

## **BASES ECOLÒGIQUES PER A LA RECERCA DE NOUS FÀRMACS EN ELS ORGANISMES MARINS**

MARIA J. URIZ

*Centre d'Estudis Avançats de Blanes, CEAB-CSIC.*

Adreça per a la correspondència: Maria J. Uriz. Centre d'Estudis Avançats de Blanes, CEAB-CSIC. Accés a la Cala St. Francesc, 14. 17300 Blanes.

Adreça electrònica: [iosune@ceab.csic.es](mailto:iosune@ceab.csic.es).

### **RESUM**

Hi ha una diversitat extraordinària de molècules bioactives en els éssers vius, les quals han estat utilitzades com a font de medicaments des de l'antiguitat. De fet, la major part dels medicaments que existeixen actualment al mercat són productes naturals o en deriven. Durant els darrers cinquanta anys, la investigació per al desenvolupament de nous fàrmacs a partir de productes naturals s'ha centrat en el mar, un medi poc explorat i amb unes condicions físiques particulars, les quals suggereixen la presència d'estructures químiques noves en els seus habitants. Les interaccions mitjançant substàncies bioactives estan ben esteses entre els organismes marins, ja que el mar ofereix una visibilitat molt inferior a la del medi aeri (terrestre) i a dins seu, per tant, les pistes químiques adquireixen una major rellevància. D'altra banda, a més dels vegetals, al mar s'ha desenvolupat una estratègia de vida animal, absent del medi terrestre. Aquesta estratègia està representada pels invertebrats sedentaris (fixos al fons marí), els quals, per evitar ser recoberts per altres organismes de creixement més ràpid (epibionts) o depredats pels animals mòbils, han desenvolupat una capacitat especial per produir substàncies bioactives de defensa, les quals han resultat tenir un interès potencial en farmacologia. En aquest estudi es descriu com la investigació de nous fàrmacs d'origen marí ha viatjat de la mà de la química de productes naturals i de l'ecologia química, i com aquestes investigacions representen un model en el qual la ciència bàsica i l'aplicada caminen en paral·lel. També, es revisa l'estat actual del coneixement en aquests camps i es mencionen les línies d'investigació actuals i la seva evolució previsible en un futur pròxim.

**Paraules clau:** ecologia química marina, metabòlits secundaris, fàrmacs d'origen marí, invertebrats marins, algues, aplicacions biotecnològiques.

## ECOLOGICAL BASES FOR THE PROSPECTING OF NEW DRUGS FROM MARINE ORGANISMS

### SUMMARY

Natural beings contain an extraordinary diversity of bioactive molecules, which have been used as a source of medicines since the Antiquity. The majority of the available drugs in the market, are or derive from natural products. During the last 50 years, the research for the development of new drugs from natural substances has focused on the marine environment. Marine organisms have been comparatively less explored than terrestrial ones and are thought to produce unusual chemical structures because of the particular physical characteristics of marine waters. The interactions mediated by bioactive substances are widespread among marine beings, since they inhabit a low-visibility environment where the chemical cues become particularly relevant. Moreover, besides vegetables (algae), in the sea, there is an animal form of life that does not exist in the terrestrial environment. This form of life is represented by sessile invertebrates (attached to the sea bottom as adults), which are particularly prone to develop a set of mechanisms to avoid being covered by other fast-growing organisms (epibionts) or predated by mobile animals. Among these mechanisms, the production of defensive chemicals is preponderant, and these chemicals have been found applications in the pharmacological industry. In this study, I describe the way the investigation on new drugs of marine origin has developed in parallel to that on natural products and on chemical ecology and how this research field is a model in which basic and applied sciences go close together. Furthermore, I review the state of the art of the research in these fields and outline the current research topics and their foreseeable evolution in the forthcoming years.

**Key words:** marine chemical ecology, secondary metabolites, marine drugs, marine invertebrates, seaweeds, biotechnological applications.

### INTRODUCCIÓ

Els estudis de química de productes naturals han mostrat la presència d'una gran complexitat i diversitat de molècules bioactives en els éssers vius. Aquesta diversitat de substàncies ha fet que la natura hagi estat la font principal de medicines des de l'antiguitat. De fet, la major part dels medicaments actuals del mercat són productes naturals o en deriven, fet que és particularment cert en el camp de l'oncologia. Un cas paradigmàtic és el de l'aspirina (àcid acetilsalicílic), la qual es va obtenir de l'escorça del salze blanc (*Salix alba*). D'altra banda, la

química de productes naturals s'ha desenvolupat durant els darrers cinquanta anys de la mà de la farmacologia i de l'ecologia química, aquesta última, una ciència relativament moderna, la qual s'ocupa d'estudiar aquelles relacions entre els organismes vius en què estan implicades determinades substàncies químiques.

### INTERACCIONS MITJANÇANT SUBSTÀNCIES QUÍMIQUES

Les substàncies químiques han demostrat ser un mecanisme de comunicació interes-

pecífic i intraespecífic extraordinàriament potent i àmpliament estès en els sistemes terrestres. Un exemple paradigmàtic és el de les complexes relacions entre les plantes i els insectes fitòfags, les quals han rebut una gran atenció dins de la investigació ecològica a causa de les seves implicacions en el control de les plagues del conreu.

Malgrat que hi ha autors que, seguint el creador del terme *alleloquímics* (Molich, 1937), consideren com substàncies *alleloquímiques* totes aquelles implicades en qualsevol tipus d'interacció bioquímica entre organismes, les substàncies bioactives s'han dividit tradicionalment, segons la funció ecològica que desenvolupen, en *feromones*, substàncies involucrades en la comunicació intraespecífica, entre les quals destaquen les implicades en la reproducció sexual o en l'enviament de senyals d'alarma, i *allomones* o *substàncies alleloquímiques*, les quals estan involucrades en les relacions interespecífiques i tenen funcions ecològiques vitals, com ara les relacionades amb la defensa de les espècies que les produeixen. Les primeres solen tenir el seu origen en proteïnes estructurals, pigments fotosintètics, exopolímers com els de la closca dels ous, o mucopolisacàrids, i el seu paper com a missatgers químics pot ser secundari, ja que la seva funció primària és estructural o metabòlica. En canvi, les molècules implicades en la defensa (antidepredació o repel·lència), competència entre espècies, antiparasitisme, etc, i que es coneixen com a *metabòlits secundaris*, poden ser de naturalesa química molt diversa (p. ex., terpens, esteroides, policètids, polifenols, àcids grassos, prostaglandines, flavonoides, alcaloides, quinoines, hidroquinones, etc). En qualsevol cas, aquest segon tipus de molècules, les quals no participen directament en el metabolisme primari de les espècies, presenten propietats biològiques d'interès per al disseny i desenvolupament de nous medicaments.

