

## Las esponjas marinas como fuente de nuevas sustancias bioactivas. Marine sponges as a source of new bioactive substances.

Erik L. Regalado, Abilio Laguna, José R. Martínez.

Centro de Bioproductos Marinos, AMA, CITMA. Loma y 37. Alturas del Vedado. La Habana, Cuba. CP: 10400, e-mail: erikluis18@gmail.com

### RESUMEN

Las esponjas marinas (Porifera) han atraído la atención de un gran número de científicos alrededor del mundo. Estos animales y sus simbioses utilizan mecanismos de defensa química, basados en la producción de compuestos biológicamente activos que utilizan para protegerse de posibles depredadores. Son considerados una mina de oro para los químicos y se han descubierto más de 6000 estructuras novedosas, muchas de ellas con enormes aplicaciones biomédicas, fundamentalmente contra el cáncer, pero también contra diversas bacterias, virus y otras enfermedades. Algunos de los fármacos derivados de esponjas se encuentran disponibles en el mercado, tal es el caso Ara-A (antiviral) y de la Ara-C (antitumoral), pero existen diversos compuestos bioactivos en ensayos clínicos. En Cuba, las investigaciones relacionadas con compuestos obtenidos de esponjas marinas son muy escasas, los descubrimientos iniciales se desarrollaron en el campo farmacológico y solamente en extractos o fracciones. En estudios recientes, se investigaron tres esponjas (*Agelas cerebrum*, *Niphates digitalis* y *Pandaros acanthifolium*), a partir de las cuales se aislaron e identificaron 45 metabolitos, dos de ellos fueron nuevos productos naturales y 30 resultaron metabolitos novedosos, pertenecientes a dos nuevas familias de saponinas esteroidales con características químicas poco comunes y efecto sobre varios parásitos protozoarios, así como contra varias líneas celulares de carcinoma humano.

**Palabras Claves:** ESPONJAS MARINAS, COMPUESTOS NOVEDOSOS, METABOLITOS BIOACTIVOS, ANTIPARASITARIO, ANTITUMORAL.

### Abstract.

Marine sponges (Porifera) have drawn the attention from a broad number of researchers all over the world. These animals and their symbionts are specialized in chemical warfare, producing biologically active chemical substances as an effective defense against predators. They have been considered a goldmine to chemists, from which have been discovered more than 6000 novel structures; many of them, with enormous biomedical applications, mainly against cancer, but also against bacteria, viruses and other diseases. Some of the sponge-derived drugs are available in the market, such as: Ara-A (antiviral) and Ara-C (anticancer), but there are diverse bioactive compounds under clinical trials. In Cuba, the researches related to the isolation of compounds from marine sponges are scarce and the initial studies were about pharmacological evaluations of extracts and fractions. In recent studies, three sponges were investigated (*Agelas cerebrum*, *Niphates digitalis* and *Pandaros acanthifolium*), from which were isolated and identified 45 metabolites, two of them were isolated for the first time as natural products, including the discovery of 30 novel metabolites, dividing in two new families of steroidal saponins with uncommon chemical characteristics and potential against several parasitic protozoa and tumor human cell lines.

**Key Words:** MARINE SPONGES, NOVEL COMPOUNDS, BIOACTIVE METABOLITES, ANTIPARASITIC, ANTITUMORAL.

### Generalidades sobre las esponjas.

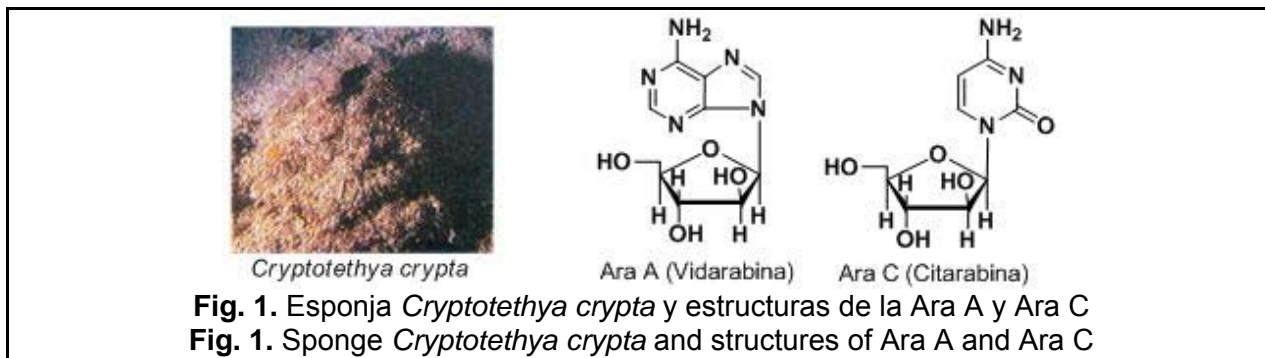
Las esponjas (Phylum Porifera), son un grupo de animales multicelulares sésiles de los más abundantes y diversos en los fondos marinos, cuya característica principal es poseer un sistema interno de canales, a través de los cuales bombean activamente agua de la que filtran su alimento y extraen el oxígeno, y en la que depositan sus excretas; presentan un esqueleto interno de agujas de dióxido de silicio o carbonato de calcio denominadas espículas, cementadas por fibras de colágeno llamadas espongina (Bergquist, 1978).

