

BIOPROSPECÇÃO A PARTIR DOS OCEANOS: CONECTANDO A DESCOBERTA DE NOVOS FÁRMACOS AOS PRODUTOS NATURAIS MARINHOS

Rafael de Felício
Ana Ligia Leandrini de Oliveira
Hosana Maria Debonisi

Considerando o mercado farmacêutico mundial, os produtos naturais são, e provavelmente continuarão sendo, a fonte mais importante de novas substâncias bioativas. Novos nichos e interações ecológicas ganharam importância nas últimas décadas, como alvos alternativos para a pesquisa de produtos naturais. Desse modo, após bilhões de anos de evolução, a natureza contempla uma enorme diversidade de organismos terrestres e marinhos. No que diz respeito ao nosso planeta, estima-se que existam cerca de 30 milhões de insetos, 1,5 milhão de algas, 1,5 milhão de fungos, 1 milhão de animais, além da existência de mais de 400 mil espécies de plantas. Ainda, grande parte dessa riqueza natural é oriunda dos oceanos, que representam a maior concentração de vida no planeta, cobrindo 70,8% da superfície da Terra. Estima-se que a profundidade média dos oceanos seja de aproximadamente 3.700m, o que confere a essa comunidade gigantesca uma complexa e eficiente conectividade entre os organismos presentes em um mesmo ambiente (1-3) (Figura 1).

O ecossistema marinho representa 95% da biosfera e, dos 31 filos animais conhecidos, 12 são exclusivamente marinhos e nunca foram encontrados além dos oceanos. Os ecossistemas forneceram produtos naturais notáveis, os quais foram utilizados diretamente ou após modificações químicas, para o desenvolvimento de novos medicamentos (1). Todavia, o potencial farmacêutico do ambiente marinho, em grande parte foi negligenciado até meados do século passado e, até o presente momento, a biodiversidade encontrada nesse ambiente ainda permanece em grande parte inexplorada e subutilizada (1-3). A investigação dessa biodiversidade marinha agregada à biotecnologia deverá contribuir significativamente na solução de questões da saúde humana, desde que haja uma estrutura adequada para essa área de pesquisa, investimento financeiro e apoio político (1-2).

Apesar das variações relativas à definição do que são produtos naturais, estes se destacam como fonte e inspiração para aproximadamente 25 a 50% dos fármacos atualmente comercializados, levando, assim, os produtos naturais a serem considerados por uma grande parcela da comunidade científica como alicerce da indústria farmacêutica. Entretanto, o que define o termo “produto natural”? Produtos naturais são substâncias frequentemente constituídas por estruturas químicas complexas e com uma orientação espacial

Hosana M. Debonisi



Figura 1. Diversidade marinha

bem definida. Estes produtos naturais, também denominados metabólitos secundários, são característicos e até mesmo únicos para determinados grupos específicos de organismos, e são sintetizados para interagir com eficácia com seus alvos biológicos, o que os torna atrativos para a descoberta de novos fármacos (4).

Nos últimos 50 anos, aproximadamente 25 mil produtos naturais foram descritos a partir da flora e fauna marinha (Fig. 2) (5), explicando a crescente participação destes no mercado farmacêutico. Como exemplo, podemos citar a aprovação do medicamento Yondelis, para uso no tratamento do câncer, cujo fármaco, o alcalóide trabectedina, foi obtido a partir de ascídias (4).

Algas, esponjas, ascídias, corais e outros organismos sésseis, frequentemente competindo para sobreviver em um ambiente inóspito, produzem uma diversificada gama de metabólitos secundários que, na maioria dos casos, diferem fundamentalmente dos terrestres (6). Diferentemente dos organismos terrestres, as espécies marinhas sobrevivem com limitação de nutrientes e limitação/competição por espaço, sendo necessários mecanismos de defesa para preservar sua própria espécie. Mudanças drásticas de temperatura, salinidade, exposição solar e radiação, tolerância ao dessecação (algas fixadas a costões rochosos), ação das ondas e pressão atmosférica (dependendo da profundidade) são alguns dos fatores ambientais que podem influenciar o metabolismo desses organismos. Ainda, quando em ambientes onde não há nenhum tipo de luminosidade, os animais desenvolvem mecanismos peculiares para sua manutenção e sobrevivência, como a bioluminescência. Mecanismos de defesa, adaptação e preservação, muitas vezes, são compartilhados nos oceanos, principalmente em se tratando de comunidades que habitam o mesmo ecossistema, como recifes de corais e/ou pela simbiose ocorrente entre macro e microrganismos.