## EL MAR COM A FONT DE NOUS FÀRMACS

### Per què cal cercar al mar?

El mar ocupa la major part de la superfície del planeta. A dins seu hi ha representats la major part dels grups taxonòmics animals, a més d'una dotzena de filums que són exclusivament marins. En els anys seixanta, al començament de les prospeccions del mar com a font de medicaments, el mar es presentava com un medi potencialment ric en substàncies bioactives i, a diferència del medi terrestre, era pràcticament inexplorat. D'altra banda, les condicions físiques del mar (viscositat, pressió), molt diferents de les del medi terrestre, feien sospitar la presència d'estructures químiques inusuals en els organismes marins. No obstant això, la idea que el mar podia produir substàncies bioactives noves no es va basar en estudis científics contrastats, i així, les primeres campanyes de recollecció d'organismes es van realitzar sense cap criteri selectiu respecte als ambients o als organismes més idonis. La primera recerca extensiva basada en la hipòtesi general que aquestes substàncies tenen un paper en els ecosistemes bentònics i que, per tant, són previsiblement més abundants en uns organismes que en altres i en uns ambients que en d'altres, es va dur a terme al Mediterrani els anys 1989-1990, gràcies a la col·laboració entre l'empresa PharmaMar i el CSIC. Estudis posteriors dels resultats d'aquesta campanya (Uriz *et al.*, 1991, 1992; Ballesteros *et al.*, 1992) van mostrar una distribució i una abundància diferent dels metabòlits bioactius en funció de les característiques de l'ambient, la qual cosa suggeria un paper ecològic d'aquestes molècules en els sistemes marins.

El percentatge més elevat d'espècies bioactives amb interès potencial en farmacologia es va trobar en comunitats d'am-

bients foscos, densament poblats (vegeu la figura 1) i, com a conseqüència d'això, amb una forta pressió competitiva pel substrat (Uriz *et al.*, 1991). Aquests ambients estaven dominats per invertebrats sedentaris de creixement lent, com per exemple, esponges, cnidaris, briozous i ascidis (vegeu la figura 2). Per tant, els invertebrats, i no les algues, van resultar els organismes del bentos més prometedors com a font potencial de nous fàrmacs. Això, que a primera vista podria resultar sorprenent per comparació amb el que es troba al medi terrestre, en realitat s'explica una vegada s'analitzen les funcions ecològiques d'aquest metabòlits al mar.

Les substàncies bioactives d'origen terrestre que s'han utilitzat en farmacologia provenen principalment de microbis i d'organismes eucariotes que no poden desplaçar-se, com és el cas dels vegetals. En el medi marí, a més de microorganismes i vegetals (algues i fanerògames), hi ha una estratègia de vida animal que no existeix al medi terrestre per raons òbvies i que està representada per diversos grups d'inverte-

brats. Es tracta d'animals fixats als substrat, els quals s'alimenten de la matèria orgànica particulada, suspesa en la columna d'aigua (Sarà i Vacelet, 1973). Aquests animals, filtradors o suspensívors, que, a diferència de la majoria de les algues solen créixer lentament, necessiten mantenir la seva superfície de filtració lliure (vegeu la figura 3) d'altres organismes (no cal recordar la rapidesa amb la qual qualsevol superfície inerta introduïda en el mar és colonitzada pels bacteris, les espores d'algues i diversos tipus de larves). D'altra banda, ja que es tracta d'organismes que no poden fugir dels possibles depredadors, han hagut de desenvolupar altres estratègies que evitin o redueixin la seva depredació (vegeu la figura 4). La conseqüència d'aquesta necessitat evolutiva d'establir sistemes de defensa alternatius als de la major part dels animals mòbils ha estat la producció d'un gran arsenal de substàncies bioactives, els mecanismes d'acció de les quals troben una aplicació en farmacologia.

### La «guerra química» al mar: perjudicis i beneficis per a l'home

La primera familiarització de la societat amb les substàncies alleloquímiques marines té lloc unida a circumstàncies tràgiques. Certes substàncies de defensa, especialment algunes produïdes pels organismes del plàncton, són conegudes a tot arreu pels terribles efectes ocasionats en l'home després de la seva ingestió accidental mitjançant els peixos (cigatera de les regions de l'Indopacífic), crustacis o mol·luscs (especialment musclos i ostres) que, al seu torn, n'havien ingerit. Es coneixen al voltant de vint mil tipus de toxines marines, les quals afecten l'home i ocasionen al voltant de cent cinquanta morts anuals (Russell, 1984). Alguns dinoflagel·lats (principalment dels gèneres *Gymnodinium* i *Protogonyaulax*), la

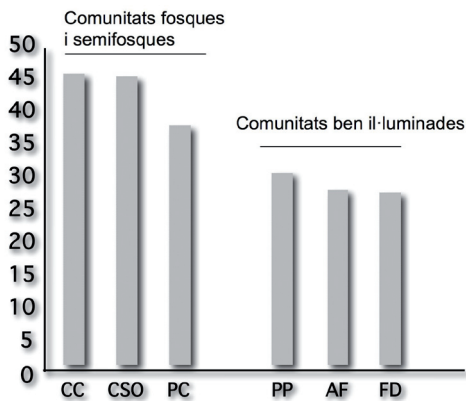


FIGURA 1. Percentatge d'espècies bioactives (amb interès potencial en farmacologia) en les principals comunitats mediterrànies. CC: comunitat corallígena; CSO: coves semifosques; PC: comunitat precorallígena; PP: praderia de *Posidonia*; AF: algues fotòfiles; FD: fons detrítics (Uriz *et al.*, 1991).

proliferació dels quals es dona circumstancialment (*blooms*), produeixen una potent toxina que mata els peixos i altres animals de l'àrea del *bloom*. Aquesta toxina pot acumular-se en esglaons tròfics superiors, i així arriba fins a l'home.

Encara que els casos de producció de tòxics naturals, coneguts com a *marees roges*, són els més espectaculars per la seva repercussió en la població humana, no són els únics ni els més interessants, tant des del punt de vista ecològic com aplicat. Centenars d'altres substàncies, molt més críptiques, són investigades a diferents nivells o formen part de la cartera d'empreses d'I+D especialitzades, pel seu ús en aplicacions biotecnològiques i, molt especialment, en el desenvolupament de nous fàrmacs per al tractament de malalties de curació difícil, tant de l'home com dels seus animals domèstics (Faulkner, 1984-2002).