En los mares actuales las esponjas dominan en la mayoría de los hábitats crípticos y poco iluminados como cuevas, túneles, y bajo rocas y corales, en donde no son desplazadas por organismos fotosintéticos de crecimiento relativamente rápido; en los arrecifes coralinos dominan en general debajo de los 20 m, mientras que en los canales profundos de las formaciones de manglar, son el componente dominante de la fauna de las raíces adventicias (Rützler and Feller, 1987). Las esponjas juegan un papel importante en los ecosistemas marinos, gracias a que por filtración incorporan gran cantidad de material particulado de la columna de agua al fondo, contribuyen a la producción primaria (Wilkinson, 1983), pues muchas especies albergan simbiontes fotosintéticos (fundamentalmente cianobacterias) y por tener numerosas bacterias heterotróficas en sus tejidos devuelven al medio nutrientes remineralizados (Corredor et al., 1988), además constituyen el hábitat de muchos invertebrados y algunos peces. En los sistemas de litorales de fondos duros pueden competir de manera agresiva por el espacio, en muchas ocasiones mediante medios químicos.

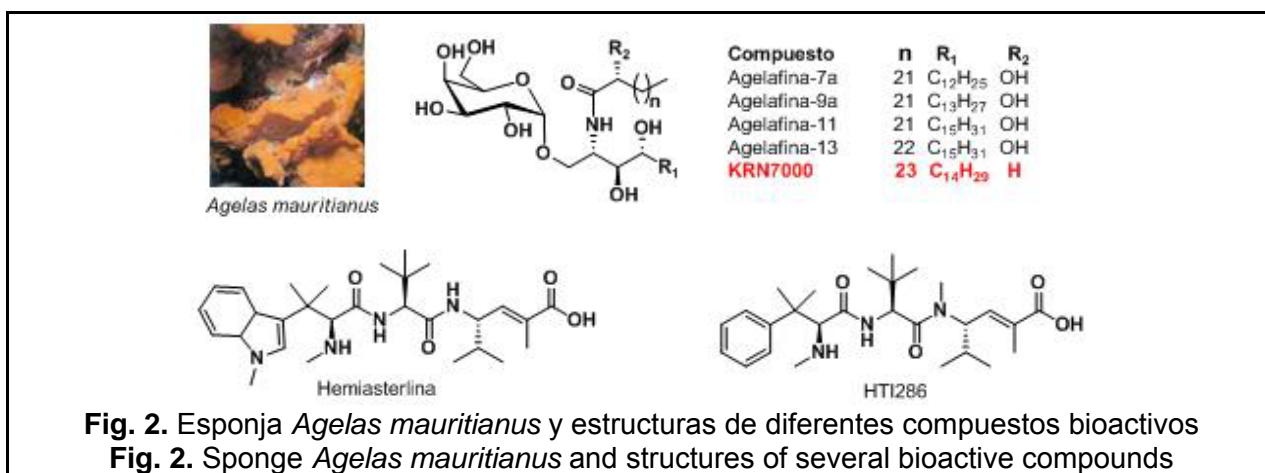
Las esponjas son de los animales que sufren menor depredación, y en general solo son susceptibles a los organismos especializados en resistir sus defensas físicas o principalmente el diverso arsenal químico que éstas poseen, lo cual ha atraído el interés de innumerables científicos en las últimas décadas. Las esponjas han sido consideradas como una mina de oro para los químicos (Thakur and Müller, 2004) y se han descubierto hasta el momento, a partir de estas, más de 6000 metabolitos novedosos (Munro and Blunt, 2009), muchos de ellos con enormes potencialidades biotecnológicas (Thakur and Müller, 2004; Wijffels, 2007) y un alto potencial en para la búsqueda de medicamentos (Mayer et al., 2009; Jain and Tiwari, 2007), particularmente contra el cáncer (Mayer et al., 2009; 2007; Mayer and M.T., 2002).

