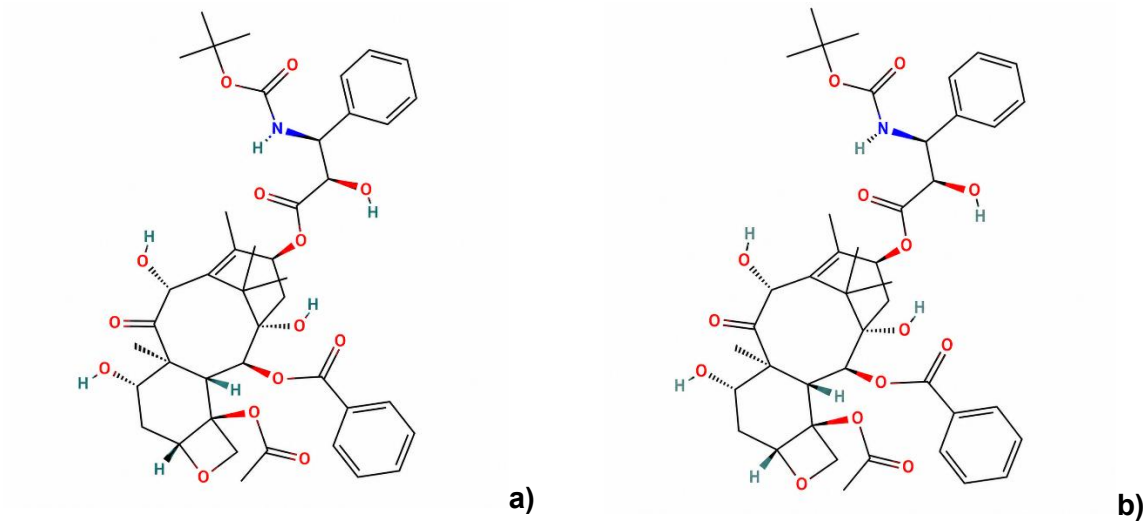
En la actualidad, el Taxol se encuentra entre los fármacos taxanos más ampliamente utilizados en oncología. Ha sido empleado en el tratamiento de diferentes tipos de cáncer, incluidos cáncer de mama, pulmón, próstata, vejiga, esófago y gástrico. Su eficacia clínica

está particularmente bien establecida en cáncer de mama, donde se utiliza tanto en tumores primarios como metastásicos y en distintos subtipos moleculares de la enfermedad (Scribano et al., 2021).

No obstante, a pesar de su relevancia terapéutica, el uso clínico del Taxol presenta limitaciones importantes. Entre ellas destacan su baja solubilidad acuosa, la aparición de resistencia farmacológica y la toxicidad sistémica dependiente de la dosis. Estas desventajas han motivado el desarrollo de nuevos derivados taxanos y formulaciones alternativas orientadas a mejorar su eficacia, biodisponibilidad y perfil de seguridad (Singla et al., 2002).

En este contexto, se han desarrollado diversos análogos y formulaciones de segunda generación. En 1996, Taxotere® —docetaxel, 2, Figura 4(a)—, un análogo semisintético del paclitaxel, fue aprobado por la FDA para el tratamiento de pacientes con cáncer de mama avanzado. Posteriormente, en 2010, Jevtana® —cabazitaxel, 3, Figura 4(b)— fue aprobado por la FDA en combinación con prednisona para el tratamiento del cáncer de próstata metastásico. De igual manera, Abraxane®, una formulación de paclitaxel unido a albúmina en nanopartículas con un tamaño promedio aproximado de 130 nm, fue aprobado por la FDA en 2005 debido a su mayor eficacia y perfil de seguridad en comparación con Taxol® en el tratamiento del cáncer de mama metastásico en humanos (Min et al., 2023).

En conjunto, estos avances evidencian que el paclitaxel no solo constituye un agente antineoplásico de referencia, sino también una plataforma estructural clave para el desarrollo de nuevos taxanos y sistemas de administración dirigidos. La optimización de sus derivados y formulaciones continúa siendo una estrategia fundamental para superar sus limitaciones farmacocinéticas y mejorar su desempeño terapéutico en distintos contextos oncológicos.



a) b)

Figura 4. a) Docetaxel (PubChem, s.f.); b) Cabazitaxe (PubChem, s.f.)

Un ensayo clínico clave en el tratamiento del adenocarcinoma ductal pancreático metastásico demostró que la combinación de Abraxane® con gemcitabina incrementa significativamente la tasa de respuesta en comparación con la monoterapia con gemcitabina (Hsu et al., 2022). Este resultado evidenció el valor terapéutico de las formulaciones nanoestructuradas de paclitaxel en esquemas combinados y consolidó el interés por el desarrollo de nuevos taxanos con propiedades farmacológicas mejoradas. En la actualidad, diversos análogos de Taxol® se encuentran en diferentes fases de evaluación clínica, mientras que nuevas generaciones de taxanos continúan siendo diseñadas con el objetivo de superar limitaciones asociadas con solubilidad, toxicidad, resistencia farmacológica y selectividad tumoral.

Datos clínicos y preclínicos recientes han demostrado que el paclitaxel, especialmente en formulaciones avanzadas como las nanopartículas unidas a albúmina, puede mejorar la biodistribución tumoral y favorecer la penetración intratumoral. Estas propiedades se traducen en una mayor eficacia terapéutica y en una reducción de los efectos adversos asociados con los vehículos convencionales, como Cremophor EL. En este sentido, las formulaciones basadas en albúmina representan una estrategia relevante para optimizar la administración del fármaco y mejorar su perfil farmacocinético y farmacodinámico.

Con el propósito de optimizar la liberación de paclitaxel en el microambiente tumoral, Tan et al., 2026desarrollaron un sistema multietapa basado en nanovectores sólidos para la administración de nanopartículas de paclitaxel unidas a albúmina (*nab*-paclitaxel). Esta formulación mostró una interacción eficiente con macrófagos hepáticos y mejoró de manera significativa la persistencia y la eficacia terapéutica en modelos murinos de metástasis pulmonares, hepáticas y mamarias. Además, se observó un incremento selectivo en la acumulación de paclitaxel y de los nanovectores en el hígado, particularmente en macrófagos, sin modificar las concentraciones plasmáticas del fármaco en comparación con la administración estándar de *nab*-paclitaxel (Sharifi-Rad et al., 2021; Tan et al., 2026).

De manera más reciente, se ha descrito que nanopartículas de paclitaxel formuladas con péptidos recombinantes, similares a *nab*-paclitaxel, presentan una ventana terapéutica ampliada y una eficacia superior en diversos modelos tumorales murinos (Saha et al., 2024). Asimismo, estudios contemporáneos destacan el potencial del paclitaxel en regímenes combinados con terapias dirigidas e inmunoterapias. En estos contextos, el paclitaxel no solo actúa como agente citotóxico, sino que también puede modular el microambiente tumoral y favorecer la respuesta inmunitaria antitumoral. Estos avances han reforzado su relevancia como componente de esquemas terapéuticos de primera línea y han ampliado sus aplicaciones dentro de la oncología de precisión (Saha et al., 2024;L. Zhang et al., 2023).

5.4 PRODUCCIÓN DE TAXOL

HHistóricamente, el Taxol® —paclitaxel— se obtenía mediante extracción directa de la corteza del tejo del Pacífico (Taxus brevifolia). Sin embargo, este método presentaba un rendimiento extremadamente bajo, cercano al 0,007 %, y requería la tala de grandes cantidades de árboles de crecimiento lento, lo que generaba importantes limitaciones

ambientales, económicas y de sostenibilidad. Estas restricciones impulsaron el desarrollo de estrategias alternativas capaces de garantizar el suministro del fármaco a escala industrial.

En la actualidad, la demanda mundial de paclitaxel se satisface principalmente mediante dos enfoques: la semisíntesis química y la producción biotecnológica basada en cultivos celulares vegetales. La semisíntesis química, conocida como método Holton–Ojima, constituye una de las estrategias comerciales más extendidas. Este proceso se basa en la obtención de 10-desacetilbaccatina III, un precursor natural que puede extraerse de manera más sostenible a partir de acículas y ramas del tejo europeo (*Taxus baccata*), consideradas fuentes renovables en comparación con la corteza. Posteriormente, este intermediario se transforma en 7-TES-baccatina III y se acopla con una β-lactama ópticamente activa derivada de la cadena lateral de fenilisoserina, lo que permite la obtención de paclitaxel con rendimientos globales superiores a los alcanzados por la extracción directa.

De forma complementaria, la fermentación de células vegetales representa una plataforma biotecnológica relevante para la producción sostenible de paclitaxel. Esta estrategia se basa en el cultivo in vitro de células de Taxus bajo condiciones controladas, lo que permite generar el metabolito sin recurrir a la explotación de árboles silvestres. Además, ofrece ventajas asociadas con la estandarización del proceso, la reducción del impacto ambiental y la posibilidad de optimizar la productividad mediante la selección de líneas celulares, el uso de elicitores y el control de las condiciones de cultivo.

Aunque la síntesis total de Taxol a partir de compuestos químicos simples ha constituido un avance significativo en la química orgánica desde la década de 1990, su aplicación industrial sigue siendo limitada. Rutas sintéticas desarrolladas por grupos como los de Nicolaou, Holton, Kuwajima, Mukaiyama y Baran han demostrado la viabilidad química de

construir la molécula completa; no obstante, la elevada complejidad estructural del núcleo taxano tetracíclico altamente oxigenado, la presencia de múltiples centros quirales y la necesidad de numerosas etapas de reacción hacen que estas aproximaciones sean poco prácticas para la producción a gran escala. Por ello, la síntesis total continúa siendo principalmente una herramienta de investigación académica, útil para comprender la relación estructura-actividad del paclitaxel y para el diseño de nuevos análogos taxanos (Min et al., 2023c).

En conjunto, la evolución de los métodos de producción de paclitaxel refleja la transición desde estrategias extractivas ambientalmente restrictivas hacia plataformas más sostenibles y controladas. La semisíntesis continúa siendo una vía industrial dominante, mientras que los cultivos celulares vegetales y otras aproximaciones biotecnológicas emergentes ofrecen oportunidades prometedoras para mejorar la disponibilidad, reducir costos y disminuir la dependencia de fuentes vegetales naturales.

5.5 BIOSÍNTESIS DE PACLITAXEL

La biosíntesis del paclitaxel constituye una de las rutas metabólicas más complejas descritas en plantas superiores. Hasta el momento, se ha propuesto una vía compuesta por al menos 19 pasos catalíticos, en la que participan más de quince enzimas. Esta ruta incluye, como mínimo, nueve reacciones de oxidación mediadas principalmente por monooxigenasas del citocromo P450 y cinco modificaciones de acilación catalizadas por aciltransferasas (Martinelli et al., 2025).

De manera general, la biosíntesis del paclitaxel puede dividirse en tres etapas principales: i) formación de taxadieno-5α-ol a partir de pirofosfato de geranilgeranilo (GGPP); ii) conversión de taxadieno-5α-ol en baccatina III; y iii) unión de una cadena lateral de

fenilisoserina a la baccatina III para producir paclitaxel. Las enzimas involucradas en las etapas I y III han sido ampliamente caracterizadas. Sin embargo, durante varios años persistieron vacíos importantes en la etapa II, especialmente en los pasos relacionados con la formación del anillo de oxetano y la hidroxilación en C9, procesos considerados esenciales para la formación de intermediarios avanzados de la ruta (Jiang et al., 2024b).

La vía biosintética se inicia con el precursor diterpenoide pirofosfato de geranilgeranilo (GGPP), el cual es ciclizado por la taxadieno sintasa (TS) para formar taxadieno, considerado el esqueleto diterpénico central del Taxol®. Posteriormente, el taxadieno es hidroxilado por una monooxigenasa del citocromo P450, denominada taxadieno 5α-hidroxilasa (T5αH), para generar taxadieno-5α-ol. Este intermediario se considera uno de los primeros precursores comprometidos en la biosíntesis del paclitaxel. Además, su éster de acetato puede ser transformado por microsomas de Taxus para producir derivados polioxidados, lo que evidencia la participación de múltiples enzimas oxidativas en las etapas tempranas de la ruta (Liu et al., 2024).