A maioria dos produtos marinhos descritos tem sido isolada de invertebrados tais como esponjas, tunicados, moluscos e briozoários, enquanto que os microrganismos como as cianobactérias, bactérias e fungos são uma fonte rica de novos e/ou metabólitos biologicamente ativos (7). Dentre as substâncias oriundas da biota marinha, as classes mais estudadas compreendem terpenóides, ácidos graxos (gorduras), policetídeos, acetogeninas, polifenólicos (conhecidos também como aromáticos), alcalóides, peptídeos e macrolídeos, dentre outros. A diversidade estrutural é ampliada quando se trata de metabólitos isolados de microrganismos marinhos, originados em alguns casos por meio de rotas biossintéticas (vias metabólicas responsáveis pela produção dos produtos naturais por um determinado organismo) mistas, que podem estar relacionadas à simbiose (relação vantajosa entre organismos vivos de espécies diferentes) (8-10). Curiosamente, até o ano de 2009, a maioria das moléculas líderes obtidas de origem marinha e submetidas às triagens pré-clínicas e clínicas não foram de procedência microbiana (8), veja Figura 2 (5).

Na verdade, estudos recentes suportam claramente a hipótese inicial de que grande parte das substâncias isoladas a partir, por exemplo, de esponjas, muito provavelmente tem origem simbiótica (bacteriana ou fúngica). Esses microrganismos podem constituir grande parte da biomassa invertebrada, chegando a atingir 40% (11-12). Microrganismos marinhos compõem uma fonte vantajosa de moléculas estruturalmente diversas, sendo que este fato pode corroborar a hipótese supracitada (13). Nos últimos dez anos, foram descritas 659 substâncias bacterianas marinhas, das quais 256 foram encontradas em actinobactéria, principalmente nos gêneros *Streptomyces* (57%) ou *Salinispora* (28%). Alguns dos representantes marinhos responsáveis pela produção comprovada de substâncias bioativas pertencem aos gêneros *Dietzia*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Salinospora*, *Salinibacterium* e *Marinispora* (14).

Dentre as espécies marinhas responsáveis por fornecer produtos naturais quimicamente intrigantes, as cianobactérias marinhas (algas azuis-esverdeadas) são possivelmente as mais bem-sucedidas com relação à produção de novos quimiotipos com potente atividade biológica (15). Entre os candidatos anticâncer, a apratoxina D destacou-se por exibir uma CI₅₀ de 2,6 nM (concentração mínima capaz de inibir a proliferação de 50 % das células tumorais) quando avaliada em linhagens de células de câncer de pulmão humano H-460. Jamaicaídas A-C, isoladas de *Lyngbya majuscula*, mostraram citotoxicidade em linhagem celular de câncer de pulmão humano H-460 e neuroblastoma em camundongos (Neuro-2a) (16). Recentemente, os novos lipídeos serinolamida A e propenediester, foram isolados a partir das espécies *Lyngbya majuscula* (coletada em Papua Nova Guiné) e *Oscillatoria* sp. (encontrada no Panamá), sendo a serinolamida A o representante mais atual dentre canabinomiméticos derivados de origem marinha (17).