### Moléculas con potencial terapéutico aisladas de esponjas.

Entre los invertebrados marinos, el phylum Porifera es el más prolífico en metabolitos secundarios novedosos y farmacológicamente activos (Blunt, et al., 2008; 2007; 2005). Los primeros estudios de esponjas como fuente de agentes terapéuticos se realizaron en los años 1950's cuando Bergmann y colaboradores aislaron tres nucleósidos novedosos: espongosina, espongotimidina y espongouridina a partir de la esponja del Caribe *Cryptotethia crypta* (Porifera) (Bergmann and Burke, 1955; Bergmann and Feeney, 1951; 1950). Los dos nucleósidos pirimidínicos contenían una arabinosa en lugar de la ribosa y la espongosina combinaba la ribosa con una nueva base (metoxiadenina). Dos de estas moléculas (espongosina y espongouridina) permitieron llegar mediante modificaciones sintéticas a los dos primeros fármacos de origen marino: Ara-C (citarabina) como antitumoral (Sweetman, 2000) y Ara-A (vidarabina o comúnmente conocido por aciclovir) como antiviral (Scheuer, 1996), los cuales se encuentran bien establecidos en el mercado (Rayl, 1999).

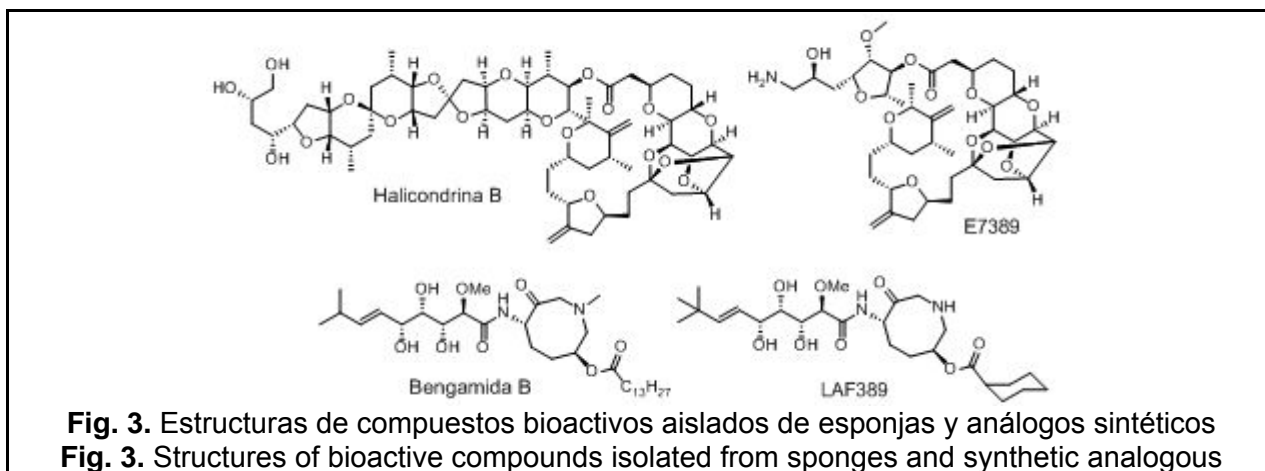


En estos momentos la vidarabina y la citarabina (figura 1) son los únicos compuestos relacionados con esponjas que se utilizan como medicamentos. No obstante, otro grupo de metabolitos secundarios bioactivos o sus análogos, aislados de otras esponjas, se encuentran actualmente en diferentes fases de ensayos clínicos. Tal es el caso de las agelasfinas aisladas de la esponja *Agelas mauritianus* (Natori et al., 1994; 1993), cuyas estructuras pertenecen a la familia de las glicosilceramidas. Estas sustancias fueron fuertemente activas sobre algunos carcinomas de roedores: melanoma B16 y colon, sin que se haya detectado alguna citotoxicidad *in vitro* (Kobayashi et al., 1995). También un análogo sintético de la serie de las agelasfinas, el KRN7000 (figura 2), ha sido desarrollado por la sociedad japonesa Kirin Brewery, con el fin de limitar la aparición de metástasis hepática (Iijima et al., 1998) y se encuentra actualmente en ensayos clínicos contra otros tipos de tumores. El HTI286 es otro de los compuestos que actualmente se encuentra en ensayos clínicos y es un análogo sintético de la hémiasterlina (Loganzo et al., 2003) (figura 2), ambos han sido aislados de varias esponjas: *Cymbastela sp*, *Hemiasterella minor*, *Siphonochalina sp* y *Auletta sp* (Coleman et al., 1995; Gamble et al., 1999; Talpir et al., 1994). Las hémiasterlinas son una familia de tripéptidos que contienen tres aminoácidos altamente modificados. La hémiasterlina es un potente inhibidor del crecimiento celular, que obstaculiza la etapa G2-M del ciclo celular (Anderson et al., 1997).