A partir de estos intermediarios iniciales, el núcleo taxano experimenta una serie de hidroxilaciones, acilaciones y reordenamientos estructurales que conducen progresivamente a la formación de baccatina III. En esta etapa participan diversas hidroxilasas de taxoides y enzimas aciltransferasas, entre ellas la 10-desacetilbaccatina III-10-*O*-acetiltransferasa (DBAT), responsable de una modificación clave en la formación de intermediarios avanzados. Posteriormente, la cadena lateral en C13 es ensamblada y transferida a la baccatina III mediante la baccatina III 13-*O*-(3-amino-3-fenilpropanoil) transferasa (BAPT), generando precursores directos del paclitaxel. Finalmente, la 3′-*N*-desbenzoil-2′-desoxitaxol *N*-benzoiltransferasa (DBTNBT) cataliza una etapa decisiva en la conversión de 3′-*N*-desbenzoil-2′-desoxitaxol hacia paclitaxel.

Un avance reciente de gran relevancia fue la identificación de enzimas previamente desconocidas dentro de la ruta metabólica, entre ellas la taxano oxetanasa (TOT) y la taxano-9α-hidroxilasa (T9αOH). Estas enzimas participan en procesos fundamentales para la formación del anillo de oxetano y la funcionalización en C9, respectivamente. Su caracterización permitió avanzar en la reconstrucción funcional de la ruta y posibilitó la síntesis de baccatina III en *Nicotiana benthamiana*, lo que representa un paso importante hacia la producción heteróloga de intermediarios avanzados del paclitaxel (Jiang et al., 2024).

Para validar experimentalmente la actividad de las enzimas candidatas en cada etapa de la vía, diversos grupos de investigación han empleado sistemas heterólogos de expresión. Entre ellos, *Nicotiana benthamiana* ha sido ampliamente utilizada como plataforma vegetal de expresión transitoria, debido a su capacidad para expresar genes foráneos de manera rápida y producir metabolitos detectables en condiciones controladas. De forma complementaria, *Saccharomyces cerevisiae* ha sido utilizada para la reconstitución de pasos específicos de la ruta, especialmente aquellos relacionados con las etapas finales y la producción de paclitaxel a partir de baccatina III.

En conjunto, estos sistemas heterólogos han sido fundamentales para confirmar la función de enzimas recientemente descubiertas, validar pasos clave de las etapas II y III, y avanzar hacia la reconstrucción parcial de la ruta biosintética del paclitaxel fuera de su organismo productor natural. Estos progresos constituyen una base esencial para el desarrollo de plataformas biotecnológicas más sostenibles, basadas en ingeniería metabólica, biología sintética y minería genómica, orientadas a mejorar la producción de paclitaxel y de sus intermediarios de alto valor farmacológico (Zhao et al., 2024; Liang et al., 2025; McClune et al., 2025).

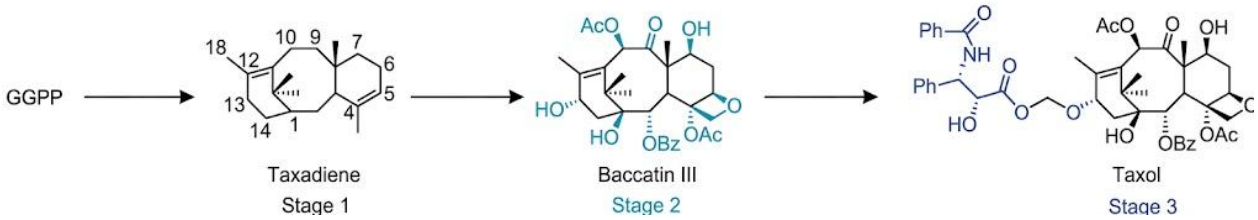


Figura 6. Esquema de la ruta biosintética del paclitaxel (Taxol) a partir de geranilgeranil pirofosfato (GGPP) (Zhu et al., 2025).

5.5.1 Etapa I: Ciclación inicial y primera oxidación

El punto de partida de la biosíntesis del paclitaxel corresponde a la ciclación del pirofosfato de geranilgeranilo (GGPP), reacción catalizada por la taxadieno sintasa (TXS). Esta enzima convierte el GGPP en taxa-4(5),11(12)-dieno —molécula 1 en la Figura 6—, considerado el primer intermediario comprometido de la ruta biosintética de los taxanos.

Posteriormente, el taxa-4(5),11(12)-dieno es oxidado por CYP725A4, también denominada taxadieno-5α-hidroxilasa (T5αH). Esta monooxigenasa del citocromo P450 cataliza una reacción de hidroxilación acompañada de transposición alílica, generando taxadieno-5α-ol como intermediario esperado. No obstante, aunque T5αH fue propuesta como la primera oxidasa de la ruta, su actividad catalítica presenta una marcada promiscuidad, ya que produce principalmente subproductos derivados de transposiciones en el esqueleto carbonado en lugar de acumular de forma predominante taxadieno-5α-ol.

Esta baja selectividad catalítica ha representado una limitación importante para la reconstrucción heteróloga de la vía biosintética del paclitaxel. En particular, la formación de productos secundarios reduce el flujo metabólico hacia los intermediarios funcionalizados requeridos para la biosíntesis de baccatina III y, en consecuencia, dificulta el diseño de

plataformas microbianas o vegetales eficientes para la producción de taxanos avanzados (McClune et al., 2025).

5.5.2 Etapa II: Construcción del núcleo de la baccatina III, pasos corregidos y descubrimientos recientes

La segunda etapa de la biosíntesis del paclitaxel comprende la construcción progresiva del núcleo de baccatina III, un proceso altamente complejo que involucra una cascada de hidroxilaciones, acetilaciones, oxidaciones especializadas y la formación del anillo de oxetano en la estructura del taxano. Esta etapa representa uno de los segmentos más críticos de la vía metabólica, debido a que define la funcionalización del núcleo taxano y condiciona la posterior incorporación de la cadena lateral en C13.

Las enzimas de la familia CYP725A desempeñan un papel central en las oxidaciones del esqueleto taxano, particularmente en las posiciones C-1, C-2, C-7, C-9, C-10 y C-13. Sin embargo, la asignación funcional de varias de estas monooxigenasas ha sido revisada y corregida en estudios recientes. Un ejemplo relevante corresponde al orden de la segunda y tercera reacciones de hidroxilación, cuya secuencia ha sido redefinida como un punto crítico para dirigir el flujo metabólico hacia intermediarios productivos. Asimismo, se ha identificado una taxoide-9α-hidroxilasa responsable de catalizar la cuarta hidroxilación de la ruta, resolviendo uno de los pasos previamente desconocidos en la formación del núcleo funcionalizado de baccatina III. Además, CYP725A55 ha sido propuesta como una enzima clave en la formación del motivo oxetano, mediante una cascada de oxidación seguida de un reordenamiento acílico concertado McClune et al., 2025).

Durante décadas, la formación del anillo de oxetano constituyó uno de los principales enigmas de la biosíntesis del paclitaxel. La hipótesis clásica propuesta por Croteau et al.

(Croteau et al., 2006), planteaba que este anillo se originaba a partir del grupo ene-acetoxi del taxa-4(20),11(12)-dieno-5α-il-acetato, tras la acetilación previa del taxadieno-5α-ol. No obstante, investigaciones recientes han modificado sustancialmente este modelo. En particular, se ha demostrado que la formación del anillo de oxetano ocurre mediante reacciones oxidativas catalizadas por enzimas del citocromo P450 antes de la acetilación en C5, lo que revierte la interpretación clásica de la secuencia biosintética. Además, se ha propuesto que una sola enzima, CYP725A4, puede catalizar dos epoxidaciones sucesivas que conducen a la formación del anillo de oxetano, proporcionando una explicación mecanística más precisa para este paso clave de la ruta (Zhao et al., 2024; (McClune et al., 2025).

Otro avance significativo ha sido la identificación de la proteína FoTO1, perteneciente a la familia de proteínas tipo factor de transporte nuclear 2 (NTF2), como un regulador funcional de la primera oxidación de la ruta. La coexpresión de FoTO1 con T5αH favorece la formación del intermediario deseado y reduce la acumulación de subproductos derivados de reordenamientos no productivos del esqueleto carbonado. Este hallazgo resuelve una limitación de larga data en la reconstrucción heteróloga de la vía del paclitaxel, ya que la baja selectividad de T5αH había dificultado la canalización eficiente del flujo metabólico hacia intermediarios avanzados. La relevancia de FoTO1 radica, además, en que constituye una función biosintética directa no descrita previamente para proteínas de tipo NTF2, ampliando así el conocimiento sobre los factores auxiliares que pueden modular la eficiencia de rutas metabólicas complejas (Zhao et al., 2024).

En conjunto, estos descubrimientos han permitido corregir modelos biosintéticos previos y redefinir pasos clave en la formación de baccatina III. La identificación de nuevas monooxigenasas, la revisión del orden de hidroxilaciones y la participación de factores auxiliares como FoTO1 proporcionan una base más sólida para la reconstrucción de la vía en

sistemas heterólogos. Además, estos avances fortalecen las estrategias de ingeniería metabólica orientadas a aumentar el rendimiento, reducir la formación de subproductos y facilitar la producción sostenible de intermediarios avanzados del paclitaxel.

5.5.3 Etapa III: Ensamblaje de la cadena lateral

La tercera etapa de la biosíntesis del paclitaxel corresponde al ensamblaje y modificación final de la cadena lateral en C13, un proceso determinante para la actividad antitumoral del Taxol®. La cadena lateral de N-benzoil-3-fenilisoserina unida al carbono C13 es esencial para que la molécula adopte la conformación bioactiva requerida para su unión eficiente a la β-tubulina. En ausencia de esta cadena lateral, el núcleo taxano pierde gran parte de su capacidad para estabilizar los microtúbulos e inducir apoptosis en células tumorales. En particular, las modificaciones finales de la cadena lateral, correspondientes a la hidroxilación en C2′α y la 3′-N-benzoilación, son indispensables para la bioactividad del paclitaxel (McClune et al., 2025).

La secuencia biosintética de esta etapa se inicia con la conversión de α-fenilalanina en β-fenilalanina, reacción catalizada por la fenilalanina aminomutasa (PAM). Posteriormente, la β-fenilalanina debe ser activada como tioéster de CoA para permitir su transferencia al núcleo de baccatina III mediante la baccatina III 13-O-(3-amino-3-fenilpropanoil) transferasa (BAPT). Durante años, este paso de activación fue atribuido a dos enzimas activadoras de acilo de Taxus, previamente descritas como β-fenilalanina-CoA ligasas (PCL). Sin embargo, al ser coexpresadas con PAM y BAPT en sistemas de reconstitución, estas enzimas no produjeron el intermediario esperado, N-desbenzoil-2′-desoxitaxol, lo que indicó que la PCL nativa funcional de *Taxus* permanecía sin identificar (McClune et al., 2024).

El análisis de módulos de coexpresión asociados con la biosíntesis de Taxol permitió identificar un nuevo candidato, denominado AAE-867.5. La coexpresión de AAE-867.5 con PAM y BAPT posibilitó la conversión de baccatina III exógena en el intermediario esperado, N-desbenzoil-2′-desoxitaxol. Este hallazgo representa un avance significativo, ya que constituye la primera producción biosintética del precursor tardío N-desbenzoil-2′-desoxitaxol mediante la reconstrucción funcional de este segmento de la vía (Zhao et al., 2024).

Una vez incorporada la cadena lateral a la baccatina III, se requieren dos modificaciones finales para completar la biosíntesis del paclitaxel. La primera corresponde a la hidroxilación en C2′α. Durante décadas, por analogía con otras reacciones oxidativas de la ruta, se asumió que esta transformación era catalizada por una monooxigenasa del citocromo P450, denominada taxoide-2′α-hidroxilasa (T2′αH). No obstante, una búsqueda sistemática entre los CYP candidatos, incluidos aquellos previamente descritos como diferencialmente expresados en células productoras de Taxol, demostró que ninguno era capaz de generar N-desbenzoil-taxol. Este resultado indicó que la enzima responsable de la hidroxilación C2′α no pertenecía a la familia del citocromo P450 (Zhao et al., 2024; Liang et al., 2025).