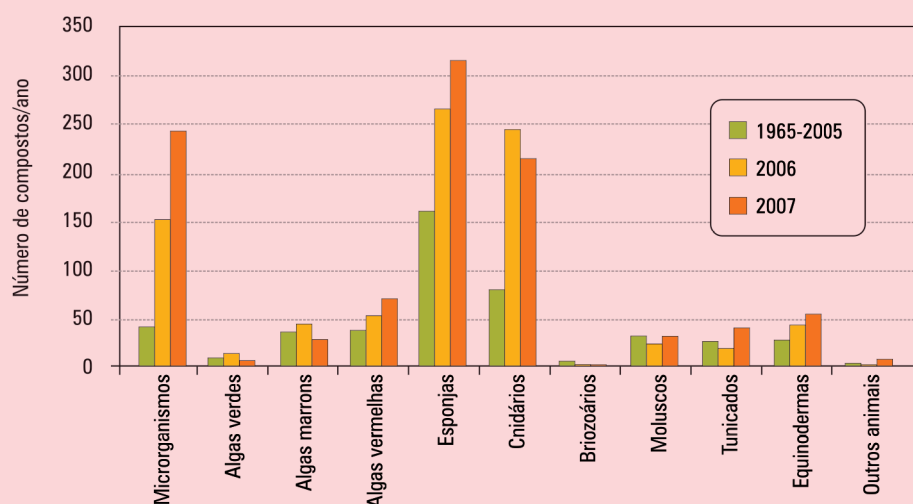


Figura 2. Distribuição de produtos naturais marinhos de acordo com o filo (5)

Dentre o universo dos microrganismos, também é importante ressaltar a química dos fungos marinhos, os quais têm sido encontrados associados a algas, plantas, invertebrados, moluscos, e ainda presentes em sedimentos de costões e regiões de mangue (11). Como exemplos, pode-se citar os sesquiterpenóides drimânicos, isolados do fungo *Aspergillus ustus* (presente na esponja marinha *Suberites domuncula*), citotóxicos frente a várias linhagens de células tumorais e as esporotrininas A-C, exibindo forte inibição de acetilcolinesterase, isolada de *Sporothrix* sp.. Outra molécula bem fascinante encontrada em *Phoma* sp foi a epoxifomalina A, a qual além de ser citotóxica para 12 das 36 linhagens de células tumorais humanas avaliadas, demonstrou um mecanismo de ação específico não correlacionado com aqueles exibidos por padrões de agentes anticâncer (18-20).

Estudos genômicos também têm sido fundamentais para a compreensão do potencial biotecnológico dos organismos marinhos. Basicamente, consiste na avaliação de seus recursos genéticos, ou seja, sequenciamento de seu genoma e a caracterização dos genes. Recentemente, cerca de mil genomas de procariontes foram sequenciados e metade deles é de relevância médica ou industrial. Ao contrário dos procariontes, a era genômica de alguns organismos marinhos eucariotes, como microalgas, macroalgas e protozoários, se encontra no início. Atualmente, apenas 30 genomas de microalgas foram concluídos. Invertebrados marinhos, incluindo desde esponjas a crustáceos, são alvos de somente 11% das análises de sequenciamento genético planejadas. Poucos organismos comercialmente relevantes tais como mexilhões e ostras, têm sido sequenciados, em virtude de sua importância na aquicultura (21-23). Contudo, o delineamento de análises genômicas de organismos marinhos poderá revelar *pools* genéticos exclusivos, informações quanto à arquitetura molecular e o arsenal proteico que uma determinada espécie contém, o que culminará no descobrimento de funções bioquímicas inesperadas. Este entendimento, portanto, fornecerá subsídios para a produção de uma ampla variedade de bioprodutos.

A despeito de ser uma área bastante atrativa, ainda existem alguns fatores limitantes quanto à pesquisa e bioprospecção de organismos marinhos. Muitas vezes o processo se torna bastante longo em decorrência das metodologias utilizadas para o isolamento, elucidação estrutural, caracterização e gerenciamento dos resultados obtidos. Estes fatores são agravados pela complexidade estrutural, quantidade excepcionalmente limitada disponível para os estudos e condições difíceis de coleta e manuseio desse tipo de material. Complicações adicionais surgem quanto à identificação (aspectos quimiotaxonômicos) dos organismos, e também pela incerteza quanto à origem de um composto ativo, o qual pode ter sido sintetizado devido aos fenômenos de simbiose.