Les substàncies bioactives d'origen marí s'han investigat tradicionalment des de tres perspectives: *a*) la recerca d'aplicacions (biotecnologia), *b*) l'estudi de la seva estructura química (química de productes naturals) i *c*) el seu paper ecològic en els ecosistemes marins (ecologia química marina). Els descobriments en cada un dels tres camps són necessaris per al progrés dels altres, per la qual cosa s'han desenvolupat noves aproximacions pluridisciplinàries amb resultats molt satisfactoris (vegeu la figura 5). Per exemple, les investigacions ecològiques de les condicions ambientals que indueixen o inhibeixen la producció d'un metabòlit bioactiu serveixen per optimitzar la recerca i recollecció de l'organisme productor, i permeten seleccionar els ambients i les èpoques més favorables. Igualment, el coneixement del mode d'acció d'un metabòlit bioactiu enfront els microbis patògens o les cèl·lules tumorals aporta informació sobre els processos bioquímics que li permeten controlar les poblacions de microbis simbiòntics o inhibir el creixement de formes em-

brionàries de possibles competidors, objectius ambdós de l'ecologia química. D'altra banda, la recerca sistematitzada de bioactivitats d'interès aplicat ha permès descobrir aspectes de la distribució ecològica de les substàncies o activitats, així com detectar associacions entre espècies susceptibles d'estar produïdes per substàncies químiques, les quals han estat posteriorment objecte de les investigacions ecològiques.

### Variació natural en la producció de metabòlits bioactius

Les defenses químiques es divideixen convencionalment en constitutives i induïbles. Es parla de defenses constitutives quan es produeixen en qualsevol circumstància, fins i tot en absència de competidors o predadors, i s'hipotetitza que la quantitat

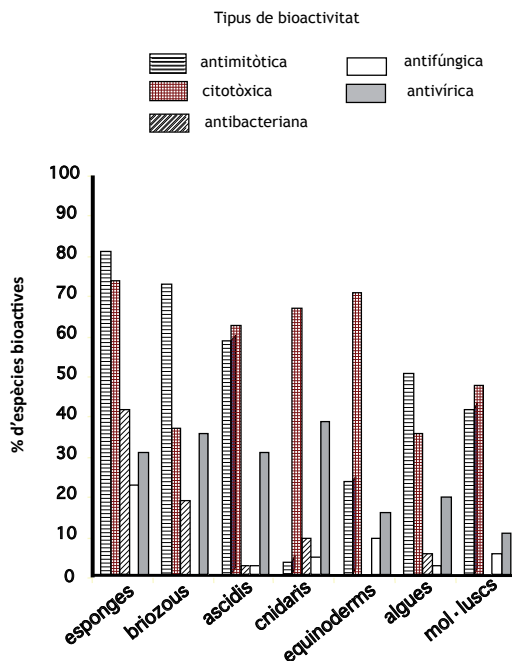


FIGURA 2. Distribució per tàxons de les principals activitats farmacològiques de les molècules obtingudes a partir de macroorganismes mediterranis durant la campanya PHARMAMAR-CSIC-1989.



d'aquestes defenses estaria determinada genèticament. Pel contrari, les induïbles només es produïrien en presència de factors adversos (p. ex., depredadors, competidors,



FIGURA 3. Com es pot evitar ser recobert quan es viu fix al substrat al mar? a) Plaques de Petri recobertes per algues i invertebrats després d'un mes d'immersió al mar; b) i c) superfície d'una esponja i d'un ascidi de més de dos anys de vida, totalment lliures de *fouling* gràcies a la producció de molècules bioactives (Uriz i Casamayor, 2007).

patògens) i són les que contribuirien, en major grau, a les variacions observades.

Encara que no ha estat comprovat experimentalment en organismes marins, hi ha evidències indirectes que permeten suposar que la producció de metabòlits secundaris és costosa des del punt de vista metabòlic. Segons la teoria de la defensa òptima, formulada per a plantes terrestres (Rhoades i Cates, 1976; Rhoades, 1979), els organismes haurien de prioritzar la dedicació dels recursos disponibles a la producció d'aquestes substàncies o a altres funcions, com ara el creixement o la reproducció, depenent de les seves necessitats, de manera que, fins i tot les defenses constitutives podrien disminuir notablement en benefici d'altres processos metabòlics (p. ex., Uriz *et al.*, 1995). Un estudi de la depressió de les defenses químiques en una esponja marina assenyalava l'estrès cel·lular com a responsable, ja que l'augment de les proteïnes d'estrès (HSP) induïdes sota condicions adverses (p. ex., en presència de contaminants) es correlaciona negativament amb la producció de substàncies bioactives (Agell *et al.*, 2001).

Entendre la distribució geogràfica i ecològica dels metabòlits secundaris a diferents escales espacials i temporals, a més d'ajudar a comprendre els processos evolutius que han modelat les defenses químiques en el mar, contribueix a l'optimització de la recerca de molècules candidates per a diverses aplicacions biotecnològiques. S'ha avançat la hipòtesi que les defenses químiques han de ser més potents i estar més esteses en ambients on la pressió depredadora és més forta, com succeeix a les zones tropicals (Bakus i Green, 1974; Menge i Lubchenko, 1981; Bolser i Hay, 1996). Encara que hi ha estudis de grups taxonòmics concrets que mostren una bioactivitat major en espècies tropicals respecte als seus congèneres de zones temperades, la hipòtesi general ha estat falsejada en estudis d'altres grups, com ara les esponges, les quals han mostrat

una distribució similar de les defenses en mars tropicals i temperats (Becerro *et al.*, 1997). Els estudis comparatius actuals són clarament insuficients per poder establir

generalitzacions consistents. D'altra banda, els metabòlits bioactius poden realitzar simultàniament diverses funcions (Schmitt *et al.*, 1995; Becerro *et al.*, 1997), i així doncs,