En contraste, estudios recientes identificaron a T2′OGD, una 2-oxoglutarato-dioxigenasa dependiente de hierro Fe(II)/2-OG, como la enzima responsable de esta reacción. T2′OGD cataliza la hidroxilación estereoselectiva en C2′α del intermediario N-desbenzoil-2′-desoxitaxol para producir N-desbenzoil-taxol. Esta modificación es esencial para la conformación bioactiva del paclitaxel, ya que la ausencia del grupo hidroxilo en C2′ reduce de forma drástica la afinidad de unión a la β-tubulina y compromete prácticamente por completo su eficacia anticancerígena (McClune et al., 2025).

La segunda modificación final, correspondiente a la última reacción de la vía biosintética, es la 3′-*N*-benzoilación. Históricamente, esta etapa fue atribuida a DBTNBT, una N-desbenzoil-2′-desoxitaxol-*N*-benzoiltransferasa caracterizada previamente por el grupo de Croteau. Sin embargo, al validar su actividad en sistemas de reconstitución que producen N-desbenzoil-taxol, el sustrato correcto en el contexto de la vía completa, solo se detectaron cantidades mínimas de paclitaxel, indistinguibles del ruido de fondo. Además, niveles similares de paclitaxel fueron observados incluso en ausencia de DBTNBT, lo que sugiere que el producto detectado podría originarse por enzimas endógenas del sistema vegetal utilizado y no por la actividad específica de DBTNBT (McClune et al., 2025).

El análisis sistemático de otros candidatos permitió identificar a T3′NBT, una taxoide-3′-*N*-benzoiltransferasa, como la verdadera benzoiltransferasa terminal de la ruta. T3′NBT mostró una elevada eficiencia catalítica, convirtiendo aproximadamente el 75 % del sustrato disponible en paclitaxel y generando concentraciones cerca de 280 veces superiores a las obtenidas en presencia de DBTNBT. Estos resultados confirman que T3′NBT es la enzima preferente para la 3′-*N*-benzoilación de taxoides y que esta reacción constituye el paso final en la biosíntesis de Taxol® (McClune et al., 2025).

En conjunto, la elucidación de la etapa III representa uno de los avances más importantes en la comprensión de la biosíntesis del paclitaxel. La identificación de AAE-867.5 como la PCL funcional nativa, la reasignación de la hidroxilación C2′α desde un citocromo P450 hacia la dioxigenasa T2′OGD y la sustitución de DBTNBT por T3′NBT como la benzoiltransferasa final han permitido completar pasos críticos de la ruta. Estos descubrimientos cierran brechas fundamentales mantenidas durante más de medio siglo de investigación y proporcionan una base sólida para la reconstrucción heteróloga, la ingeniería metabólica y la producción sostenible de paclitaxel y derivados taxanos de alto valor farmacológico (Liang et al., 2025; McClune et al., 2025).

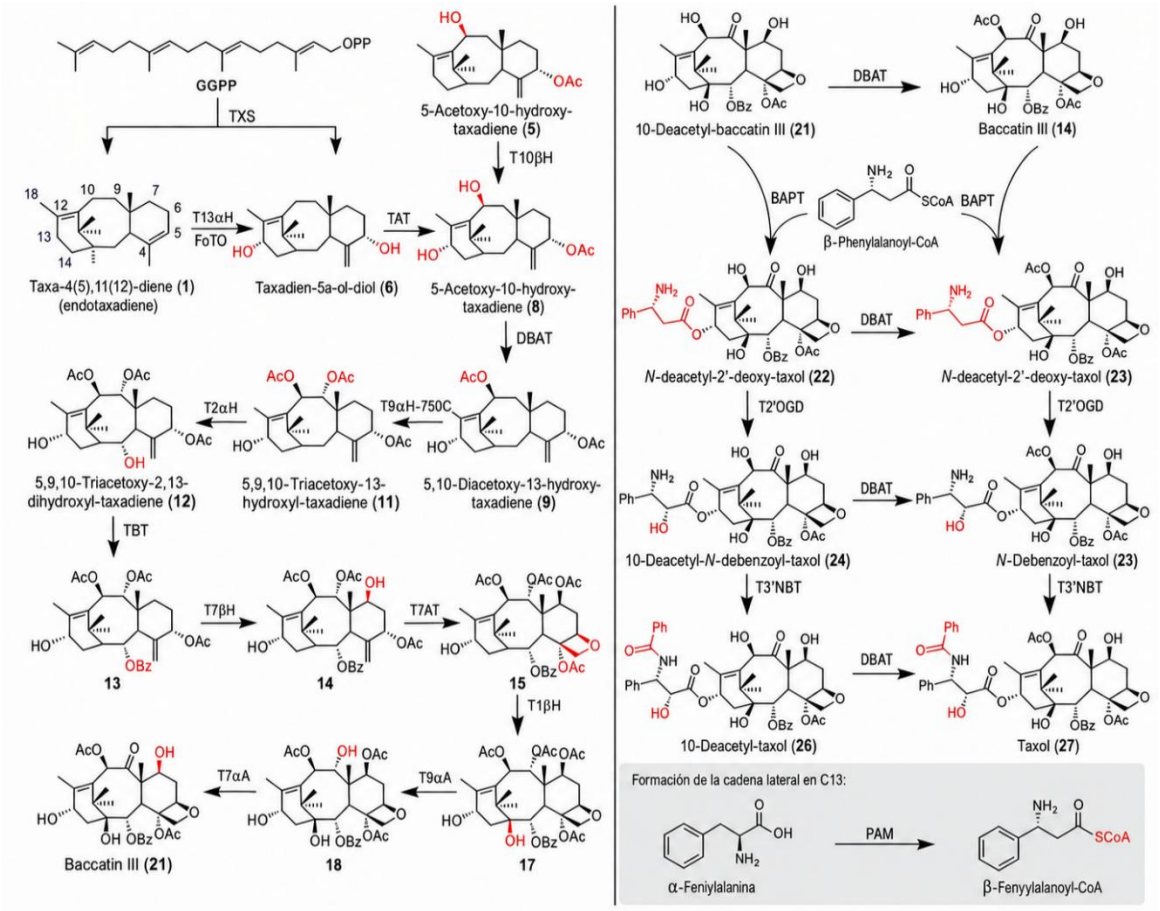


Figura 7. Ruta biosintética completa del Paclitaxel (Taxol): desde el GGPP hasta la Baccatin III y su posterior conversión al Taxol (Zhu et al., 2025).

Tabla 1. Comparación de las asignaciones enzimáticas históricas y actuales en la biosíntesis del paclitaxel.

Etapa / Paso	Proceso	Antes (enzima propuesta / hipótesis)	Ahora (enzima correcta / descubrimiento)
Etapa I **Formación del esqueleto taxano**	Primera oxidación (taxadieno → taxadieno-5α-ol)	T5αH producía el intermediario esperado directamente	Se descubre que genera muchos subproductos; FoTO1 regula y dirige la reacción correctamente (McClune et al., 2025).
Etapa II **Construcción de baccatina III**	Hidroxilaciones del núcleo taxano	Asignaciones incompletas o incorrectas de CYP725A	Corrección de funciones específicas; identificación de nuevas T9αH y reorganización del orden de pasos (Liang et al., 2025a)
	Formación del anillo de oxetano	Se pensaba que ocurría después de la acetilación (modelo clásico)	Se demuestra que ocurre antes y vía oxidaciones por P450; participación de CYP725A4 en epoxidaciones sucesivas (McClune et al., 2025).
	Organización metabólica	No se consideraban proteínas auxiliares	Descubrimiento de FoTO1, que mejora eficiencia y reduce subproductos (Zhao et al., 2024; Liang et al., 2025).

	Orden de hidroxilaciones en C2 / C7 / C10 / C13	T10OH / T13OH con orden de reacción no determinado	**Orden confirmado; CYP725A55 cataliza la formación del éster del oxetano por oxidación en cascada** (Liang et al., 2025a).
Etapa III	Activación de β-fenilalanina	Dos enzimas AAE propuestas como PCL (ninguna funcionó al reconstituir la ruta)	Identificación de AAE-867.5 como la verdadera PCL funcional (Liang et al., 2025a).
	Hidroxilación C2′α	Atribuida a un citocromo P450 (T2′αH)	Enzima correcta: T2′OGD (dioxigenasa Fe(II)/2-OG) (280 x mas eficiente que DBTNBT; produce Taxol de forma inequívoca) (McClune et al., 2025).
	3′-N-benzoilación final	DBTNBT considerada enzima final	Se demuestra que era incorrecta → enzima real: T3′NBT (McClune et al., 2025).
	Producción del producto final	Ruta no reconstituida de forma completa en sistema heterólogo	Ruta cerrada con identificación correcta de todas las enzimas clave en levadura por primera vez

5.6 MINERÍA GENÉTICA EN LA BIOSINTESIS DEL PACLITAXEL

La minería genética aplicada a la biosíntesis del paclitaxel tiene como propósito identificar, caracterizar y organizar los genes que codifican las enzimas responsables de cada transformación química dentro de esta compleja vía metabólica. Debido a que la biosíntesis del paclitaxel comprende múltiples pasos enzimáticos altamente específicos, su elucidación completa ha requerido la integración de herramientas genómicas, transcriptómicas, metabolómicas y bioinformáticas. En este contexto, la minería genética ha permitido transitar desde una comprensión parcial, basada principalmente en intermediarios químicos, hacia una reconstrucción más detallada de la secuencia biosintética a nivel molecular (S. Zhang et al., 2023b;Liu et al., 2024).

Una de las principales contribuciones de la minería genética ha sido la identificación sistemática de genes implicados en la formación y funcionalización del núcleo taxano. El análisis del genoma de especies de *Taxus* ha permitido reconocer familias génicas extensas, entre ellas las monooxigenasas del citocromo P450, particularmente la familia CYP725A, responsables de varias reacciones de oxidación necesarias para transformar intermediarios derivados del pirofosfato de geranilgeranilo en taxanos progresivamente más funcionalizados. Esta información ha sido esencial para asignar funciones enzimáticas específicas a etapas concretas de la ruta biosintética y para corregir modelos previamente propuestos (Xiong et al., 2021).

De manera complementaria, los estudios transcriptómicos han permitido correlacionar los patrones de expresión génica con etapas específicas de la biosíntesis del paclitaxel. El análisis de cultivos de *Taxus* bajo condiciones que favorecen la acumulación de taxanos ha facilitado la identificación de genes inducidos de forma coordinada durante la formación de

intermediarios clave. Este enfoque ha resultado especialmente útil para detectar enzimas involucradas en pasos previamente desconocidos, incluida la conversión de taxadieno hacia baccatina III, considerada una de las fases más complejas y menos resueltas de la vía (Z. Zhao et al., 2023).

La integración de datos multiómicos ha sido particularmente relevante para cerrar vacíos en la ruta biosintética. Mediante análisis de coexpresión génica, perfiles metabolómicos y comparación funcional entre tejidos o líneas celulares productoras, se han identificado conjuntos de genes cuya actividad se correlaciona con la acumulación de intermediarios específicos del paclitaxel. Esta estrategia ha permitido priorizar genes candidatos, predecir funciones enzimáticas de proteínas no caracterizadas y asignarlas a pasos biosintéticos concretos, contribuyendo así a la reconstrucción progresiva de la vía completa (Wu Ying-Mei, 2022)

Un aspecto decisivo de la minería genética ha sido la identificación de genes asociados con pasos históricamente no resueltos, en particular aquellos relacionados con la formación del anillo de oxetano y las modificaciones finales de la cadena lateral de fenilisoserina. Estudios recientes basados en cribado genómico, coexpresión y validación funcional han permitido descubrir enzimas clave como T2′OGD y T3′NBT, responsables de transformaciones esenciales para la actividad biológica del paclitaxel. La identificación de estos genes ha permitido resolver etapas críticas de la ruta y completar, en gran medida, el mapa biosintético después de décadas de investigación (Zhu et al., 2025).