Contudo, apesar de todas as limitações aqui expostas, nos últimos anos a pesquisa de produtos naturais tem progredido devido aos avanços tecnológicos. A disponibilidade de instrumentação robusta e novas metodologias ofereceram procedimentos experimentais mais rápidos e mais eficientes que aceleraram todo o processo de descoberta de produtos naturais. Novas estratégias de avaliação de atividade biológica para a seleção de extratos, por meio da criação de “bibliotecas” ou “bases de dados” configuraram abordagens mais sofisticadas a serem empregadas até mesmo pelas companhias farmacêuticas. A utilização de “bibliotecas” pode favorecer a obtenção de uma ou de uma série de substâncias por pré-fracionamento a partir do extrato bruto, e toda essa busca pode ser monitorada rapidamente por ensaios biológicos automatizados (*high-throughput screening*). Após a identificação da fração de interesse, o metabólito responsável pela bioatividade pode ser purificado e sua estrutura determinada (4). A identificação de compostos em uma mistura complexa, no início do processo de descoberta e especificamente antes do isolamento, ocorre por meio de um procedimento conhecido como desreplicação. Tais procedimentos compreendem técnicas analíticas, espectroscópicas e espectrométricas (ressonância magnética nuclear – RMN, espectrometria de massas – EM, espectroscopia na região do infravermelho – IV e na região do ultravioleta – UV), softwares inteligentes, bancos de dados e bibliotecas espectrais. Essa etapa do processo de triagem (*screening*) objetiva também evitar o “re-isolamento” de substâncias já conhecidas, agiliza a descoberta de novas estruturas e ainda favorece a busca por alguma molécula de interesse comercial (24). Todo o conceito de prospecção para fármacos do ambiente marinho iniciou-se com o isolamento e identificação dos análogos de ácido nucleico espongotimidina e espongouridina, obtidos a partir da esponja caribenha *Cryptotethya crypta*, há mais de 50 anos (25). Estas moléculas inspiraram os químicos a proporem a síntese de análogos para avaliá-los frente a uma gama de doenças humanas, incluindo câncer e Aids. A partir dessa iniciativa, foram desenvolvidos o medicamento anti-leucêmico Ara-C (Upjohn, agora Pharmacia), o antiviral Ara-A (Burrows Wellcome, agora Glaxo SmithKline) e o AZT, o primeiro medicamento a ser utilizado no tratamento efetivo contra Aids. Estudos posteriores revelaram que o metabólito sintético Ara-A apresenta ocorrência natural em gorgônias *Eunicella cavolini*, encontradas no Mediterrâneo (26).

NOS ÚLTIMOS ANOS A PESQUISA DE PRODUTOS NATURAIS TEM PROGREDIDO DEVIDO AOS AVANÇOS TECNOLÓGICOS

O produto natural ziconotídeo (Prialt), derivado de um veneno do molusco marinho *Conus magus*, foi aprovado pelo FDA, para uso como medicamento em 2004, seguido pela trabectedina (Yondelis), em 2007. Yondelis teve seu uso aprovado em 57 países em todo o mundo, aumentando as vendas em 17 milhões de euros no primeiro trimestre de 2010 (27).

Quanto a outras vertentes relacionadas à saúde humana, produtos naturais marinhos também têm atraído interesse significativo no tratamento de sinais/sintomas decorrentes do envelhecimento (principalmente cosmeceúticos). Vários metabólitos como terpenóides, compostos nitrogenados, tocoferol, polissacarídeos, carotenos, fenólicos, aminoácidos (micosporinas), parabenos, quitina, quitosana e ácidos graxos insaturados têm sido encontrados em bactérias, micro e macroalgas, crustáceos e peixes, configurando-se assim em futuros alvos para aplicações cosmeceúticas. Esses organismos marinhos não estão restritos apenas à produção de moléculas bioativas (atividades antibacteriana, anticancerígena, anti-inflamatório, antioxidante etc.), mas também produzem agentes fotoprotetores ou anti-fotoenvelhecimento (28). Recentemente, esse potencial foi evidenciado em algas marinhas da espécie *Coralina pilulifera* (CPM) (29).

Novos modelos e novos mecanismos de ação de substâncias multifuncionais de alto valor podem trazer novas soluções para resolver alguns dos problemas de saúde pública do século XXI. Devido à necessidade da produção desses metabólitos em larga escala, o cultivo *ex situ* de invertebrados (cultivo fora do mar), em tanques especiais fechados, permite a otimização dos parâmetros de crescimento, controle de temperatura da água, níveis de luz e fotoperíodos, disponibilidade de alimentos, equilíbrio nutricional e adição de precursores metabólicos de interesse (30). Condições ótimas são obtidas por meio de controle dos parâmetros abióticos e bióticos do meio de cultivo. As taxas de crescimento podem ser aceleradas e a quantidade do produto bioativo de interesse pode ser influenciada, ou seja, maior produção em menor intervalo de tempo.