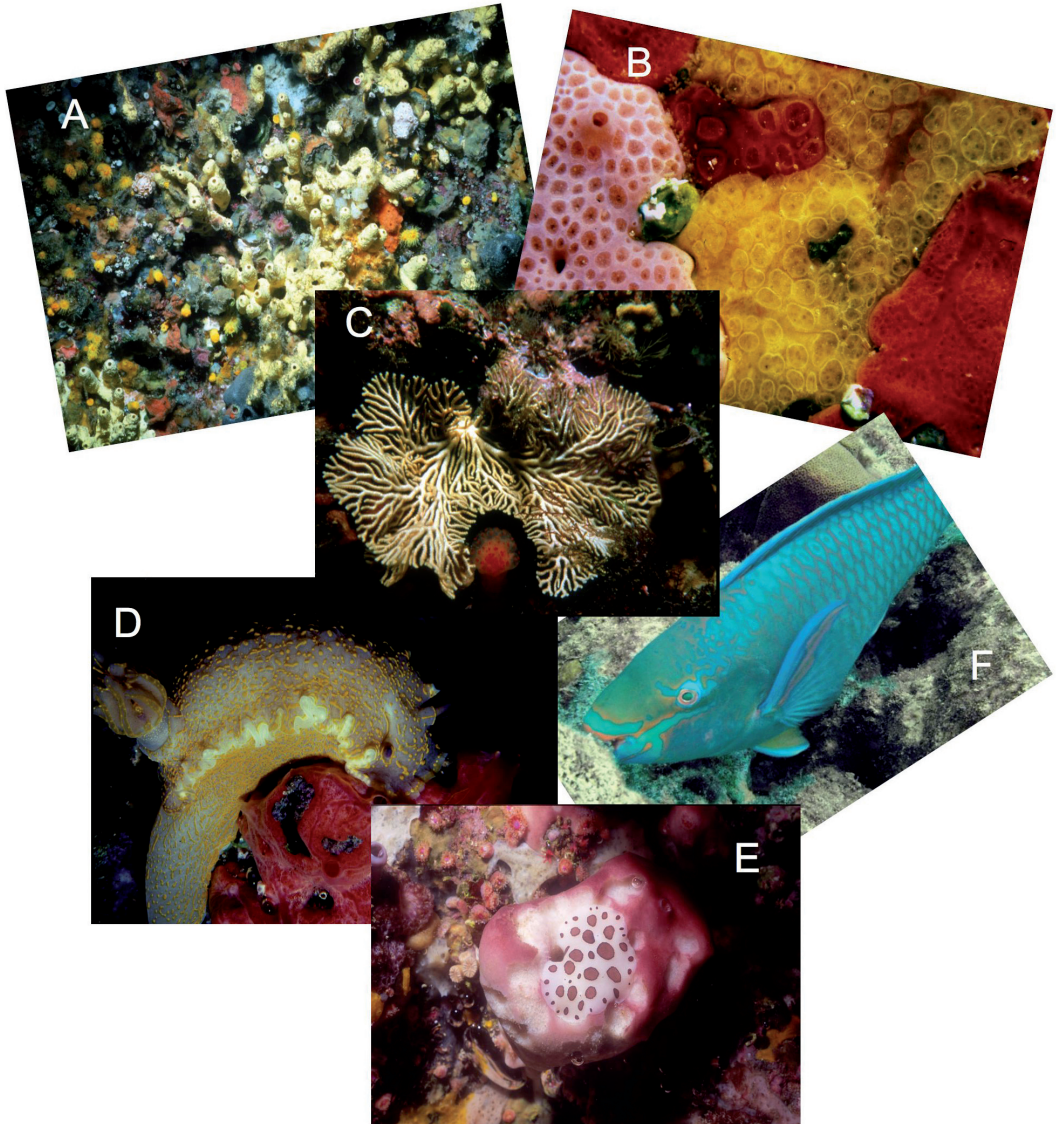


FIGURA 4. On es poden buscar medicaments al mar? L'ecologia ens en dona les pistes. a) Zones d'alta competència pel substrat rocós, com ara l'entrada de les coves submarines dominades per esponges i cnidaris; b) quatre espècies diferents d'esponges coexistent en un àrea de  $20 \times 20$  cm, gràcies a les interaccions mitjançant substàncies bioactives; c) l'alliberament de metabòlits bioactius permet a l'ascidi (vermell) evitar el creixement al seu voltant d'altres invertebrats, com el briozou de la fotografia; d), e) i f) dos dels principals depredadors del invertebrats sedentaris al mar: mol·luscs sense closca (opistobranquis) i peixos. Modificat de diverses fonts.

les hipòtesis evolutives de les defenses químiques, formulades exclusivament d'acord amb la pressió depredadora, són clarament inadequades.

L'abundància de substàncies bioactives no tan sols varia entre comunitats, regions geogràfiques o espècies d'un mateix gènere. Hi ha també una gran variació intraespecífica, tant en el medi marí (Martí, 2004) com en el terrestre, en què el seu coneixement és fonamental per gestionar el control de plagues dels conreus. La variabilitat intraespecífica en la producció d'una substància bioactiva és necessària perquè aquesta pugui desenvolupar una funció ecològica efectiva. La producció d'una quantitat constant d'una substància amb propietats defensives afavoriria la coevolució d'un nombre major de depredadors o de competidors amb mecanismes per adaptar-se al tòxic. Com a resultat, la producció d'aquesta substància deixaria de suposar un avantatge ecològic

per a l'espècie productora i, conseqüentment, seria eliminada en el curs de l'evolució.

Alguns exemples poden il·lustrar la magnitud del rang de la variació intraespecífica. La briostatina, un potent anticancerígen procedent del briozou *Bugula neritina*, només es va trobar en alguns exemplars dels molts recollectats per als assaigs farmacològics preclínic. Aquesta variació es va atribuir, en un principi, a diferències genètiques entre poblacions, fins que es van aïllar els gens implicats en la seva producció en un bacteri simbiònt del briozou, l'abundància del qual variava en les diferents poblacions de briozou. L'esponja *Ircinia variabilis*, la qual produeix *palinurina* (furanosesterterpè) en diverses quantitats en funció de l'ambient en el qual viu (Martí *et al.*, 2003), és molt tòxica en primavera, a les zones més confinades de les coves del sublitoral mediterrani, mentre que resulta

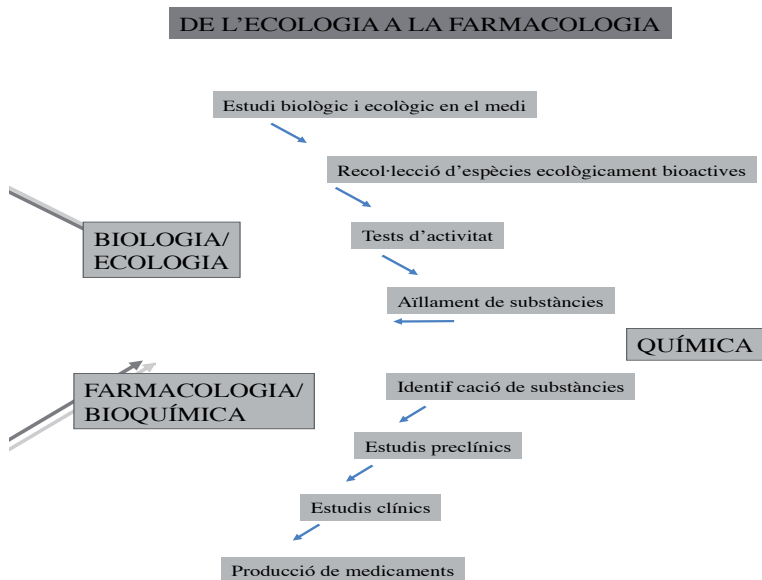


FIGURA 5. De l'ecologia a la farmacologia: principals passos en el descobriment d'un nou medicament a partir d'organismes marins. Taxonomia, ecologia, química orgànica, biologia, bioquímica i farmacologia (la majoria ciències bàsiques) es combinen durant el llarg procés de produir nous medicaments.



inofensiva a les zones exteriors. En aquest cas, la variació en la toxicitat sembla que és deguda exclusivament a factors ambientals, ja que les mateixes poblacions inverteixen la tendència a la tardor, quan els individus més tòxics són els de les zones exteriors de les coves (Martí, 2004).