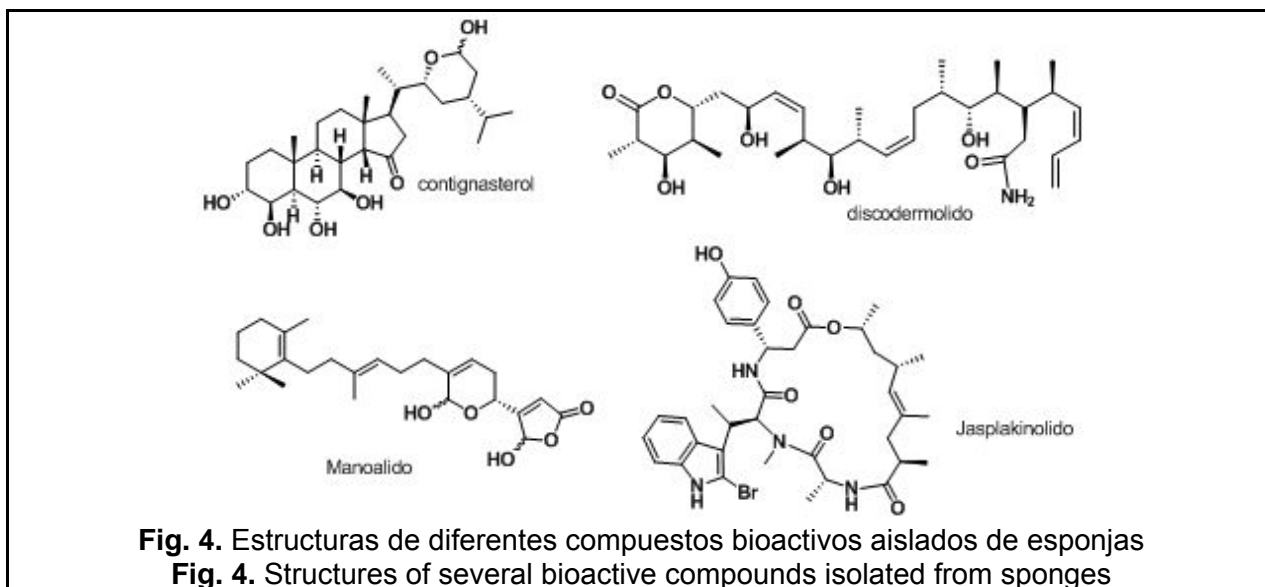
La cetona macrocíclica E7389 es una análoga sintética simplificada de la halichondrina B (figura 3), aislada la esponja marina japonesa *Halichondria okadai* (Hirata and Uemura, 1986; Uemura et al., 1985). Este candidato a medicamento se encuentra actualmente en ensayos clínicos como potente agente anticancerígeno sobre la tubulina (Kuznetsov et al., 2004). El LAF389 es un análogo de la bengamida B (figura 3), aislada a partir de la esponja *Jaspis*

*digonoxea* (Rudi et al., 1994). Esta molécula induce una parada del ciclo celular por inhibición de la metionina aminopeptidasa (Towbin et al., 2003).



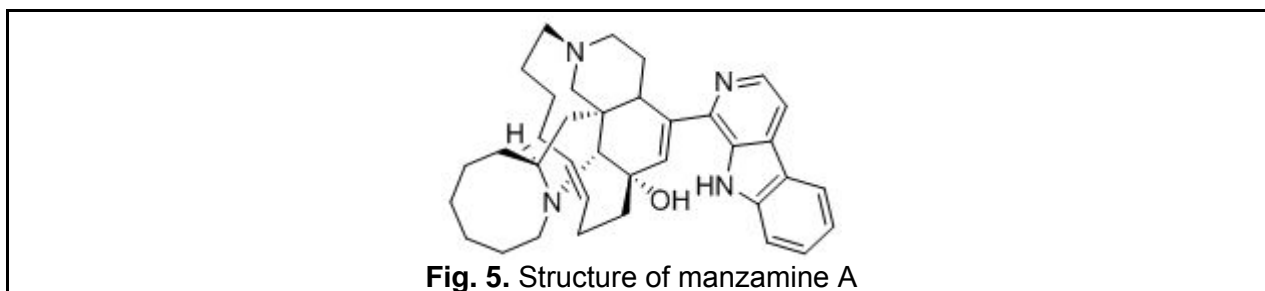
El primer esteroide de origen marino con propiedades antiinflamatorias prometedoras fue descubierto en la esponja *Petrosia contignata* en 1992 y fue denominado contignasterol (Burgoyne and Andersen, 1992) (figura 4). A diferencia de otros esteroides aislados hasta el momento, el contignasterol se caracterizó por estar fuertemente oxigenado y presentó características novedosas para aquel entonces, dado que fue el primer esteroide natural que presentó un H-14 en posición  $\beta$ . Este compuesto presentó actividad biológica significativa de diverso tipo (Bramley et al., 1995), y posteriormente fueron sintetizados varios análogos, de los cuales el IPL512602 y el IPL576092 han pasado a ser evaluados en ensayos clínicos como agentes antiinflamatorios y para el tratamiento del asma (Shen and Burgoyne, 2002). El discodermolido es una nueva lactona natural de la familia de los policétidos (figura 4), que fue aislado de la esponja *Discodermia dissoluta* (Gunasekera et al., 1990) y es un candidato prometedor para el desarrollo de un medicamento contra el cáncer de pulmón, de colon y de ovarios. En estos momentos, se produce por vía sintética para el suministro de los ensayos clínicos (Paterson and Lyothier, 2004; Smith et al., 2005).