Além dos aspectos discutidos anteriormente, outras aplicações podem ser apresentadas para evidenciar a versatilidade do ambiente marinho, ratificando o crescente interesse em sua exploração (31):

A) Aquicultura: 1 – produção de carotenóides em larga escala para o suprimento de corantes de alimentos e antioxidantes, produzidos pela microalga *Dunalliella salina*. Os carotenóides são pigmentos que funcionam como fotoprotetores e como pigmentos fotossintéticos secundários, sendo que cada espécie pode conter entre 5 e 10 tipos de um universo de aproximadamente 60 diferentes carotenóides presentes em células microalgais (32); 2 – fornecimento da substância astaxantina, um corante utilizado para conferir a pigmentação rosada ao salmão e em outros produtos alimentícios industrializados; 3 – potencial de produção de biodiesel por algas marinhas, as quais são responsáveis por uma produção de óleo/hectare 24 vezes superior quando comparado a culturas de palmeiras. A grande vantagem é que esse tipo de produção é considerada como de baixo custo;

B) Produção de agentes anti-incrustantes: desenvolvimento de tintas contendo substâncias isoladas de algas marinhas, capazes de evitar incrustação de mariscos e outros organismos marinhos em embarcações;

C) Utilização como inibidores de biofilmes e em biorremediação;

D) Substituição de tecidos e ossos: utilização de colágeno isolado de esponjas para serem empregados em restituição de tecidos e substâncias de corais utilizadas em restituições ósseas;

E) Indústria alimentícia: alginatos e ágaros empregados como espessantes de sorvetes, emulsificantes, ligas em rações animais e ainda produção de alimentos a base de algas marinhas, ricos em ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), carotenóides e Omega 3. PUFAs atuam na prevenção e tratamento de uma série de doenças cardiovasculares, da aterosclerose e da arritmia, da redução da pressão arterial, da redução dos níveis de colesterol e triglicerídios no plasma, da artrite reumatóide, do câncer e são aparentemente essenciais na nutrição infantil e no desenvolvimento cerebral (32);

F) Nutracêuticos: produção de ácidos graxos poliinsaturados pela microalga *Cryptocodinium cohnii*, os quais poderão ser utilizados em dietas alimentares como, por exemplo, em preparações que substituam o leite materno e ainda glucosamina, substância responsável pela reconstrução de cartilagem, encontrada em conchas de crustáceos;

G) Cosméticos e outros: uso de algas em produtos de higiene, como cremes dentais e em cremes corporais, xampus, loções e maquiagem em geral. Aqui não podemos deixar de destacar os carotenóides atuando como fotoprotetores, utilizados como corantes naturais e como antioxidantes (32);

H) Adesivos: produção de adesivos reversíveis que podem ser utilizados submersos na água;

I) Biomateriais: obtenção de metais, incluindo os raros e de alto valor de mercado, devido ao hiper-acúmulo desses materiais por alguns invertebrados.

CONCLUSÃO A conectividade entre os seres marinhos de uma determinada comunidade e as limitações ambientais a que são submetidos geram uma admirável fonte de biocompostos a ser revelada a partir dos oceanos. Dentre esta riqueza de biodiversidade, poderão ser encontradas novas fontes de produtos farmacêuticos, cosméticos, biocombustíveis e ainda substâncias com interessantes aplicações na área química e em múltiplos setores produtivos da indústria alimentícia.

Entretanto, apesar da bioprospecção dos organismos marinhos configurar uma forma de encontrar, avaliar e explorar sistemática e legalmente a diversidade existente em determinado local, buscando utilizar recursos genéticos e bioquímicos para fins comerciais, a sustentabilidade deve ser primada em qualquer processo de exploração do ambiente marinho.

Rafael de Felício é pesquisador do Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais e Sintéticos (NPPNS), do Departamento de Física e Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP).

Ana Ligia Leandrini de Oliveira é pesquisadora do NPPNS da USP Ribeirão.

Hosana M. Delboni é pesquisadora do NPPNS e professora associada do Departamento de Física e Química da USP Ribeirão. Email: hosana@fcfrp.usp.br.