Además de su papel en la elucidación de la ruta, la minería genética proporciona una base indispensable para la ingeniería metabólica y la producción heteróloga de paclitaxel. La identificación de genes funcionales, su organización en módulos biosintéticos y la definición

del orden de las reacciones enzimáticas permiten transferir segmentos de la vía a sistemas alternativos, como *Nicotiana benthamiana*, *Saccharomyces cerevisiae* u otras plataformas biotecnológicas. De este modo, la minería genética no solo contribuye a comprender la biosíntesis del paclitaxel, sino que también permite diseñar estrategias dirigidas a aumentar el rendimiento, reducir la formación de subproductos y optimizar la producción sostenible de taxanos de interés farmacológico.

En conjunto, estos avances posicionan a la minería genética como una herramienta central para descifrar y aprovechar la biosíntesis del paclitaxel. Su integración con la bioinformática, la biología sintética y la ingeniería metabólica abre nuevas posibilidades para el desarrollo de plataformas de producción más eficientes, sostenibles y adaptables a la generación de paclitaxel y de nuevos derivados taxanos con potencial terapéutico.

5.7 IDENTIFICACIÓN Y VALIDACIÓN DE GENES CLAVE EN LA BIOSÍNTESIS DEL PACLITAXEL

La identificación de los genes implicados en la biosíntesis del paclitaxel representa un desafío considerable debido a la complejidad de esta vía metabólica, la diversidad de transformaciones químicas involucradas y la elevada redundancia funcional del genoma de *Taxus*. A diferencia de otros sistemas biosintéticos más simples o mejor caracterizados, la producción de paclitaxel depende de numerosas familias génicas, en particular monooxigenasas del citocromo P450, aciltransferasas, ligasas y enzimas auxiliares. La alta similitud de secuencia entre muchos de estos genes dificulta la asignación directa de funciones individuales, por lo que se requieren estrategias integradas de minería genética, análisis transcriptómico, coexpresión génica y validación funcional en sistemas heterólogos (Xiong et al., 2021; S. Zhang et al., 2023a).

En la etapa inicial de la vía, el gen *TXS* —también denominado *TcTXS, TbTS o TxTS*, según la especie de *Taxus* estudiada— codifica la taxadieno sintasa, enzima responsable de la ciclación del pirofosfato de geranilgeranilo (GGPP) para formar taxa-4(5),11(12)-dieno. Esta reacción constituye el primer paso comprometido e irreversible hacia la biosíntesis de taxanos. TXS ha sido ampliamente caracterizado mediante clonación y expresión heteróloga en sistemas bacterianos y de levadura, donde la producción de taxadieno ha sido confirmada mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Por ello, se considera uno de los genes mejor validados dentro de la ruta biosintética del paclitaxel (Xiong et al., 2021).

La funcionalización progresiva del núcleo taxano está mediada principalmente por genes de la familia CYP725A, una subfamilia de citocromos P450 ampliamente expandida en el género *Taxus*. Entre los genes más estudiados se encuentran CYP725A4, asociado con la hidroxilación inicial del taxadieno para formar taxadieno-5α-ol, y CYP725A55, implicado en etapas avanzadas relacionadas con la formación del anillo de oxetano. Estos genes han sido identificados mediante enfoques genómicos y transcriptómicos, y su función ha sido evaluada mediante expresión heteróloga en sistemas como *Saccharomyces cerevisiae* y *Nicotiana benthamiana*, seguida de análisis metabolómicos para confirmar la formación de los intermediarios esperados (J. C.-T. Liu et al., 2024; Liu et al., 2024).

No obstante, la caracterización funcional de los miembros de la familia CYP725A continúa siendo compleja. La elevada homología entre estas enzimas puede conducir a actividades catalíticas parcialmente solapadas, formación de subproductos o asignaciones funcionales ambiguas. Esta situación ha representado una de las principales limitaciones para reconstruir con precisión el orden de las oxidaciones en la vía biosintética y para optimizar su transferencia a plataformas heterólogas (Xiong et al., 2021). Por esta razón, en este trabajo

se consideran principalmente aquellos genes cuya función ha sido validada experimentalmente, mientras que los candidatos identificados solo mediante análisis predictivos se interpretan con cautela (Xiong et al., 2021).

En las etapas finales, asociadas con el ensamblaje de la cadena lateral en C13, se han identificado genes con funciones más específicas y mejor definidas. El gen PAM, que codifica una fenilalanina aminomutasa, cataliza la conversión de α-fenilalanina en β-fenilalanina, precursor directo de la cadena lateral. Posteriormente, AAE-867.5, identificado mediante minería genética y análisis de coexpresión, codifica una ligasa de CoA responsable de activar la β-fenilalanina para su incorporación al núcleo taxano. A continuación, BAPT —baccatina III: aminofenilpropanoiltransferasa— cataliza la transferencia de la cadena lateral activada a la baccatina III, generando intermediarios avanzados de la vía.

Las modificaciones terminales requeridas para la formación del paclitaxel bioactivo dependen de genes recientemente identificados o reasignados. Entre ellos, T2′OGD codifica una dioxigenasa dependiente de Fe(II)/2-oxoglutarato responsable de la hidroxilación en C2′α, mientras que T3′NBT codifica la taxoide-3′-*N*-benzoiltransferasa encargada de la benzoilación final. Estas enzimas reemplazan asignaciones funcionales previas atribuidas a otros candidatos y han sido validadas mediante coexpresión en sistemas heterólogos y análisis por LC-MS/MS. Su identificación ha permitido resolver pasos críticos de la ruta y avanzar hacia una reconstrucción casi integral de la biosíntesis del paclitaxel (J. C.-T. Liu et al., 2024; Liu et al., 2024).

En conjunto, la identificación y validación de genes clave han transformado la comprensión de la biosíntesis del paclitaxel, al pasar de modelos parciales basados en inferencias químicas a una reconstrucción funcional sustentada en evidencia genómica, transcriptómica y

metabolómica. Aunque persisten desafíos relacionados con la asignación precisa de funciones en familias génicas altamente redundantes, los avances recientes —en particular la identificación de AAE-867.5, T2′OGD y T3′NBT— han resuelto etapas decisivas de la ruta. Estos hallazgos posicionan la biosíntesis del paclitaxel como uno de los sistemas más informativos para el estudio de metabolitos especializados en plantas y proporcionan una base sólida para su aprovechamiento mediante biología sintética, ingeniería metabólica y producción heteróloga de taxanos de interés farmacológico (Liu et al., 2024).

Tabla 2. Genes confirmados implicados en la biosíntesis del paclitaxel

Gen	Tipo de gen	Función en la biosíntesis	Etapa de la ruta	Evidencia de validación
TXS (TcTXS / TbTS)	Terpeno sintasa	Ciclación de GGPP a taxadieno	Inicio (formación del núcleo taxano)	Expresión en *E. coli* + GC-MS (J. C.-T. Liu et al., 2024; Liu et al., 2024).
CYP725A4	Citocromo P450	Hidroxilación del taxadieno (C5α)	Funcionalización temprana	Expresión en levadura y planta (Xiong et al., 2021).
CYP725A55	Citocromo P450	Formación del anillo de oxetano	Etapa intermedia-avanzada	Reconstrucción de la vía (J. C.-T. Liu et al., 2024; Liu et al., 2024).
PAM (TcPAM)	Aminomutasa	α-fenilalanina a β-fenilalanina	Inicio de cadena lateral	Ensayos enzimáticos

				(J. C.-T. Liu et al., 2024; Liu et al., 2024).
AAE-867.5	Ligasa tipo CoA	Activación de β-fenilalanina	Ensamblaje de cadena lateral	Minería genética + validación (Xiong et al., 2021).
BAPT (TcBAPT)	Aciltransferasa (BAHD)	Transferencia de cadena lateral a baccatina III	Etapa tardía	Expresión heteróloga (Xiong et al., 2021).
T2′OGD	Dioxigenasa (2-OG dependiente)	Hidroxilación en C2′	Modificación final	Coexpresión + LC-MS/MS (J. C.-T. Liu et al., 2024; Liu et al., 2024).
T3′NBT	Benzoyltransferasa	Benzolación final a paclitaxel	Último paso	Ensayos funcionales (Xiong et al., 2021).

5.8 ELIMINACIÓN/REDUCCIÓN DE EFECTORES NEGATIVOS MEDIANTE CRISPR Y ARN DE INTERFERENCIA

La optimización de la biosíntesis de taxanos en huéspedes heterólogos requiere una redistribución precisa del flujo metabólico hacia los intermediarios de interés. Una estrategia clave consiste en eliminar, reducir o modular efectores negativos, incluidas rutas metabólicas competidoras que consumen precursores comunes como el farnesil pirofosfato (FPP) o el geranilgeranil pirofosfato (GGPP). Estas intervenciones permiten aumentar la disponibilidad de bloques isoprenoides y favorecer la canalización del carbono hacia la producción de taxadieno, baccatina III y otros intermediarios avanzados de la ruta del paclitaxel (Tan et al., 2026).

En este contexto, la tecnología CRISPR se ha consolidado como una herramienta fundamental para el control racional del flujo metabólico mediante la inactivación, represión o edición dirigida de genes específicos. Por ejemplo, en *Saccharomyces cerevisiae*, la manipulación del gen ERG9, que codifica la escualeno sintasa, ha permitido redirigir precursores isoprenoides desde la biosíntesis de esteroles hacia la producción de taxadieno, duplicando su rendimiento. De manera complementaria, se han implementado estrategias de optimización transcripcional, como el uso de promotores débiles para modular la expresión de ERG9, combinadas con enfoques *push–pull* orientados a incrementar la entrada de precursores y favorecer su conversión hacia taxanos. Estas aproximaciones han generado aumentos sinérgicos en el flujo metabólico hacia taxadieno (Tan et al., 2026).

Asimismo, la metilación dirigida del ADN mediada por sistemas CRISPR ha demostrado ser eficaz en plataformas vegetales, particularmente en células de *Taxus chinensis*. En este sistema, la inhibición parcial (*knockdown*) de la fenilalanina amoníaco-liasa (PAL), enzima que cataliza el paso inicial de la vía de los fenilpropanoides, redirigió derivados de fenilalanina hacia la síntesis de la cadena lateral del paclitaxel. Como resultado, se reportó un incremento de 25 veces en la acumulación final del fármaco. Este tipo de control metabólico puede potenciarse mediante el uso de inhibidores químicos y la adición de precursores externos, estrategias que favorecen la disponibilidad de sustratos y mejoran la eficiencia global del proceso biosintético (Tan et al., 2026).

De forma complementaria, la regulación mediante ARN de interferencia (ARNi) y microARN permite modular la expresión génica sin necesidad de eliminar por completo genes esenciales para el metabolismo celular. En *Taxus mairei*, el módulo regulador miR858b–MYB1L participa en el control de genes relacionados con la biosíntesis de taxanos. El microARN miR858b regula al factor de transcripción MYB1L, el cual influye en la expresión

de genes clave como TBT y BAPT. Esta regulación fina permite ajustar la producción de intermediarios según el estado metabólico del tejido y optimizar la biosíntesis de paclitaxel sin comprometer de manera severa la viabilidad celular (Tan et al., 2026).

En conjunto, las estrategias basadas en CRISPR, ARNi y módulos reguladores endógenos ofrecen herramientas complementarias para superar las limitaciones de rendimiento impuestas por la competencia metabólica, la acumulación de subproductos y la regulación natural de las rutas biosintéticas. Su aplicación integrada permite redirigir precursores, modular puntos de control clave y mejorar la eficiencia de plataformas heterólogas o celulares destinadas a la producción sostenible de paclitaxel y otros taxanos de interés farmacológico.

5.9 CONTROL DE COMPONENTES DE LA VÍA METABÓLICA MEDIANTE CIRCUITOS GENÉTICOS AJUSTABLES.

Más allá de la eliminación o reducción estática de efectores negativos, la ingeniería metabólica avanzada emplea circuitos genéticos ajustables para regular de manera dinámica la expresión de enzimas clave. Estos sistemas permiten adaptar la actividad de la vía biosintética a las fluctuaciones en la concentración de precursores, intermediarios o productos finales, optimizando el flujo metabólico de acuerdo con el estado fisiológico de la célula. En el contexto de la biosíntesis de paclitaxel, esta regulación dinámica resulta especialmente relevante debido a la complejidad de la ruta, la toxicidad potencial de algunos intermediarios y la alta carga metabólica asociada con la expresión de enzimas heterólogas, en particular citocromos P450 (Tan et al., 2026).