Aunque un gran grupo de moléculas de esponjas han mostrado diversos efectos biológicos significativos, las mismas no han podido rebasar las etapas necesarias para convertirse en medicamentos, a causa de sus toxicidades, de sus marcados efectos colaterales o por tener una ruta de síntesis muy compleja. Un ejemplo de lo anterior, lo constituyen, dos compuestos conocidos como manoalido (Soriente et al., 1999) y jasplakinolido (Bubb et al., 1994), los cuales son utilizados solamente en investigaciones biomédicas, debido a su toxicidad en contraposición a sus significativos efectos biológicos. El manoalido, aislado de una esponja del Pacífico, condujo a la síntesis de más de 300 análogos, de los cuales un número significativo son evaluados en ensayos clínicos como agentes antiinflamatorios (Soriente et al., 1999).

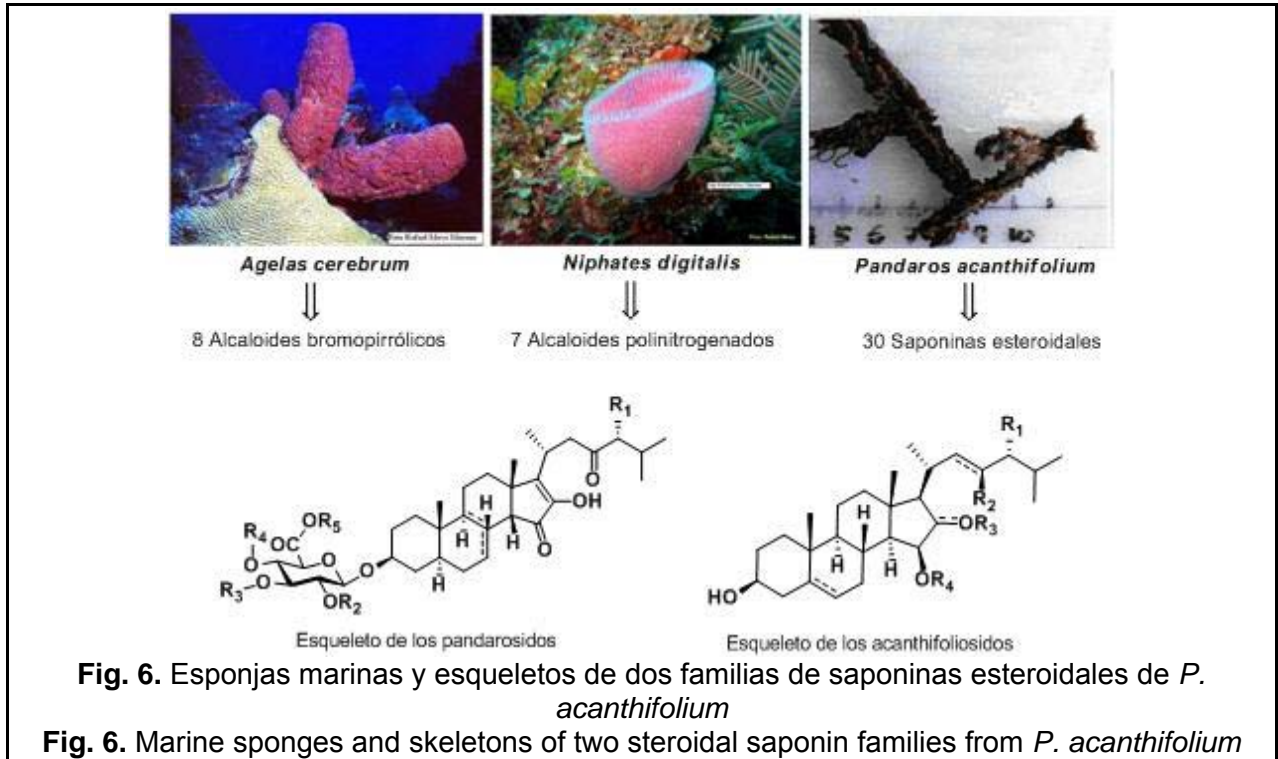


Otros de los compuestos estructuralmente novedosos y de potencialidades biomédicas son las manzaminas, las cuales se caracterizan por la presencia de un núcleo de  $\beta$ -carbolina unida a un sistema policíclico complejo. Desde el aislamiento de la manzamina A (figura 5) de una esponja del género *Haliclona* (Sakai et al., 1986), más de 40 alcaloides del mismo grupo se han aislado de nueve esponjas diferentes (El Sayed et al., 2001; Rao et al., 2006; 2004; 2003; Yousaf et al., 2004). Las manzaminas han mostrado propiedades citotóxicas, insecticidas y antibacterianas (El Sayed, et al., 2001; Yousaf et al., 2004). Desarrollan, asimismo, una importante actividad curativa contra la malaria en animales modelo (Rao et al., 2006; 2004; 2003).