Diferenciar el component fenotípic del genotípic en les variacions observades seria de gran interès per a la selecció dels clons i de les condicions ambientals que afavoreixen la producció dels metabòlits bioactius quan es preveu la producció massiva d'un metabòlit per a l'aplicació en farmacologia. A part dels aspectes genètics, encara mal coneguts (objectiu d'alguns projectes d'investigació en curs al CSIC, Catalunya), s'han pogut identificar diversos factors que indueixen o inhibeixen la producció de defenses químiques. L'esporgada deguda a petits animals com els amfípodes, crustacis fitòfags que poden alimentar-se durant molt temps d'un mateix individu sense matar-lo, indueix la producció de les defenses químiques en les algues (Cronin i Hay, 1996). En altres casos, es produeix l'activació d'un metabòlit precursor, inòcua a l'interior de l'organisme productor, en ser alliberat i exposat al medi extern (Ebel *et al.*, 1997). El coneixement dels mecanismes que indueixen la transformació d'una molècula inactiva en una altra d'extraordinàriament bioactiva és d'interès especial en el disseny de fàrmacs a partir de molècules d'origen natural.

Les defenses químiques també varien al llarg del cicle biològic d'una espècie. Hi ha espècies particularment ben defensades durant els períodes més vulnerables de la seva vida, com ara les fases juvenils (algues), embrionàries o larvàries, com postes de nudibrànquis o poliquets (Martin *et al.*, 2000). D'altres vegades, pel contrari, les defenses no existeixen en els estats larvaris, i augmenten a mesura que l'individu és més vell. Això s'ha comprovat en algunes

esponges (Uriz *et al.*, 1996) i ascidis (Tarjuelo, 2001) i aquest coneixement resulta d'interès per a la recollecció selectiva de les fases més actives de les espècies diana, tant en poblacions naturals com en els cultius al laboratori.

## ESTAT ACTUAL I NOUS REPTES DE LA INVESTIGACIÓ DE LES MOLÈCULES BIOACTIVES MARINES

### Investigació bàsica: ecologia química

La vista desenvolupa un paper preponderant en la nostra percepció de la natura. La major part dels estudis ecològics es basen en l'observació, tant d'aspectes naturals com dels resultats experimentals (Becerro, 1994). Així, descrivim espècies, associacions, creixement d'individus, taxes de mortalitat, depredació, processos i canvis, i comparem tots aquests descriptors en diverses condicions ambientals. Darrere moltes d'aquestes observacions, però, i fins i tot d'aspectes ecològics descrits fa centenars d'anys, s'amaguen mecanismes d'interacció química, en general encara mal coneguts.

El desenvolupament de l'ecologia química en els darrers quinze anys (McClintock i Baker, 2001) ha estat impulsat per les inversions de les empreses farmacològiques, cada vegada més interessades a conèixer nous aspectes de la biologia i ecologia de les espècies productores dels metabòlits d'interès. L'ecologia química és pluridisciplinària en essència, perquè les interaccions mitjançant substàncies químiques són complexes i el seu estudi ha d'abordar-se des de l'escala molecular fins a la d'ecosistema. Taxònoms, zoòlegs, ecòlegs marins, bioquímics, biòlegs cel·lulars i químics de productes naturals s'han associat de manera espontània o induïts per les necessitats de les empreses

farmacèutiques i, mitjançant aproximacions pluridisciplinàries, han produït avenços significatius en el coneixement de l'ecologia química marina.

Molts estudis s'han inspirat en els coneixements ja adquirits de l'ecologia química terrestre, particularment en les paradigmàtiques relacions insecte-planta. Es troben, però, amb les dificultats inherents a un medi més advers que el terrestre, en el qual els experiments estan limitats per problemes logístics (curt temps i falta de perspectiva de les observacions, naturalesa física del medi, etc).

Encara que la funció ecològica o biològica de la majoria dels metabòlits secundaris marins continua sent desconeguda, s'ha demostrat que algunes d'aquestes substàncies tenen un paper decisiu en la defensa dels organismes enfront dels depredadors, competidors, larves i espores que s'installeu en les seves superfícies i els microorganismes patògens. D'altres molècules intervenen en aspectes relacionats amb la reproducció, o representen pistes químiques per a la selecció del substrat adequat per a l'assentament i reclutament de nous individus.

### **Metabòlits bioactius en la defensa contra els depredadors**

La depredació és una de les fonts de mortalitat més important en les comunitats naturals, i n'influencia notablement l'estructura i la dinàmica. Entre les diferents funcions ecològiques atribuïdes als metabòlits secundaris, les defenses antidepredació són les més fàcils d'estudiar mitjançant aproximacions experimentals. Els metabòlits poden extreure's de les espècies que els produeixen, incloure's en aliments experimentals i ser oferts als consumidors potencials del mar (Becerro *et al.*, 2003). La resposta és immediata, amb la qual cosa, en un curt període de temps es pot saber

si els productes inhibeixen o disminueixen el consum respecte al d'un aliment control. S'ha vist que les defenses produïdes per una espècie poden protegir indirectament altres espècies que viuen en relació estreta amb la productora dels metabòlits defensius. És el cas de petits invertebrats, com poliquets o amfípodes, que eviten ser depredats quan viuen entre algues o esponges protegides químicament, o altres (principalment nudibrànquis) que han evolucionat per alimentar-se de l'organisme defensat químicament, segrestar el metabòlit actiu, concentrar-lo o fins i tot modificar-lo a fi d'augmentar-ne l'activitat.

### **Metabòlits bioactius en la competència per l'espai**

Alguns organismes del bentos produeixen metabòlits que impedeixen la fixació de larves o espores al damunt de la seva superfície, o bé són tòxics o inhibeixen alguna funció biològica dels possibles competidors. El coneixement dels papers dels metabòlits secundaris en la competència per l'espai ha avançat poc a causa de la dificultat de realitzar experiments en condicions realistes (p. ex., és difícil trobar un substrat en el qual es puguin incloure els metabòlits sense que se n'alteri l'estructura química, no en varii l'activitat i s'alliberin en concentracions similars a les de les condicions naturals. Per tant, la majoria dels estudis existents són correlacionals o es basen en experiments de laboratori, els quals no permeten l'extrapolació dels resultats al medi natural. En algunes comunitats en les quals el substrat està saturat, com és el cas dels esculls de corall o la comunitat corallígena del Mediterrani, les interaccions mitjançant substàncies químiques es preveuen particularment importants en la seva estructuració i funcionament.

La identificació de xarxes d'interacció

mitjançant substàncies químiques és complexa i, per tant, aquestes interaccions s'han tractat d'estudiar de manera indirecta. La localització dels metabòlits en la superfície de l'espècie «agressiva» és un indicador del seu alliberament a l'exterior, condició necessària perquè actuïn contra els competidors pròxims o en contacte directe. Són pocs els estudis que han localitzat els metabòlits secundaris en els invertebrats sèssils o les algues. Alguns d'aquests estudis, realitzats a Catalunya (Uriz *et al.*, 1996; Turon *et al.*, 2000), han estat pioners en la identificació de les cèl·lules responsables de la producció o emmagatzematge de substàncies bioactives, i han mostrat la seva concentració en la proximitat dels canals exhalants i de la superfície de les esponges, així com el seu alliberament progressiu al medi. Són necessaris més estudis d'aquest tipus, juntament amb una experimentació ben dissenyada per avançar en el coneixement dels papers *antifouling* i de competència pel substrat d'aquests metabòlits.