Un componente central de estos circuitos son los biosensores, los cuales funcionan como módulos de detección capaces de reconocer umbrales específicos de concentración

de metabolitos. Estos sistemas pueden estar basados en factores de transcripción alostéricos, riborreguladores u otros elementos reguladores sensibles a pequeñas moléculas. Una vez detectada la señal metabólica, el biosensor modula la expresión de genes heterólogos, ajustando la producción de enzimas según la disponibilidad de sustratos o la acumulación de intermediarios. De esta manera, se evita la sobreproducción de compuestos potencialmente tóxicos, se reduce el estrés metabólico del huésped y se favorece una distribución más eficiente del flujo de carbono hacia los taxanos de interés (Tan et al., 2026).

En particular, los bucles de retroalimentación negativa constituyen una estrategia útil para estabilizar rutas biosintéticas complejas. Estos circuitos permiten disminuir la expresión de enzimas específicas cuando un intermediario alcanza niveles elevados, evitando así su acumulación excesiva y la posible inhibición del crecimiento celular. De forma inversa, cuando la concentración del metabolito disminuye, el sistema puede restablecer la expresión enzimática para mantener la continuidad del flujo biosintético. Este tipo de regulación en tiempo real permite equilibrar productividad y viabilidad celular, dos parámetros críticos en plataformas heterólogas destinadas a la producción de paclitaxel (Tan et al., 2026).

Asimismo, el desarrollo de sistemas de control de bucle cerrado ha facilitado la coordinación entre módulos metabólicos distantes. Estos circuitos integran una lógica reguladora dentro de la célula, de modo que la activación de un paso biosintético puede depender de la disponibilidad previa de un intermediario o de una señal química específica. Esta organización permite sincronizar la expresión de enzimas que participan en distintas etapas de la vía y dirigir el flujo de carbono de manera más eficiente hacia la síntesis de paclitaxel. En rutas altamente ramificadas, esta estrategia contribuye a reducir pérdidas metabólicas, minimizar la formación de subproductos y mejorar la eficiencia global del proceso (Tan et al., 2026).

El control dinámico resulta particularmente importante para la expresión de enzimas del citocromo P450, cuya sobreexpresión puede ser incompatible con la fisiología del huésped debido a sus requerimientos de cofactores, su localización subcelular y la generación de estrés oxidativo. Mediante promotores inducibles, sensores metabólicos o sistemas reguladores dependientes de señales específicas, la expresión de estas enzimas puede ajustarse con mayor precisión, evitando cargas metabólicas excesivas y preservando la viabilidad celular. Esta aproximación permite mantener niveles funcionales de actividad oxidativa sin comprometer el crecimiento del sistema productor (Tan et al., 2026).

En conjunto, mientras que la eliminación de efectores negativos permite reducir la competencia metabólica y liberar precursores esenciales, los circuitos genéticos ajustables ofrecen un nivel adicional de control dinámico sobre la vía biosintética. Estos sistemas actúan como plataformas de gestión metabólica autorregulada, capaces de responder a las demandas internas del huésped y de optimizar la producción de taxanos. Su integración con estrategias de ingeniería metabólica, biología sintética y minería genética representa una vía prometedora para mejorar el rendimiento, la estabilidad y la sostenibilidad de la producción heteróloga de paclitaxel.

5.10 MEJORA DE LA PRODUCCIÓN DE TAXANOS CON UN CONSORCIO MICROBIANO SINTÉTICO

La complejidad de la vía biosintética del paclitaxel, caracterizada por múltiples pasos enzimáticos, requerimientos específicos de cofactores y la participación de enzimas de difícil expresión funcional, representa un desafío considerable para una sola célula huésped. En este contexto, el diseño de consorcios microbianos sintéticos surge como una estrategia avanzada para superar las limitaciones asociadas con los sistemas de monocultivo. Este enfoque consiste en fragmentar la vía metabólica y distribuir sus diferentes módulos entre

cepas especializadas, de modo que cada población microbiana cumpla una función biosintética definida dentro del sistema global de producción (Tan et al., 2026).

Una de las principales ventajas de esta estrategia es la compartimentación funcional de la vía. Los intermediarios inestables, tóxicos o metabólicamente costosos pueden ser producidos y transformados en nichos celulares diferentes, reduciendo así la carga metabólica acumulativa que suele afectar el crecimiento y la viabilidad del huésped. Por ejemplo, una cepa puede optimizarse para incrementar la producción de precursores isoprenoides, actuando como un módulo de suministro, mientras que otra puede especializarse en reacciones oxidativas complejas catalizadas por citocromos P450, funcionando como un módulo de conversión. Esta división del trabajo permite mejorar la eficiencia de cada etapa y disminuir la acumulación de subproductos no deseados (Tan et al., 2026).

Otra ventaja relevante de los consorcios microbianos es la posibilidad de optimizar de manera independiente las condiciones fisiológicas y metabólicas de cada cepa. Dado que los microorganismos que conforman el consorcio pueden presentar requerimientos distintos de pH, temperatura, fuente de carbono, disponibilidad de oxígeno o cofactores, el sistema puede diseñarse para equilibrar el crecimiento celular con la actividad enzimática específica de cada módulo. Esta flexibilidad permite ajustar la composición del consorcio y las condiciones de cultivo con el fin de maximizar tanto la producción de biomasa como la conversión eficiente de intermediarios hacia taxanos avanzados (Tan et al., 2026).

Además, la incorporación de sistemas de comunicación intercelular, como los mecanismos de detección de quórum, permite coordinar de forma dinámica la actividad de las distintas cepas. Estos circuitos de señalización pueden regular la expresión génica en función de la densidad celular o de la disponibilidad de intermediarios, favoreciendo una

transferencia más sincronizada entre módulos biosintéticos. De esta manera, se reduce la pérdida de carbono hacia metabolitos secundarios indeseables y se promueve un flujo metabólico más dirigido hacia la síntesis de paclitaxel o de sus precursores inmediatos (Tan et al., 2026).

Por lo tanto, los consorcios microbianos sintéticos ofrecen una plataforma prometedora para la producción biotecnológica de taxanos, ya que permiten distribuir la carga metabólica, mejorar la estabilidad del sistema y aumentar la robustez frente a mutaciones, toxicidad de intermediarios y fluctuaciones ambientales. Aunque su implementación industrial aún requiere optimizar aspectos como la estabilidad poblacional, la transferencia eficiente de metabolitos y el escalamiento del proceso, esta estrategia representa una alternativa de alto potencial para avanzar hacia una producción sostenible, modular y eficiente de paclitaxel a gran escala (Tan et al., 2026).

5.11 VENTAJAS E INCONVENIENTES DE LAS ESTRATEGIAS SINTÉTICAS EN LA BIOSÍNTESIS DE PACLITAXEL

La implementación de estrategias de biología sintética para la producción de paclitaxel ofrece alternativas innovadoras frente a las limitaciones de la extracción natural y la semisíntesis convencional. Estos enfoques permiten rediseñar rutas metabólicas, optimizar el flujo de precursores y transferir segmentos de la vía biosintética a plataformas heterólogas más controlables. No obstante, su viabilidad industrial depende de la resolución de desafíos técnicos críticos relacionados con la compatibilidad enzimática, la carga metabólica, la toxicidad de intermediarios y la eficiencia global del proceso (Tan et al., 2026).

Ventajas de los enfoques sintéticos

Una de las principales ventajas de la biología sintética aplicada a la biosíntesis de paclitaxel es la posibilidad de ejercer un control genético preciso sobre la expresión de enzimas limitantes. Mediante herramientas de ingeniería metabólica, es posible modular la actividad de genes específicos, redirigir el flujo de carbono hacia intermediarios taxanos y reducir la acumulación de subproductos no deseados. Esta capacidad de diseño racional permite optimizar etapas críticas de la vía, especialmente aquellas asociadas con oxidaciones complejas, acilaciones y ensamblaje de la cadena lateral (Tan et al., 2026).

Además, el uso de huéspedes heterólogos amplía significativamente el repertorio de plataformas disponibles para la producción de taxanos. Microorganismos como *Saccharomyces cerevisiae*, bacterias modificadas, cianobacterias y sistemas vegetales transitorios, como *Nicotiana benthamiana*, ofrecen ventajas particulares en términos de manipulación genética, escalabilidad, velocidad de crecimiento y control de las condiciones de cultivo. Estas plataformas permiten evaluar módulos biosintéticos de manera independiente y acelerar la validación funcional de genes candidatos.

Otra ventaja importante es la posibilidad de fragmentar la ruta biosintética en módulos funcionales. Esta estrategia facilita la distribución de tareas entre diferentes compartimentos celulares, cepas microbianas o sistemas de producción, reduciendo la carga metabólica impuesta sobre una sola célula huésped. En este sentido, los consorcios microbianos sintéticos permiten dividir la producción de precursores, la funcionalización oxidativa y la conversión final en taxanos avanzados, mejorando la eficiencia y la estabilidad del sistema (Tan et al., 2026).

Asimismo, los enfoques híbridos que combinan biocatálisis y síntesis química representan una alternativa prometedora para superar pasos enzimáticos con baja actividad *in vivo*. En estos esquemas, los sistemas biológicos pueden utilizarse para producir intermediarios complejos, mientras que las etapas químicas posteriores permiten completar transformaciones difíciles de lograr exclusivamente mediante rutas metabólicas. Esta combinación puede mejorar el rendimiento, reducir el número de pasos sintéticos y favorecer la obtención de derivados taxanos con potencial farmacológico.

Limitaciones y desafíos técnicos

A pesar de sus ventajas, las estrategias sintéticas enfrentan limitaciones importantes. Una de las más relevantes es la expresión funcional de enzimas vegetales, especialmente citocromos P450, en huéspedes heterólogos. Estas enzimas suelen requerir condiciones específicas de membrana, cofactores adecuados, proteínas redox asociadas y una correcta localización subcelular para mantener una catálisis eficiente. La incompatibilidad entre las enzimas de *Taxus* y el entorno fisiológico del huésped puede reducir la actividad catalítica, favorecer la formación de subproductos o limitar el flujo hacia intermediarios deseados (Tan et al., 2026).

Otro desafío importante es el equilibrio entre crecimiento celular y producción metabólica. La biosíntesis de paclitaxel exige un alto suministro de precursores isoprenoides, como el pirofosfato de geranilgeranilo (GGPP), así como una demanda considerable de energía y cofactores. La sobreexpresión de rutas heterólogas puede sobrecargar el metabolismo central, disminuir la viabilidad celular y reducir la productividad a largo plazo. Por ello, la optimización de estas plataformas requiere equilibrar cuidadosamente el flujo metabólico con las necesidades fisiológicas del huésped.

En el caso de los consorcios microbianos sintéticos, la transferencia eficiente de intermediarios entre especies o cepas representa un factor limitante. La acumulación, degradación o baja difusión de metabolitos intermedios puede disminuir el rendimiento global de la ruta. Además, la estabilidad del consorcio depende del ajuste preciso de la dinámica poblacional, la compatibilidad fisiológica entre los microorganismos y la coordinación temporal de los módulos biosintéticos (Tan et al., 2026).

Finalmente, las rutas alternativas para aumentar el suministro de precursores, como la vía enriquecida con isopentenol (IUP), deben evaluarse rigurosamente desde una perspectiva de costo-beneficio. Aunque estas estrategias pueden simplificar el control metabólico y desacoplar parcialmente la biosíntesis de taxanos del metabolismo central del huésped, su competitividad frente a rutas endógenas optimizadas para procesos industriales aún debe demostrarse a gran escala (Tan et al., 2025).

Las estrategias sintéticas ofrecen una plataforma poderosa para avanzar hacia la producción sostenible de paclitaxel, pero su éxito depende de la integración equilibrada de ingeniería genética, diseño metabólico, control dinámico de la expresión enzimática y optimización de procesos. La combinación de estos enfoques podría permitir superar las limitaciones actuales y facilitar el desarrollo de sistemas de producción más eficientes, escalables y económicamente viables.