Existen evidencias recientes, de que varios de los metabolitos mencionados no hayan sido producidos por las esponjas sino por los microorganismos simbiotes que se encuentran hospedados en ellas. Tras la diversa y compleja naturaleza de los metabolitos aislados de esponjas, así como su amplia gama de potentes efectos farmacológicos (Mayer et al., 2009; 2007; Mayer and Hamann, 2002; Orhan et al., 2010; Simmons et al., 2005), prominentemente contra el cáncer, surge siempre la incógnita de quién los produce, ¿el hospedero o los huéspedes? Un dato interesante, plantea que de aproximadamente unos 20 compuestos derivados de organismos marinos, que actualmente se encuentran en ensayos clínicos para el tratamiento del cáncer (Simmons and Gerwick, 2008), 15 fueron aislados de esponjas, tunicados y moluscos, y solamente cinco provenientes directamente de microorganismos. Sin embargo, existen fuertes evidencias de que 16 de estas moléculas antitumorales son derivadas de fuentes microbiológicas asociadas a los macroorganismos y sólo cuatro específicamente de los macroorganismos correspondientes (Simmons et al., 2008).



En Cuba, las investigaciones con compuestos obtenidos de esponjas marinas son muy escasas, los hallazgos han sido en el campo farmacológico y solamente en extractos o fracciones. Los resultados obtenidos muestran efectos sobre receptores colinérgicos e histaminérgicos por extractos de esponjas de los géneros *Holopsama*, *Aiolochoia*, *Ircinia*, *Mycale* y *Aplysina* entre otros (Aneiros et al., 2000, 2002). Extractos obtenidos de varias especies, principalmente de los géneros *Ircinia*, *Mycale*, *Tedania* y *Dysidea*, presentan actividad antiinflamatoria, analgésica y antioxidante (Aneiros et al., 2000, 2002). Es de destacar que, a diferencia de los antiinflamatorios existentes tanto de origen natural terrestre como sintético, los extractos estudiados de esponjas con esta propiedad, presentan mecanismos de acción que inhiben la fosfolipasa A<sub>2</sub>, o sea el inicio del proceso inflamatorio.



En un estudio muy reciente, se analizaron tres esponjas: *Agelas cerebrum*, *Niphates digitalis* y *Pandaros acanthifolium* (figura 6), a partir de las cuales se aislaron e identificaron 45 metabolitos (Regalado, 2010a), dos de ellos se aislaron como nuevos productos naturales (Regalado et al., 2010b; 2010c) y 30 resultaron de estructuras novedosas (Cachet et al., 2009; Regalado et al., 2010d; 2010e), pertenecientes a dos familias de saponinas esteroidales (pandarosidos y acanthifoliosidos, figura 6), que poseen características estructurales poco comunes en la naturaleza y altas potencialidades antiprotozoarias (Regalado, et al., 2010d), dos de estos últimos con actividad antitumoral significativa contra carcinomas humanos de mamas, colon y pulmón (Regalado, 2010a). La novedad tanto estructural como farmacológica de las nuevas sustancias obtenidas así como su interés prospectivo para la terapéutica médica, sustentan la importancia de dar continuidad a estas investigaciones.



## BIBLIOGRAFÍA:

- Anderson, H. J.; Coleman, J. E.; Andersen, R. J.; Roberge, M. 1997. Cytotoxic peptides hemiasterlin, hemiasterlin A, and hemiasterlin B include mitotic arrest and abnormal spindle formation. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 39: 223-226.
  
- Aneiros, A.; Garateix, A.; García, T.; Palmero, A.; Valdés, A.; Arteaga, F.; Cuquerella, E. 2000. Informe Final del Proyecto No. 004-03-216 .Resultado 02 “ Evaluación de nuevas sustancias de origen marino con potencialidades como biofármacos”, Archivos del PNCT “Desarrollo de Productos Biotecnológicos, Farmacéuticos y de Medicina Verde”.
  
- Aneiros, A.; Garateix, A.; García, T.; Palmero, A.; Valdés, A.; Arteaga, F.; Cuquerella, E. 2002. Informe Final del Proyecto “Obtención de nuevos compuestos de origen marino de aplicación en biomedicina” No.067 Resultado 02 Archivos de la Agencia de Medio Ambiente, CITMA.
  