### **Automedicació en els organismes marins?**

Els metabòlits amb activitat antimicrobiana són molt freqüents en els organismes marins, i produir els antibiòtics propis podria ser una bona estratègia per evitar infeccions. No obstant això, i encara que l'eficàcia contra bacteris, fongs i virus, tant marins com patògens, de molts metabòlits marins, ha estat repetidament provada (p. ex., Uriz *et al.*, 1991; Ballesteros *et al.*, 1992; Becerro *et al.*, 1995), no existeixen proves incontestables que la seva funció natural en l'organisme sigui la de controlar les infeccions per part de microbis patògens. Al contrari, s'apunta com a paper més probable el control de l'abundant flora simbiòtica de molts invertebrats, ja que, sense un mecanisme de control, quan les condicions ambientals

canvien de manera inusual (p. ex., un augment de la temperatura), es podrien produir explosions microbianes amb un desenllaç fatal per a l'invertebrat.

### **Les pistes químiques**

La transparència de l'aigua és considerablement menor que la de l'aire i, com a conseqüència, la visibilitat en el medi marí és notablement reduïda en relació a la del medi terrestre. A més, molts dels invertebrats marins no disposen d'un sistema de visió desenvolupat que els permeti processar estímuls lumínics. Tot això fa que les pistes químiques adquireixin una rellevància particular per a l'orientació dels animals al mar. La percepció sensorial dels senyals químics determina, en gran manera, processos vitals tan decisius per a la supervivència de les espècies com la recerca d'aliment, la reproducció, l'agregació i la selecció de l'hàbitat.

Un dels papers ecològics de les substàncies bioactives marines menys conegut és el que tenen en la selecció, per part de les larves i juvenils, de l'hàbitat apropiat per al reclutament. Se sap que en alguns casos, aquestes substàncies són produïdes per conoespecífics (com el cas de les ostres, *Ostrea* spp.) o per certes algues de l'ambient on viuen els adults (com el cas de l'orella de mar *Haliotis* spp.), però es desconeix com succeeix en la majoria d'invertebrats i peixos.

### **Investigació aplicada: recerca de nous fàrmacs**

El 1967, el simposi «Medicines del mar», que va tenir lloc a la Universitat de Rhode Island, va emfatitzar la potencialitat del mar com a font de nous fàrmacs. Des de llavors, s'han aïllat més de deu mil molècules (vegeu la figura 6) a partir de micro-

organismes (bacteris, fongs, cianobacteris, fitoplàncton), algues macroscòpiques i invertebrats marins (esponges, poliquets, equinoderms, briozous, ascidis), de les quals, un 0,1 % (cent molècules) són úniques des del punt de vista estructural i exhibeixen bioactivitats potencialment aplicables en la indústria farmacològica (McClintock i Baker, 2002). Com a exemple paradigmàtic de la gran diversitat de molècules en els organismes marins, podem citar el cas de les algues del gènere *Laurencia*, en les espècies del qual s'han descrit més de cinc-cents terpens diferents, pertanyents a almenys vint-i-sis classes estructurals distintes.

No obstant això, cap de les deu mil molècules descobertes des de 1967 ha arribat a ser comercialitzada com a medicament. Possiblement, fruit de les dificultats trobades en aquest camp, la investigació de nous medicaments d'origen marí ha sofert una desacceleració en els últims anys del segle passat i primers d'aquest, seguint la tendència general en la investigació de nous medicaments (*drug discovery*) (Kennedy, 2004). No ha estat fins a aquests últims tres anys que el somni de la «farmàcia del mar» sembla començar a fer-se realitat, amb unes deu molècules d'origen marí en fase d'assaigs clínics (contra malalties com el càncer,

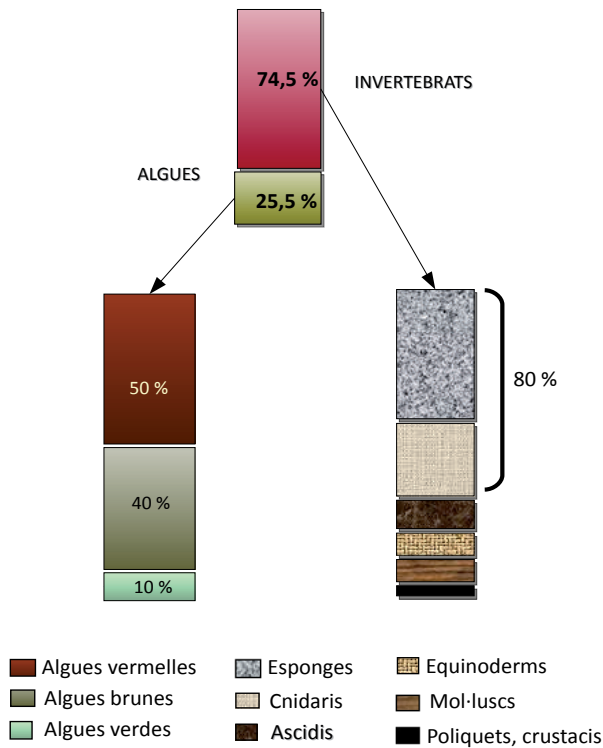


FIGURA 6. De les més de deu mil molècules bioactives identificades de macroorganismes del mar, la majoria (74,5 %) provenen dels invertebrats, i la resta de les algues. Entre els invertebrats, els sedentaris (esponges, cnidaris i ascidis), han donat el 80 % de les molècules conegudes, i la resta correspon als mol·luscs, equinoderms, crustacis i poliquets. D'altra banda, el 50 % dels metabòlits obtinguts de plantes provenen de les algues vermelles (rodòfits) i el 40 % de les algues brunes (feòfits) (McClintock i Baker, 2001).



l'Alzheimer, i l'esquizofrènia) i moltes altres en assaigs preclínic (vegeu l'article següent d'aquest volum).

S'han obtingut metabòlits del mar a partir de microorganismes (bacteris heteròtrofs, cianobacteris, fitoplàncton), algues macroscòpiques i invertebrats, els quals han resultat actius en assaigs preclínic contra malalties com el càncer, la sida o l'osteoporosi, a més d'uns altres amb efectes calmants, antiinflamatoris, inhibidor enzimàtics, antibacterians o antivírics (Fusetani, 2000). Però encara que el nombre de substàncies candidates trobades és molt alt i s'aïllen noves estructures químiques, existeixen seriosos obstacles que frenen el desenvolupament de medicines a partir de productes naturals marins (Fusetani, 2000).