NOTAS E REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Boeuf, G. *Comptes Rendus Biologies*, Vol.334, no.435. 2011.
- Maragos, G.E. *Oceanography*. Vol.9, no.83. 1996.
- Roberts, C.M. *Science*, Vol.295, no.1280. 2002.
- Kingston, D.G.I. *Journal of Natural Products*, Vol.74, no.496. 2011.
- Zhu, F.; Qin, C.; Tao, L.; et al. "Clustered patterns of species origins of nature-derived drugs and clues for future bioprospecting". *Pnas*, Vol. 108, no. 31, pp.12943-12948. 2011. Disponível em: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1107336108 (acesso em junho de 2012)
- Blunt, J.W.; Copp, B.R.; et al. *Natural Product Reports*, Vol.26, no.170. 2009.
- Capon, J.R. *European Journal of Organic Chemistry*, Vol.633. 2001.
- Blunt, J.W.; Copp, B.R.; Munro, M.H.G.; Northcote, P.T.; Prinsep, M.R.. *Natural Product Reports*, Vol.28, no.196. 2011.
- Molinski, T.F.; Dalisay, D.S.; Lievens, S.L.; Saludes, J.P. *Nature Reviews Drug Discovery*, Vol.8, no.69. 2009.
- Hay, M.E. & Fenical, W. *Oceanography*, Vol.9, no.10. 1996.
- Feher, M.; Schmidt, G.J. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, Vol.43, no.218. 2003.
- Simmons, T.L.; Coates, R.C.; Clark, B.R.; et al. *Pnas*, Vol.105, no.4587. 2008.
- Gandhimathi, R.; Arunkumar, M.; Selvin, J.; et al. *Journal of Medical Mycology*, Vol.18, no.16. 2008.
- Kong, D.X.; Jiang, Y.Y.; Zhang, H.Y.. *Drug Discovery Today*, Vol.15, no.884. 2010.
- Shah, J.J. & Orlowski, R.Z. *Leukemia*, Vol.23, no.1964. 2009.
- Edwards, D.J.; Marquez, B.L.; Nogle, L.M.; et al. *Chemical Biology*, Vol.11, no.817. 2004.
- Gutiérrez, M.; Suyama, T.L.; Engene, N.; et al. *Journal of Natural Products*, Vol.71, no.1099. 2008.
- Gutiérrez, M.; Pereira, A.R.; Deboni, H.M.; et al. *Journal of Natural Products* Vol.74, no.2313. 2011.
- Liu, H.; Edrada-Ebel, R.; Ebel, R.; et al. *Journal of Natural Products*, Vol.72, no.1585. 2009.
- Wen, L.; Cai, X.; Xu, F.; et al. *Journal of Organic Chemistry*, Vol.74, no.1093. 2009.
- Mohamed, L.E.; Gross, H.; Pontius, A.; et al. *Organic Letters*, Vol.11, no.5014. 2009.
- Nonell-Canals, A. & Mestres, J. *Molecular Informatics*, Vol.30, no.405. 2011.
- Seifert, K.A.; Samson, R.A.; Dewaard, J.R. *Pnas*, Vol.104, no.3901. 2007.
- Shenoy, B.D.; Jeewon, R.; Hyde, K.D. *Fungal Diversity*, Vol.26, no.1. 2007.
- Radulovici, A.E.; Archambault, P.; Dufresne, F. *Diversity*, Vol.2, no.450. 2010.
- Campisi, J.; Fagagna, F. d'Adda di. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, Vol.8, no.729. 2007.
- Mayer, A.M.S. "Marine pharmacology in 1998: antitumor and cytotoxic compounds". In: *The Pharmacologist USA*, Vol 41, no.4, 154. 1999.
- Newman, D.J. & Cragg, G.M. *Journal of Natural Products*, Vol.67, no.1216. 2004.
- Kirkwood, T.B.L. *Mechanisms of Ageing and Development*, Vol.123, no.737. 2002.
- Sashidhara, K.V.; White, K.N.; Crews, P. *Journal of Natural Products*, Vol.72, no.588. 2009.
- Sipkema, D.; Osinga, R.; Schatton, W.; et al. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol.90, no.201. 2005.
- Allen M.J. and Jaspars, M. *Industrial Biotechnology*, Vol.5, no.77. 2009.