- Bergmann, W.; Feeney, R. J. 1950. The isolation of a new thymine pentoside from sponges. *Journal of the American Chemical Society* 72: 2809-2810.
  
- Bergmann, W.; Feeney, R. J. 1951. Contributions to the study of marine products. XXXII. The nucleosides of sponges. *Journal of Organic Chemistry* 16: 981-987.
  
- Bergmann, W.; Burke, D. C. 1955. The nucleosides of sponges. 3. Spongothymidine and spongouridine (from *Cryptotethia crypta*). *Journal of Organic Chemistry* 20: 1501-1507.
  
- Bergquist, P. R., Sponges. Hutchinson University library: Londres, 1978; 268 pages.
- Blunt, J. W.; Copp, B. R.; Munro, M. H. G.; Northcote, P. T.; Prinsep, M. R. 2005. Marine natural products. *Natural Product Reports* 20: 15-61.
- Blunt, J. W.; Copp, B. R.; Hu, W.-P.; Munro, M. H. G.; Northcote, P. T.; Prinsep, M. R. 2007. Marine natural products. *Natural Product Reports* 24: 31-86.
  
- Blunt, J. W.; Copp, B. R.; Hu, W.-P.; Munro, M. H. G.; Northcote, P. T.; Prinsep, M. R. 2008. Marine natural products (A review). *Natural Product Reports* 25 (1): 35-94.
  
- Bramley, A. M.; Langlands, J. M.; Jones, A. K.; Burgoyne, D. L.; Li, Y.; Andersen, R. J.; Salari, H. 1995. Effects of IZP-94005 (contignasterol) on antigen-induced bronchial responsiveness in ovalbuminsensitized guinea-pigs. *British Journal of Pharmacology* 115: 1433-1438.
- Bubb, M. R.; Senderowicz, A. M. J.; Sausville, E. A.; Duncan, K. L. K.; Korn, E. D. 1994. Jasplakinolide, a cytotoxic natural product, induces actin polymerization and competitively inhibits the binding of phalloidin to F-actin. *Journal of Biological Chemistry* 269: 14869-14871.
- Burgoyne, D. L.; Andersen, R. J. 1992. Contignasterol, a highly oxygenated steroid with the “unnatural” 14  $\beta$  configuration from the marine sponge *Petrosia contignata* Thiele, 1899. *Journal of Organic Chemistry* 57: 525-528.
  
- Cachet, N.; Regalado, E. L.; Genta-Jouve, G.; Mehiri, M.; Amade, P.; Thomas, O. P. 2009. Steroidal glycosides from the marine sponge *Pandaros acanthifolium*. *Steroids* 74: 746-750.
- Coleman, J. E.; de Silva, E. D.; Kong, F.; Andersen, R. J.; Allen, T. M. 1995. Cytotoxic peptides from the marine sponge *Cymbastela* sp. *Tetrahedron* 51: 10653-10662.