Sistemas Microbianos

Saccharomyces cerevisiae se ha consolidado como uno de los sistemas heterólogos de referencia para la producción de intermediarios de paclitaxel. Esta levadura presenta varias ventajas, entre ellas su compartimentalización subcelular, la presencia de retículo

endoplasmático y membranas internas que favorecen la expresión funcional de enzimas vegetales asociadas a membrana, como las monooxigenasas CYP725A, así como una vía del mevalonato robusta y ampliamente modificable. Además, su uso prolongado como organismo de fermentación industrial facilita su aplicación en procesos escalables y controlados (Liang et al., 2025).

Uno de los avances más relevantes en esta plataforma fue reportado por Liang et al. en 2025, quienes lograron producir paclitaxel completo a partir de baccatina III mediante la reconstitución de la etapa III de la vía biosintética en levadura. Este resultado demostró, por primera vez, la viabilidad de un sistema microbiano heterólogo para completar las modificaciones finales necesarias para la síntesis del producto activo, lo que representa un paso importante hacia el desarrollo de plataformas microbianas para la producción sostenible de taxanos (Liang et al., 2025).

Por su parte, *Escherichia coli* constituye una plataforma atractiva para la producción de intermediarios tempranos, debido a su rápido crecimiento, facilidad de manipulación genética y disponibilidad de herramientas de ingeniería metabólica. En particular, ha sido empleada para la producción de taxadieno, el primer intermediario comprometido de la vía biosintética. Sin embargo, la ausencia de retículo endoplasmático y de membranas internas especializadas limita la expresión funcional de enzimas CYP725A, lo que restringe su utilidad principalmente a las etapas iniciales de la ruta (Tan et al., 2026).

Para superar estas limitaciones, se han explorado estrategias como la ingeniería de membranas, la expresión de fusiones entre citocromos P450 y sus reductasas asociadas, y el diseño de sistemas de co-cultivo. En estos últimos, *E. coli* y *S. cerevisiae* pueden dividirse la vía biosintética: una cepa se optimiza para la producción de precursores o intermediarios

tempranos, mientras que la otra se especializa en oxidaciones complejas y modificaciones posteriores. Esta distribución funcional permite reducir la carga metabólica sobre un único huésped y mejorar la transferencia de intermediarios entre módulos biosintéticos (Li et al., 2023).

Sistemas emergentes y cultivos integrados

Las cianobacterias genéticamente modificadas representan una plataforma emergente con alto potencial para la producción sostenible de precursores de taxanos. Zhong et al., 2024demostraron la producción de intermediarios taxanos en Synechococcus elongatus, utilizando CO_2 como fuente de carbono y energía solar como motor metabólico. Este enfoque resulta particularmente atractivo por su potencial para reducir los costos asociados al suministro de sustratos y disminuir la huella de carbono del proceso.

No obstante, los niveles de producción alcanzados en cianobacterias aún se encuentran por debajo de los requeridos para una aplicación industrial viable. Por ello, la optimización de estas plataformas mediante ingeniería metabólica avanzada, mejora del flujo de carbono, regulación de la expresión génica y adaptación de enzimas heterólogas constituye una línea de investigación emergente dentro de la producción biotecnológica de taxanos.

Los hongos filamentosos también han sido investigados como plataformas alternativas, debido a su naturaleza eucariota y a su capacidad para expresar enzimas complejas. Diversos hongos endófitos aislados de especies de Taxus han sido descritos como posibles productores de paclitaxel o de intermediarios relacionados. Sin embargo, la baja reproducibilidad de estos resultados, junto con los rendimientos reducidos observados en muchos estudios, ha limitado su aplicación industrial. En la actualidad, los hongos filamentosos se consideran principalmente sistemas útiles para la investigación de rutas

biosintéticas, la identificación de nuevas enzimas y el estudio de interacciones planta-microorganismo, más que plataformas consolidadas para la producción comercial de paclitaxel (Subban & Kempken, 2023).

Sistemas de Células Vegetales

Los sistemas vegetales constituyen plataformas particularmente relevantes para la reconstrucción de rutas biosintéticas de taxanos, debido a que poseen la maquinaria celular necesaria para la expresión y funcionalidad de enzimas vegetales complejas, especialmente citocromos P450 asociados a membranas. Se han reportado avances en la producción de taxadieno y taxadieno-5α-ol en diversos sistemas vegetales, incluidos *Arabidopsis thaliana*, *Solanum lycopersicum*, *Artemisia annua* y *Nicotiana benthamiana*, aprovechando sus herramientas de transformación genética y expresión transitoria.

Entre estos sistemas, *N. benthamiana* ha adquirido especial relevancia como plataforma de expresión heteróloga para la elucidación funcional de enzimas de la vía del paclitaxel. La introducción transitoria de genes biosintéticos ha permitido evaluar de manera rápida la función de múltiples enzimas y reconstruir segmentos complejos de la ruta. En particular, la coexpresión de TOT y T9αH junto con otros genes previamente conocidos, incluidos TXS, T5αH, T13αH, T2αH, T7βH, TAT y TBT, demostró la capacidad de las plantas hospedadoras para facilitar la reconstrucción de etapas avanzadas de la biosíntesis de taxanos (Jiang et al., 2024c).

En conjunto, los sistemas microbianos, las plataformas fotosintéticas emergentes, los hongos filamentosos y las células vegetales ofrecen ventajas complementarias para el estudio y la producción de paclitaxel. Mientras que *E. coli* resulta eficiente para intermediarios

tempranos, *S. cerevisiae* favorece la expresión de enzimas eucariotas y la reconstrucción de pasos finales. Por su parte, las cianobacterias ofrecen una alternativa sostenible basada en CO_2 y luz, y los sistemas vegetales permiten validar enzimas complejas en un contexto más cercano al metabolismo nativo de *Taxus*. La integración racional de estas plataformas podría acelerar el desarrollo de sistemas híbridos y escalables para la producción sostenible de taxanos de alto valor farmacológico.

Cultivo molecular

La agricultura molecular, entendida como el uso de organismos vivos —plantas, microorganismos o cultivos celulares— como biofábricas para la producción de compuestos farmacéuticos de alto valor, adquiere especial relevancia en el contexto del paclitaxel (Yin et al., 2025). Esta estrategia integra principios de biotecnología vegetal, ingeniería metabólica y biología sintética para diseñar sistemas de producción más eficientes, escalables y sostenibles frente a los métodos tradicionales basados en extracción vegetal o semisíntesis.

Dentro de este enfoque, los cultivos celulares en suspensión de *Taxus* representan una de las plataformas de cultivo molecular más avanzadas para la producción de paclitaxel. A diferencia de la extracción directa a partir de plantas completas, los cultivos celulares permiten controlar de manera precisa las condiciones de producción, reducir la dependencia de ecosistemas naturales y facilitar el escalamiento en biorreactores bajo condiciones estandarizadas (Perez-Matas et al., 2023).

La producción de paclitaxel en biorreactores, utilizando cultivos celulares de *Taxus chinensis* y *Taxus baccata*, ha alcanzado concentraciones de hasta 900 mg/L mediante la combinación de elicitores, como jasmonato de metilo y quitosano, medios de cultivo optimizados y estrategias de alimentación discontinua (*fed-batch*) (Yin et al., 2025). Estos

avances demuestran el potencial de los cultivos celulares como alternativa sostenible para la obtención de taxanos, especialmente cuando se combinan con herramientas de optimización metabólica y control del proceso.

No obstante, esta plataforma aún presenta limitaciones relevantes. Entre los principales desafíos se encuentran la variabilidad genética y metabólica entre líneas celulares, el crecimiento relativamente lento de los cultivos, la inestabilidad de la producción durante subcultivos prolongados y los altos costos operativos asociados con el mantenimiento de biorreactores especializados. Por ello, la mejora de la productividad requiere estrategias integradas que incluyan selección de líneas celulares de alto rendimiento, optimización de elicitores, control de condiciones fisicoquímicas e incorporación de herramientas de ingeniería metabólica.

En conjunto, el cultivo molecular basado en células de *Taxus* constituye una plataforma consolidada y tecnológicamente relevante para la producción de paclitaxel. Aunque aún enfrenta barreras económicas y bioprocesales, su capacidad para combinar sostenibilidad, control productivo y escalabilidad lo posiciona como una alternativa clave dentro de las estrategias modernas de producción biotecnológica de taxanos.

Tabla 3. Sistemas de expresión heteróloga para la producción de taxanos.

Anfitrión	Producto	Concentración de producto	Estrategia	Principales ventajas y limitaciones	Referencia
Escherichia coli	Taxadieno	93,5 mg/L	Aumento de la expresión de las enzimas limitantes de la velocidad DXS e IDI en MEP.	**Ventajas:** Antecedentes genéticos claros, Alta escalabilidad de la fermentación en entornos industriales. **Limitaciones:** Sistema procariota (carece de la maquinaria de plegamiento de proteínas eucariota); sin RE (fundamental para la actividad del citocromo P450); no cuenta con la certificación GRAS.	(Wang et al., 2022)
Saccharomyces cerevisiae	Taxadieno	8.7 mg/L	Coexpresión de tHMGR, proteína reguladora mutante UPC2-1, GGPPS y TXS de *Taxus chinensis* optimizada por codones	**Ventajas:** Sistema eucariota (RE para plegamiento y actividad de P450); vía MVA nativa para síntesis de isoprenoides; certificado GRAS; herramientas genéticas maduras; robusta en fermentación industrial (pH bajo, alta densidad celular).	(Wang et al., 2022)
	Paclitaxel	0.97 µg/L	Reconstrucción de la vía tardía en levadura y síntesis de paclitaxel a partir de baccatina III	**Limitaciones:** no posee vía MEP nativa (depende solo de la vía MVA); la síntesis nativa de esteroles compite por precursores FPP/GGPP; crecimiento más lento que procariotas.	

Yarrowia lipolytica	Taxadieno	101.4 mg/L	Estrategia “push-pull”, expresión por fusión de etiquetas de solubilización y TXS, integración multicopia iterativa	**Ventajas:** Alta tolerancia a condiciones severas; metabolismo lipídico fuerte (favorece suministro de precursores terpénicos). **Limitaciones:** menos herramientas genéticas maduras que *S. cerevisiae;* el flujo metabólico nativo tiende hacia síntesis lipídica.	(Wang et al., 2022)
Nicotiana benthamiana	Taxadieno	56.6 ± 3.2 µg/g peso fresco	Estrategia de ingeniería metabólica compartimentalizada en cloroplasto; coexpresión de DXS y GGPPS	**Ventajas:** Hospedador vegetal nativo (vías MEP/MVA duales para isoprenoides); sistema intrínseco de plegamiento/cofactor para P450 (ideal para P450 derivados de plantas); capacidad de expresión transitoria (verificación rápida de función génica).	(Wang et al., 2022)
	Paclitaxel	64.29 ng/g FW	Expresión transitoria de PCL con BAPT, PAM, DBTNBT y T2′OH		
Nicotiana tabacum	Taxadieno	87.8 µg/g DW	Expresión de TXS con un péptido de tránsito al cloroplasto		(Wang et al., 2022)
Arabidopsis thaliana	Taxadieno	600 ng/g de peso seco (DW)	Expresión transgénica utilizando un sistema mediado por glucocorticoides.	**Limitaciones:** ciclo de crecimiento largo; baja densidad de biomasa en cultivo en suspensión; mayor costo de cultivo a gran escala en comparación con microorganismos; productividad inestable en cultivos prolongados.	(Wang et al., 2022)