En primer lloc, molts dels metabòlits bioactius més prometedors són altament tòxics, la qual cosa resulta problemàtica per utilitzar-los com a fàrmacs. Es podrien modificar els compostos originals per disminuir-ne la toxicitat o incrementar l'activitat desitjada, però el procés és costós i no sempre viable. A més, la majoria dels compostos d'interès presenten estructures complexes que fan econòmicament inviable la seva síntesi en el laboratori. Com a conseqüència, s'han d'obtenir a partir dels organismes productors, almenys durant les fases experimentals, preclíniques i clíniques. Finalment, aquestes substàncies es troben normalment a concentracions baixes (al voltant de  $10 \times 10^{-6}$  en pes humit) en uns organismes generalment de creixement lent, l'abundància dels quals no permet una recollecció massiva sense esgotar les poblacions.

Com a exemple representatiu de la problemàtica, podem esmentar el metabòlit halicondrina B, un potent antitumoral, fins i tot a concentracions de nanograms, produït per l'esponja *Lissodendoryx* spp. Es disposa de 300 mg d'aquesta substància, extrets a partir d'una tona d'esponja. Es necessitarien deu grams d'halicondrina per als assaigs

clínic, fet que representaria recollir unes quinze tones de l'esponja, la qual és endèmica de Nova Zelanda. Una exploració dels fons va permetre estimar-ne l'abundància total en unes dues-centes noranta tones, cosa que fa inviable pensar en la comercialització del producte a partir de les poblacions naturals. D'altra banda, la síntesi de la molècula completa en el laboratori és impensable per la seva complexitat, per la qual cosa es va sintetitzar la part més activa per als assaigs clínics. Aquest és un de tants casos en els quals el desenvolupament com a medicament d'un metabòlit d'origen marí ha de buscar vies alternatives a la de la recollecció de l'organisme productor.

Malgrat els avenços de la genòmica, proteòmica, metagenòmica i de la síntesi combinatòria, que semblen prometre vies més eficaces, el cultiu de les espècies productores dels metabòlits d'interès es presenta, ara com ara, com l'única alternativa a la recollecció de les poblacions naturals. No obstant això, les espècies que produeixen els metabòlits més interessants són generalment de creixement lent i estan evolutivament adaptades a un hàbitat particular, per la qual cosa viuen malament en condicions artificials. Molts invertebrats contenen en el seu interior microorganismes simbiòtics, els quals també produeixen metabòlits d'interès. El cultiu d'aquests microorganismes podria reduir el problema del creixement lent que presenten els invertebrats, però els intents realitzats fins ara han fracassat, tant en l'aïllament (per la inseguretats sobre si el microorganisme aïllat és realment el simbiònt) com en el cultiu. Els aspectes d'identificació estan actualment solucionats gràcies al desenvolupament de les eines moleculars, però el cultiu de les espècies diana és encara un repte a causa dels requeriments específics d'aquests bacteris, difícil, si no impossibles de reproduir fora de l'organisme hoste.

L'aqüicultura d'esponges i ascidis en el

mar s'està assajant amb diferents resultats en estats com Espanya, Nova Zelanda i els EUA. En qualsevol cas, els riscos econòmics que comporta, a causa de les epidèmies i temporals, no permeten aconsellar l'aqüicultura com a base exclusiva de la producció, sinó en tot cas per al subministrament de biomassa durant els estudis preclínic i clínic. Els cultius cel·lulars en bioreactors serien més desitjables, però els intents realitzats fins ara en alguns grups com les esponges no semblen excessivament prometedors. En primer lloc, s'haurien d'aconseguir línies cel·lulars contínues, cosa que resulta molt difícil quan es tracta d'invertebrats marins. Per tant, en cap cas és realista preveure una escala de processos per cobrir les necessitats de la indústria farmacèutica, ja que s'han de millorar prèviament aspectes tecnològics i aprofundir en l'ecologia, biologia i genètica de les espècies les línies cel·lulars de les quals es pretenen cultivar.

### El futur proper

L'ecologia química marina és una ciència relativament jove, amb un ampli camp de possibilitats en la investigació, tant de caràcter bàsic com aplicat. L'interès de les molècules bioactives del mar per a la indústria del medicament fa preveure la continuació de les inversions en aquest camp, fet que inevitablement seguirà impulsant les investigacions en ecologia química marina. Les investigacions actuals i les del futur pròxim estan obligades a preveure des d'aspectes moleculars (identificació de vies metabòliques, enzims i gens que regulen la producció de les substàncies bioactives) i d'enginyeria genètica (p. ex., transfecció de gens a cèl·lules procariotes o eucariotes), a aspectes ecològics (aproximacions experimentals holístiques), ja que l'expressió genètica i la consegüent producció dels metabò-

lits no és independent dels factors biòtics i abiòtics del medi.

Noves aproximacions conceptuals i noves aportacions tecnològiques permetran una experimentació en condicions més realistes, cosa que produirà un avenç substancial en la comprensió de les interaccions mitjançant substàncies químiques en el medi marí. Els estudis sobre els efectes de l'ambient i de la fisiologia de les espècies en els processos de biosíntesi o les relacions entre els invertebrats i la seva nombrosa biota simbiòtica, ambdós temes amb implicacions evolutives, continuaran sent de la màxima actualitat. És esperable que les anàlisis químiques, gràcies a una major versatilitat i capacitat de resolució de la instrumentació analítica, puguin reduir la manipulació de les mostres, i això evitarà l'alteració de compostos inestables i assegurarà la detecció d'un major nombre de metabòlits d'interès, tant en l'ecologia de les espècies com en les seves aplicacions.

Un esment particular mereixen les investigacions dirigides a l'estudi dels efectes dels metabòlits en el plàncton, molt poc coneguts, i que han resultat clau en el control de l'estructura de certs ecosistemes mitjançant efectes «cascada», com el que va produir la proliferació de dinoflagel·lats tòxics en les ostres i, com a conseqüència, la desaparició de les llúdrigues i la proliferació dels eriçons, els quals van acabar amb les algues d'una extensa zona de la costa del Pacífic nord-americà (Schmitt *et al.*, 1995).

Finalment, i com a primer objectiu de la investigació aplicada a l'obtenció de nous fàrmacs, és urgent trobar un sistema de producció que garanteixi el subministrament de la substància diana, bé a partir de suficient biomassa de les espècies d'interès, bé a partir de clonatge, transfecció o semisíntesi química, per tal d'assegurar la viabilitat de tot el procés de la investigació biomèdica i la comercialització del medicament. El cultiu de les espècies diana es presenta com

una alternativa a la recollecció i la síntesi dels metabòlits bioactius, però requereix un coneixement i control més grans de les condicions de cultiu apropiades, fet que comporta aprofundir en la biologia, ecologia i genètica de les espècies. Trobar un equilibri entre divisió i diferenciació en els cultius de línies cellulars d'invertebrats marins és encara un repte que la utilització de cèl·lules mare o embrionàries podria ajudar a solucionar (De Caralt *et al.*, 2007).