Alternaria ***alternata TPF6***	Taxadieno	61.9 ± 6.3 µg/L	Coexpresión de **IDI**, **tHMGR** y **TXS** en hongos filamentosos.	**Ventajas:** hongo filamentoso eucariota (posee retículo endoplásmico para el plegamiento parcial de enzimas P450); vía MVA nativa; potencial para fermentación en estado sólido. **Limitaciones:** no certificado como GRAS; crecimiento micelial complejo (difícil de controlar en fermentación líquida); pocas herramientas de manipulación genética; crecimiento lento.	(Wang et al., 2022)
Bacillus subtilis	Taxadieno	17.8 mg/L	Sobreexpresión de la vía **MEP**, **GGPPS** y del gen **TXS**.	**Ventajas:** certificado GRAS; resistente al estrés ambiental; fondo genético bien conocido; vía MEP nativa; capacidad para secreción de proteínas. **Limitaciones:** sistema procariota (sin maquinaria para el plegamiento de P450 ni retículo endoplásmico); sin vía MVA nativa; menor flujo de precursores isoprenoides que *E. coli*.	(Wang et al., 2022)
Synechocystis sp. PCC 6803	Taxadien-5α-ol	4.32 mg/L	Coexpresión de **GGPPS** y **TXS** heterólogos en un sistema de cultivo de alta densidad con suministro de CO_2 mediado por membrana.	**Ventajas:** organismo fotoautótrofo (utiliza CO_2 y energía solar como fuente de carbono y energía); vía MEP nativa; membranas tilacoides (permiten actividad parcial de P450); bajo costo de cultivo. **Limitaciones:** crecimiento más lento que *E. coli*; ausencia de una vía MVA nativa.	(Wang et al., 2022)

5.12 AVANCES RECIENTES, LIMITACIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS

Los años 2024 y 2025 marcaron un punto de inflexión en la investigación sobre paclitaxel, al consolidarse avances decisivos en la elucidación de su vía biosintética tras más de cinco décadas de estudio. Estos progresos, impulsados por la integración de enfoques multiómicos, minería genética y validación funcional en sistemas heterólogos, han transformado las perspectivas para la producción biotecnológica de este fármaco. En particular, McClune et al. (2025) identificaron la proteína FoTO1 como un factor auxiliar capaz de modular la actividad de T5αH y reducir la acumulación de subproductos durante las primeras etapas oxidativas de la ruta. Asimismo, estos autores confirmaron que T3′NBT corresponde a la benzoiltransferasa terminal responsable de la última modificación en la biosíntesis del paclitaxel (McClune et al., 2025).

De manera complementaria, Z. Zhao et al., 2023demostraron que la formación del anillo de oxetano ocurre mediante oxidaciones sucesivas catalizadas por CYP725A4, lo que modificó sustancialmente el modelo biosintético clásico. Por su parte, Liang et al., 2025bidentificaron a T2′OGD como la enzima responsable de la hidroxilación en C2′α, descartando la participación de un citocromo P450 en este paso. Estos hallazgos han permitido reasignar funciones enzimáticas clave, corregir modelos previos y completar etapas críticas de la ruta. Además, la identificación de la β-fenilalanina-CoA ligasa nativa AAE-867.5 ejemplifica el poder de los enfoques de exploración genética y coexpresión para descubrir genes funcionales que habrían permanecido ocultos mediante métodos convencionales, especialmente dentro de familias altamente redundantes como CYP725A (X. Liu et al., 2024; McClune et al., 2025)

A pesar de estos avances, la transición hacia una producción industrial completamente biotecnológica aún enfrenta obstáculos importantes. La reconstitución de la etapa III de la

biosíntesis en *Saccharomyces cerevisiae*, reportada por Liang et al., 2025b, demostró la viabilidad de producir paclitaxel a partir de baccatina III en un sistema microbiano heterólogo. Sin embargo, los títulos obtenidos continúan en el orden de microgramos por litro, valores todavía insuficientes para competir con los procesos semisintéticos establecidos (Tan et al., 2026). Entre los principales desafíos se encuentra la expresión funcional de múltiples enzimas CYP725A, proteínas de membrana que requieren un entorno lipídico adecuado, cofactores específicos, proteínas redox asociadas y una correcta organización subcelular. Su coexpresión simultánea puede generar una carga metabólica considerable y comprometer la viabilidad del huésped (Zerbe, 2024b).

Los cultivos celulares de *Taxus*, actualmente una de las plataformas biotecnológicas más avanzadas para la producción de paclitaxel, también presentan limitaciones persistentes. Aunque se han reportado títulos de hasta 900 mg/L, estos sistemas continúan enfrentando problemas relacionados con la variabilidad genética y metabólica entre líneas celulares, el crecimiento lento, la inestabilidad productiva durante subcultivos prolongados y los elevados costos operativos (Perez-Matas et al., 2023). A ello se suman barreras regulatorias y la necesidad de demostrar equivalencia farmacéutica, aspectos que dificultan la sustitución inmediata de la infraestructura semisintética ya consolidada por nuevas tecnologías de producción (Yin et al., 2025).

No obstante, las perspectivas futuras son prometedoras. La disponibilidad de un mapa biosintético más completo permite aplicar estrategias de ingeniería metabólica de alto rendimiento, bibliotecas de variantes enzimáticas y herramientas de aprendizaje automático para predecir combinaciones genéticas óptimas, mejorar la eficiencia catalítica de enzimas limitantes y reducir la formación de subproductos (Xie et al., 2024). A mediano plazo, el diseño racional de

cepas de levadura podría permitir el aumento progresivo de los títulos de producción hacia niveles cercanos al gramo por litro, considerado un umbral relevante para evaluar la viabilidad industrial de estos sistemas (Xie et al., 2024).

Paralelamente, se exploran plataformas de producción más sostenibles, como cianobacterias modificadas capaces de utilizar CO_2 y luz solar para generar precursores de taxanos, así como plantas de *Taxus* modificadas genéticamente con rutas metabólicas desreguladas para incrementar la productividad sin depender exclusivamente de procesos fermentativos costosos (Zhong et al., 2024) (Perez-Matas et al., 2023). Estas aproximaciones podrían complementar, más que reemplazar de forma inmediata, las estrategias actuales basadas en semisíntesis y cultivos celulares.

Finalmente, la evolución del paclitaxel no se limita a su producción, sino que también incluye su optimización clínica. La integración de biomarcadores de resistencia, el desarrollo de formulaciones nanoestructuradas de segunda generación —incluidas nanopartículas de albúmina modificada y sistemas activados por estímulos del microambiente tumoral— y el diseño de regímenes terapéuticos personalizados prometen mejorar la selectividad tumoral y reducir la toxicidad sistémica (Saha et al., 2024). En combinación con perfiles moleculares de tubulina, vías de señalización y marcadores farmacogenómicos, estas estrategias refuerzan el papel del paclitaxel no solo como agente quimioterapéutico de primera línea, sino también como una molécula en continua evolución tecnológica. En este sentido, su pleno potencial terapéutico dependerá de la convergencia entre biología sintética, inteligencia artificial, nanotecnología farmacéutica y farmacología de precisión (Yedier-Bayram et al., 2025).

6. CONCLUSIONES

- El paclitaxel y sus derivados constituyen agentes anticancerígenos clínicamente indispensables debido a su eficacia frente a diversos tipos de cáncer. Sin embargo, su producción sostenible continúa limitada por barreras técnicas, económicas y biotecnológicas asociadas con la complejidad estructural de la molécula, la baja disponibilidad natural de sus precursores y las dificultades para reconstruir eficientemente su vía biosintética en sistemas heterólogos.
- La biosíntesis del paclitaxel comprende una red metabólica altamente compleja, integrada por múltiples reacciones enzimáticas de ciclación, hidroxilación, oxidación, acilación y ensamblaje de la cadena lateral. Aunque en los últimos años se han resuelto pasos críticos de esta ruta, su reconstrucción funcional completa aún representa un desafío debido a la participación de numerosas enzimas especializadas, en particular citocromos P450, aciltransferasas y enzimas auxiliares.
- La minería genética, apoyada por el análisis integrado de datos genómicos, transcriptómicos, metabolómicos y de coexpresión génica, ha sido una herramienta metodológica clave para los avances recientes en la elucidación de la biosíntesis del paclitaxel. Este enfoque ha permitido identificar y validar genes esenciales, corregir asignaciones funcionales previas y establecer con mayor precisión la secuencia de reacciones que conduce a la formación del producto final.
- A pesar de estos progresos, la producción heteróloga de taxanos continúa enfrentando limitaciones importantes derivadas de la incompatibilidad entre las rutas metabólicas vegetales y los huéspedes microbianos. En particular, las enzimas P450 de origen vegetal suelen presentar baja actividad catalítica, requerimientos específicos de membrana y dependencia de cofactores o proteínas redox auxiliares, lo que puede favorecer la

acumulación de subproductos y reducir el flujo metabólico hacia intermediarios productivos del paclitaxel.

- En este contexto, las investigaciones futuras deberían priorizar tres objetivos principales: i) optimizar la expresión funcional de enzimas heterólogas, especialmente citocromos P450; ii) incrementar la disponibilidad intracelular de precursores taxanos clave, como GGPP y derivados oxigenados del núcleo taxano; y iii) superar los cuellos de botella metabólicos mediante ingeniería metabólica, biología sintética, circuitos genéticos ajustables y plataformas de producción modulares.
- En conjunto, los avances recientes en minería genética, validación funcional y diseño de sistemas heterólogos han transformado la comprensión de la biosíntesis del paclitaxel y han abierto nuevas oportunidades para su producción sostenible. La convergencia entre biotecnología vegetal, ingeniería metabólica, biología sintética e inteligencia artificial será fundamental para desarrollar plataformas eficientes, escalables y económicamente viables para la obtención de paclitaxel y nuevos taxanos con valor farmacológico.

7. BIBLIOGRAFÍA

Ajikumar, P. K., Xiao, W.-H., Tyo, K. E. J., Wang, Y., Simeon, F., Leonard, E., Mucha, O., Phon, T. H., Pfeifer, B., & Stephanopoulos, G. (2010). Isoprenoid Pathway Optimization for Taxol Precursor Overproduction in *Escherichia coli*. *Science*, *330*(6000), 70–74. https://doi.org/10.1126/science.1191652

Barrales-Cureño HJ, F. R. R. R. H. F. G. A. C. S. (2016). Generalidades del fármaco Taxol: una revisión sistemática. *Revista Médica de La Universidad Veracruzana*, 76–89.

Bruňáková, K., Bálintová, M., Henzelyová, J., & Petijová, L. (2026). Inspired by taxol: biosynthesis and engineering of hypericin and other phytochemicals in Hypericum. *Planta*, *263*(2), 44. https://doi.org/10.1007/s00425-025-04908-6

Chavez, J. D., Keller, A., Zhou, B., Tian, R., & Bruce, J. E. (2019). Cellular Interactome Dynamics during Paclitaxel Treatment. *Cell Reports*, *29*(8), 2371-2383.e5. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.10.063

Croteau, R., Ketchum, R. E. B., Long, R. M., Kaspera, R., & Wildung, M. R. (2006). Taxol Biosynthesis and Molecular Genetics. *Phytochemistry Reviews*, *5*(1), 75–97. https://doi.org/10.1007/s11101-005-3748-2

Gou, Y., Jiang, X., & Lian, J. (2024). Intricate Metabolic Network for Paclitaxel Biosynthesis. *BioDesign Research*, *6*, 0035. https://doi.org/10.34133/bdr.0035

Holton, R. A., Kim, H. B., Somoza, C., Liang, F., Biediger, R. J., Boatman, P. D., Shindo, M., Smith, C. C., & Kim, S. (1994). First total synthesis of taxol. 2. Completion of the C and D rings. *Journal of the American Chemical Society*, *116*(4), 1599–1600. https://doi.org/10.1021/ja00083a067

Hsu, F., Tsai, C. L., Chiang, I., Lan, K., Yueh, P., Liang, W., Lin, C., Chao, Y., & Lan, K. (2022). Synergistic effect of Abraxane that combines human IL15 fused with an albumin-binding domain on murine models of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, *26*(7), 1955–1968. https://doi.org/10.1111/jcmm.17220

Jiang, B., Gao, L., Wang, H., Sun, Y., Zhang, X., Ke, H., Liu, S., Ma, P., Liao, Q., Wang, Y., Wang, H., Liu, Y., Du, R., Rogge, T., Li, W., Shang, Y., Houk, K. N., Xiong, X., Xie, D., … Yan, J. (2024a). Characterization and heterologous reconstitution of *Taxus* biosynthetic enzymes leading to baccatin III. *Science*, *383*(6683), 622–629. https://doi.org/10.1126/science.adj3484

Jiang, B., Gao, L., Wang, H., Sun, Y., Zhang, X., Ke, H., Liu, S., Ma, P., Liao, Q., Wang, Y., Wang, H., Liu, Y., Du, R., Rogge, T., Li, W., Shang, Y., Houk, K. N., Xiong, X., Xie, D., … Yan, J. (2024b). Characterization and heterologous reconstitution of *Taxus* biosynthetic enzymes

leading to baccatin III. *Science*, *383*(6683), 622–629. https://doi.org/10.1126/science.adj3484

Jiang, B., Gao, L., Wang, H., Sun, Y., Zhang, X., Ke, H., Liu, S., Ma, P., Liao, Q., Wang, Y., Wang, H., Liu, Y., Du, R., Rogge, T., Li, W., Shang, Y., Houk, K. N., Xiong, X., Xie, D., … Yan, J. (2024c). Characterization and heterologous reconstitution of *Taxus* biosynthetic enzymes leading to baccatin III. *Science*, *383*(6683), 622–629. https://doi.org/10.1126/science.adj3484

Kathiravan, G., Bhuvaneshwari, V., Kramony, E., Sureban, S., & Sree, H. (2013). Isolation of anticancer drug TAXOL from Pestalotiopsis breviseta with apoptosis and B-Cell lymphoma protein docking studies. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, *4*(1), 14. https://doi.org/10.4103/0976-0105.109402

Li, C., Qi, Y., Sun, Z., Jiang, M., & Li, C. (2023). Way to efficient microbial paclitaxel mass production. *Synthetic and Systems Biotechnology*, *8*(4), 673–681. https://doi.org/10.1016/j.synbio.2023.10.002

Liang, F., Xie, Y., Zhang, C., Zhao, Y., Motawia, M. S., & Kampranis, S. C. (2025a). Elucidation of the final steps in Taxol biosynthesis and its biotechnological production. *Nature Synthesis*, *4*(10), 1212–1222. https://doi.org/10.1038/s44160-025-00800-z

Liu, J. C.-T., De La Peña, R., Tocol, C., & Sattely, E. S. (2024). Reconstitution of early paclitaxel biosynthetic network. *Nature Communications*, *15*(1), 1419. https://doi.org/10.1038/s41467-024-45574-8

Liu, X., Zhu, X., Cheng, J., & Jiang, H. (2024). A new era for paclitaxel biosynthesis is coming. *Molecular Plant*, *17*(3), 370–371. https://doi.org/10.1016/j.molp.2024.01.005

Martinelli, L., Papon, N., & Courdavault, V. (2025). The Paclitaxel Biosynthesis Pathway Unlocked. *Research*, *8*. https://doi.org/10.34133/research.0965

McClune, C. J., Liu, J. C.-T., Wick, C., De La Peña, R., Lange, B. M., Fordyce, P. M., & Sattely, E. S. (2024). *Multiplexed perturbation of yew reveals cryptic proteins that enable a total biosynthesis of baccatin III and Taxol precursors*. https://doi.org/10.1101/2024.11.06.622305

McClune, C. J., Liu, J. C.-T., Wick, C., De La Peña, R., Lange, B. M., Fordyce, P. M., & Sattely, E. S. (2025). Discovery of FoTO1 and Taxol genes enables biosynthesis of baccatin III. *Nature*, *643*(8071), 582–592. https://doi.org/10.1038/s41586-025-09090-z

Min, L., Han, J.-C., Zhang, W., Gu, C.-C., Zou, Y.-P., & Li, C.-C. (2023a). Strategies and Lessons Learned from Total Synthesis of Taxol. *Chemical Reviews*, *123*(8), 4934–4971. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.2c00763

Oudin, A., Papon, N., & Courdavault, V. (2024). Metabolic engineering of the paclitaxel anticancer drug. *Cell Research*, *34*(7), 475–476. https://doi.org/10.1038/s41422-024-00950-3

Perez-Matas, E., Hidalgo-Martinez, D., Escrich, A., Alcalde, M. A., Moyano, E., Bonfill, M., & Palazon, J. (2023). Genetic approaches in improving biotechnological production of taxanes: An update. *Frontiers in Plant Science*, *14*. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1100228

Saha, S., Banskota, S., Yousefpour, P., Schaal, J. L., Zakharov, N., Liu, J., Dzuricky, M., He, Z., Roberts, S., Li, X., & Chilkoti, A. (2024). Preclinical Development of a Genetically Engineered Albumin-Binding Nanoparticle of Paclitaxel. *Small Science*, *4*(11). https://doi.org/10.1002/smsc.202400153

Scribano, C. M., Wan, J., Esbona, K., Tucker, J. B., Lasek, A., Zhou, A. S., Zasadil, L. M., Molini, R., Fitzgerald, J., Lager, A. M., Laffin, J. J., Correia-Staudt, K., Wisinski, K. B., Tevaarwerk, A. J., O'Regan, R., McGregor, S. M., Fowler, A. M., Chappell, R. J., Bugni, T. S., … Weaver,

B. A. (2021). Chromosomal instability sensitizes patient breast tumors to multipolar divisions induced by paclitaxel. *Science Translational Medicine*, *13*(610). https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abd4811

Sharifi-Rad, J., Quispe, C., Patra, J. K., Singh, Y. D., Panda, M. K., Das, G., Adetunji, C. O., Michael, O. S., Sytar, O., Polito, L., Živković, J., Cruz-Martins, N., Klimek-Szczykutowicz, M., Ekiert, H., Choudhary, M. I., Ayatollahi, S. A., Tynybekov, B., Kobarfard, F., Muntean, A. C., … Calina, D. (2021). Paclitaxel: Application in Modern Oncology and Nanomedicine-Based Cancer Therapy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2021*(1). https://doi.org/10.1155/2021/3687700

Singla, A. K., Garg, A., & Aggarwal, D. (2002). Paclitaxel and its formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, *235*(1–2), 179–192. https://doi.org/10.1016/S0378-5173(01)00986-3

Subban, K., & Kempken, F. (2023). Insights into Taxol® biosynthesis by endophytic fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *107*(20), 6151–6162. https://doi.org/10.1007/s00253-023-12713-y

Tan, C.-L., Yu, X., Feng, H.-C., Gershenzon, J., Liu, Y., & Li, S.-H. (2026). A synthetic biology roadmap for sustainable production of the plant-originated anti-cancer drug paclitaxel. *Trends in Biotechnology*. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2025.11.013

Thapa, P., Li, M., Bio, M., Rajaputra, P., Nkepang, G., Sun, Y., Woo, S., & You, Y. (2016). Far-Red Light-Activatable Prodrug of Paclitaxel for the Combined Effects of Photodynamic Therapy and Site-Specific Paclitaxel Chemotherapy. *Journal of Medicinal Chemistry*, *59*(7), 3204–3214. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01971

Wang, J.-Y., Huang, Z.-Y., Wu, Q.-Y., Pan, J., Li, C.-X., & Xu, J.-H. (2022). Facile biosynthesis of taxadiene by a newly constructed Escherichia coli strain fusing enzymes taxadiene synthase

and geranylgeranyl pyrophosphate synthase. *Process Biochemistry*, *122*, 129–136. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2022.09.005

Ward, V. C. A., Chatzivasileiou, A. O., & Stephanopoulos, G. (2019). Cell free biosynthesis of isoprenoids from isopentenol. *Biotechnology and Bioengineering*, *116*(12), 3269–3281. https://doi.org/10.1002/bit.27146

Weaver, B. A. (2014). How Taxol/paclitaxel kills cancer cells. *Molecular Biology of the Cell*, *25*(18), 2677–2681. https://doi.org/10.1091/mbc.e14-04-0916

Wu Ying-Mei, L. Q.-G. S. Y. G. Z.-P. G. J.-B. (2022). Recent progress of paclitaxel biosynthesis aided by multi-omics. *Plant Science Journal*, 853–866.

Xie, L., Gao, J., & Zhou, Y. J. (2024). Synthetic biology for Taxol biosynthesis and sustainable production. *Trends in Biotechnology*, *42*(6), 674–676. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2024.04.001

Xiong, X., Gou, J., Liao, Q., Li, Y., Zhou, Q., Bi, G., Li, C., Du, R., Wang, X., Sun, T., Guo, L., Liang, H., Lu, P., Wu, Y., Zhang, Z., Ro, D.-K., Shang, Y., Huang, S., & Yan, J. (2021). The Taxus genome provides insights into paclitaxel biosynthesis. *Nature Plants*, *7*(8), 1026–1036. https://doi.org/10.1038/s41477-021-00963-5

Yedier-Bayram, O., Cingöz, A., Yilmaz, E., Aksu, A. C., Esin, B., Degirmenci, N., Cavga, A. D., Dedeoğlu, B., Cevatemre, B., Syed, H., Philpott, M., Cribbs, A. P., Oppermann, U., Lack, N. A., Acilan, C., Onder, T. T., & Bagci-Onder, T. (2025). Chromatin-focused genetic and chemical screens identify BRPF1 as a targetable vulnerability in Taxol-resistant triple-negative breast cancer. *Experimental & Molecular Medicine*, *57*(6), 1294–1307. https://doi.org/10.1038/s12276-025-01466-5

Yin, J.-Y., Lai, M., Yu, X.-Y., Su, D.-D., Xiong, X.-Y., & Li, Y.-L. (2025). Comprehensive strategies for paclitaxel production: insights from plant cell culture, endophytic microorganisms, and synthetic biology. *Horticulture Research*, *12*(3). https://doi.org/10.1093/hr/uhae346

Zerbe, P. (2024a). Plants against cancer: towards green Taxol production through pathway discovery and metabolic engineering. *ABIOTECH*, *5*(3), 394–402. https://doi.org/10.1007/s42994-024-00170-8

Zhang, L., Ren, Z., Lü, J., Mo, X., Lin, J., Li, Y., Ma, W., Liu, P., Shen, Y., Zhao, Q., Qian, L., Cheng, X., Yu, Z., & Zhang, B. (2023). Nanoparticles carrying paclitaxel and anti-miR-221 for breast cancer therapy triggered by ultrasound. *Cell Death Discovery*, *9*(1), 298. https://doi.org/10.1038/s41420-023-01594-9

Zhang, S., Ye, T., Liu, Y., Hou, G., Wang, Q., Zhao, F., Li, F., & Meng, Q. (2023a). Research Advances in Clinical Applications, Anticancer Mechanism, Total Chemical Synthesis, Semi-Synthesis and Biosynthesis of Paclitaxel. *Molecules*, *28*(22), 7517. https://doi.org/10.3390/molecules28227517

Zhao, Y., Liang, F., Xie, Y., Duan, Y.-T., Andeadelli, A., Pateraki, I., Makris, A. M., Pomorski, T. G., Staerk, D., & Kampranis, S. C. (2024). Oxetane Ring Formation in Taxol Biosynthesis Is Catalyzed by a Bifunctional Cytochrome P450 Enzyme. *Journal of the American Chemical Society*, *146*(1), 801–810. https://doi.org/10.1021/jacs.3c10864

Zhao, Z., Zhang, Y., Li, W., Tang, Y., & Wang, S. (2023). Transcriptomics and Physiological Analyses Reveal Changes in Paclitaxel Production and Physiological Properties in Taxus cuspidata Suspension Cells in Response to Elicitors. *Plants*, *12*(22), 3817. https://doi.org/10.3390/plants12223817

Zhong, J., Wang, Y., Chen, Z., Yalikun, Y., He, L., Liu, T., & Ma, G. (2024). Engineering cyanobacteria as a new platform for producing taxol precursors directly from carbon dioxide.

Biotechnology for Biofuels and Bioproducts, *17*(1), 99. https://doi.org/10.1186/s13068-024-02555-9

Zhu, Y., Liang, F., Chai, P., Kampranis, S. C., & Zhao, Y. (2025). Recent Advances in the Biosynthesis and Biotechnological Production of Taxol. *Engineering*. https://doi.org/10.1016/j.eng.2025.12.018