L'estudi de l'assignació dels recursos dels organismes a les seves diferents funcions biològiques (p. ex., Uriz *et al.*, 1995) i la manipulació ambiental o genètica per al desviament dels recursos envers termes d'interès de l'equació metabòlica (p. ex., la producció de metabòlits bioactius) serà un tema important per optimitzar els cultius en els propers anys. La genètica, sens dubte, contribuirà decisivament al desenvolupament de les aplicacions biotecnològiques de les substàncies bioactives, gràcies a la possibilitat de seleccionar clons particularment productius. L'enginyeria genètica possibilitarà la transfecció dels gens implicats en les vies metabòliques dels metabòlits d'interès a cèl·lules procariotes amb alta capacitat de divisió. La metagenòmica, encara en la seva infantesa pel que fa a l'ús per a la recerca de noves molècules bioactives, sembla prometedora però, com ha succeït amb altres camps de les aplicacions genètiques, la seva utilització realista pot necessitar encara diversos anys d'investigació.

## BIBLIOGRAFIA

- AGELL, G.; URIZ, M. J.; CEBRIÁN, E.; MARTÍ, R. (2001). «Does stress protein induction by copper modify natural toxicity in sponges?». *Environ. Tox. Chem.*, 20: 2588-2593.
- BALLESTEROS, E.; MARTIN, D.; URIZ, M. J. (1992). «Biological activity of extracts from some Mediterranean macrophytes». *Botanica Mar.*, 35: 481-485.
- BECERRO, M. A. (1994). *From cell to populations: ecology of the Mediterranean sponge Crambe crambe*. Barcelona: Universitat de Barcelona. [Tesi doctoral]
- BECERRO, M. A.; LOPEZ, N. I.; TURON, X.; URIZ, M. J. (1994). «Antimicrobial activity and surface bacterial film in marine sponges». *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 179: 195-205.
- BECERRO, M. A.; THACKER, R. W.; TURON, X.; URIZ, M. J.; PAUL, V. J. (2003). «Biogeography in chemical ecology: temperate vs. tropical sponge defenses». *Oecologia*, 135: 91-101.
- BECERRO, M. A.; TURON, X.; URIZ, M. J. (1997). «Multiple functions for secondary metabolites in encrusting sponges». *J. Chem. Ecol.*, 23: 1527-1547.
- BOLSER, R. C.; HAY, M. E. (1996). «Are tropical plants better defended? Palatability and defenses of temperate vs. tropical seaweeds». *Ecology*, 77: 2269-2286.
- CARALT, S. DE; URIZ, M. J.; WIJFFELS, R. (2007). «Sponge cell culture for biomass supply: new approaches». *Trends in Biotechnology*, 26: 467-471.
- CRONIN, G.; HAY, M. E. (1996). «Induction of seaweed chemical defenses by amphipod grazing». *Ecology*, 77: 2287-2301.
- EBEL, R.; BREZINGER, M.; KUNZE, A.; GROSS, H. J.; PROKSCH, P. (1997). «Wound activation of protoxins in marine sponge *Aplysina aerophoba*». *J. Chem. Ecol.*, 23: 1451-1462.
- FAULKNER, J. (1984-2002). «Marine natural products». *Nat. Prod. Rep.*
- FUSETANI, N. (2000). *Drugs from the Sea*. Basilea: Karger.
- KENNEDY, D. (2004). «Drug Discovery». *Science*, 303: 1717.
- MARTÍ, R. (2002). *Spatial and temporal variation of the natural toxicity in benthic communities of Mediterranean caves*. Barcelona: Universitat de Barcelona. [Tesi doctoral]
- MARTÍ, R.; FONTANA, A.; URIZ, M. J. (2003). «Quantitative assessment of natural toxicity in sponges: toxicity bioassay versus compound quantification». *J. Chem. Ecol.*, 29: 1307-1318.
- MARTIN, D.; LE NOURICHEL, C.; URIZ, M. J.; BHAUD, M.; DUCHÊNE, J. C. (2000). «Ontogenic shifts in chemical defenses of the NW mediterranean sea *Eupolyommia nebulosa* (Polychaeta, Terebellidae)». *Bull. Mar. Sci.*, 67: 287-298.
- MCCLINTOCK, J. B.; BAKER, B. J. (2001). *Marine Chemical Ecology*. Boca Raton: CRC Press.
- RHOADES, D. F. (1979). «Evolution of plant chemical defense against herbivores». A: ROSENTHAL, G. A.; JANZEN, D. H. [ed.]. *Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites*. Nova York: Academic Press: 4-54.
- RHOADES, D. F.; CATES, R. G. (1976). «Towards a general

- theory of plant antiherbivore chemistry». *Recent Advances in Phytochemistry*, 10: 168-213.
- SARÀ M.; VACELET, J. (1973). «Ecologie des éponges». A: GRASSÉ, P. P. [ed.]. *Traité de Zoologie. I Sponges*. Paris: Masson.
- SCHMITT, T. M.; HAY M. E.; LINDQUIST, N. (1995). «Constraints on chemically mediated coevolution: Multiple functions for seaweed secondary metabolites». *Ecology*, 76: 107-123.
- SPONGE CULTURE MEETING. (2001). *Program and Abstracts*. Wageningen (1-20 de juny).
- STACHOWICZ, J. J.; HAY, M. E. (1999). «Reducing predation through chemically mediated camouflage: indirect effects of plant defenses on herbivores». *The Ecological Society of America*, 80: 495-509.
- TARJUELO, I. (2001). *Reproductive strategies in colonial ascidians: relationships with other life-history traits and genetic structure*. Barcelona: Universitat de Barcelona. [Tesi doctoral]
- TURON, X.; BECERRO, M. A.; URIZ, M. J. (2000). «Distribution of brominated compounds within the sponge *Aplysina aerophoba*: coupling of X-ray microanalysis with cryofixation techniques». *Cell Tissue Res.*, 301: 311-322.
- URIZ, M. J.; BECERRO, M. A.; TUR, J. M.; TURON, X. (1996). «Location of toxicity within the Mediterranean sponge *Crambe crambe* (Demospongiae: Poecilosclerida)». *Mar. Biol.*, 124: 583-590.
- URIZ, M. J.; MARTIN, D.; TURON, X.; BALLESTEROS, E.; HUGHES, R. G.; ACEBAL, C. (1991). «An approach to the ecological significance of chemically mediated bioactivity in Mediterranean benthic communities». *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 70: 175-188.
- URIZ, M. J.; TURON, M.; BECERRO, M. A.; GALERA, J. (1995). «Resource allocation to somatic and reproductive functions in the mediterranean encrusting sponge *Crambe crambe* (Porifera, Demospongiae)». *Mar Ecol. Progr. Ser.*, 124: 159-170.
- URIZ, M. J.; TURON, X.; BECERRO, M. A.; GALERA, J. (1996). «Feeding deterrence in sponges. The role of toxicity, physical defenses, energetic contents, and life-history stage». *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 205: 187-204.
- ZIMMER, R. K.; BUTMAN A. (2000). «Chemical signaling processes in the marine environment». *Biol. Bull.*, 198: 168-187.