- Corredor, J. E.; Wilkinson, C. R.; Vicente, V. P.; Morrel, J. M.; Otero, E. 1988. Nitrate release by Caribbean reef sponges. *Limnology and Oceanography* 33 (1): 114-120.
- El Sayed, K. A.; Kelly, M.; Kara, U. A. K.; Ang, K.; Katsuyama, I.; Dunbar, D. C.; Khan, A. A.; Hamann, M. T. 2001. New manzamines alkaloids with potent activity against infectious diseases. *Journal of the American Chemical Society* 123 (9): 1804-1808.
- Gamble, W. R.; Durso, N. A.; Fuller, R. W.; Westergaard, C. K.; Johnson, T. R.; Sackett, D. L.; Hamel, E.; Cardellina, J. H.; Boyd, M. R. 1999. Cytotoxic and tubulin-interactive hemiasterlins from *Auleta* sp and *Siphonochalina* sp sponges. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 7: 1611-1615.
- Gunasekera, S. P.; Gunasekera, M.; Longley, R. E.; Schulte, G. K. 1990. Discodermolide: a new bioactive polyhydroxylated lactone from the marine sponge *Discodermia dissoluta*. *Journal of Organic Chemistry* 55: 4912-4915.
- Hirata, Y.; Uemura, D. 1986. Halichondrins-antitumor polyether macrolides from a marine sponge. *Pure and Applied Chemistry* 58: 701-710.
- Iijima, H.; Kimura, K.; Sakai, T.; Uchimura, A.; Shimizu, T.; Ueno, H.; Natori, T.; Koezuka, Y. 1998. Structure-activity relationship and conformational analysis of monoglycosylceramides on the synergistic mixed leukocyte reaction. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 6: 1905-1910.
- Jain, R.; Tiwari, A. 2007. Sponges: An invertebrate of bioactive potential. *Current Science* 93: 444-445.
- Kobayashi, E.; Motoki, K.; Uchida, T.; Fukushima, H.; Koezuka, Y. 1995. KRN7000, a novel immunomodulator, and its antitumor activities. *Oncology Research* 7: 529-534.
- Kuznetsov, G.; Towle, M. J.; Cheng, H.; Kawamura, T.; TenDyke, K.; Liu, D.; Kishi, Y.; Yu, M. J.; Littlefield, B. A. 2004. Induction of morphological and biochemical apoptosis following prolonged mitotic blockage by halichondrin B macrocyclic ketone analog E7389. *Cancer Research* 64: 5760-5766.
- Loganzo, F.; Discafani, C. M.; Annable, T.; Beyer, C.; Musto, S.; Hari, M.; Tan, X.; Hardy, C.; Hernandez, R.; Baxter, M.; Singanallore, T.; Khafizova, G.; Poruchynsky, M. S.; Fojo, T.; Nieman, J. A.; Ayrál-Kaloustian, S.; Zask, A.; Andersen, R. J.; Greenberger, L. M. 2003. HTI-286, a synthetic analogue of the tripeptide hemiasterlin, is a potent antimicrotubule agent that circumvents P-Glycoprotein-mediated resistance in vitro and in vivo. *Cancer Research* 63: 1838-1845.
- Mayer, A. M.; Rodriguez, A. D.; Berlinck, R. G.; Hamann, M. T. 2007. Marine pharmacology in 2003–4: Marine compounds with anthelmintic, antibacterial, anticoagulant, antifungal, anti-inflammatory, antimalarial, antiplatelet, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the cardiovascular, immune, and nervous systems and other miscellaneous mechanisms of action. *Comparative Biochemistry and Physiology, C: Comparative Pharmacology and Toxicology* 145: 553-581.
- Mayer, A. M.; Rodriguez, A. D.; Berlinck, R. G.; Hamann, M. T. 2009. Marine pharmacology in 2005–6: Marine compounds with anthelmintic, antibacterial, anticoagulant,



antifungal, anti-inflammatory, antimalarial, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the cardiovascular, immune, and nervous systems and other miscellaneous mechanisms of action. *Biochimica et Biophysica Acta* 1790: 283-308.

- Mayer, A. M. S.; Hamann, M. T. 2002. Marine compounds with anthelmintic, antibacterial, anticoagulant, antidiabetic, antifungal, anti-inflammatory, antimalarial, antiplatelet, antiprotozoal, and antiviral activities; affecting the cardiovascular, immune, and nervous systems and other miscellaneous mechanisms of action. *Comparative Biochemistry and Physiology, C: Comparative Pharmacology and Toxicology* 140: 265-286.

- Munro, M. H. G.; Blunt, J. W., *Marine Literatura DataBase (MarinLit)*, University de Canterbury, New Zealand, 2009.

- Natori, T.; Y., K.; Higa, T. 1993. Agelasphins, novel alpha-galactosylceramides from the marine sponge *Agelas mauritianus*. *Tetrahedron Letters* 34: 5591-5592.

- Natori, T.; Morita, M.; K., A.; Koezuka, Y. 1994. Agelasphins, novel antitumor and immunostimulatory cerebrosides from the marine sponge *Agelas mauritianus*. *Tetrahedron* 50: 2771-2784.

- Orhan, I.; Şener, B.; Kaiser, M.; Brun, R.; Tasdemir, D. 2010. Inhibitory activity of marine sponge-derived natural products against parasitic Protozoa. *Marine Drugs* 5: 47-58.

- Paterson, I.; Lyothier, I. 2004. Total synthesis of (+)-discodermolide: an improved endgame exploiting a Still-Gennari-type olefination with a C1-C8 b-ketophosphonate Fragment. *Organic Letters* 6: 4933-4936.

- Rao, K. V.; Santarsiero, B. D.; Mesecar, A. D.; Schinazi, R. F.; Tezwani, B. L.; Hamman, M. T. 2003. New manzamine alkaloids with activity against infectious and tropical parasitic diseases from an Indonesian sponge. *Journal of Natural Products* 66 (6): 823-828.

- Rao, K. V.; Kasanah, N.; Wahyuono, S.; Tekwani, B. L.; Schinazi, R. F.; Hamman, M. T. 2004. Three new manzamine alkaloids from a common Indonesian sponge and their activity against infectious and tropical parasitic diseases. *Journal of Natural Products* 67 (8): 1314-1318.

- Rao, K. V.; Donia, M. S.; Peng, J. N.; García-Palomero, E.; Alonso, D.; Martínez, A.; Medina, M.; Franzblau, S. G.; Tekwani, B. L.; Khan, S. I.; Wahyuono, S.; Willett, K. L.; Hamann, M. T. 2006. Manzamine B and E and ircinal A related alkaloids from an Indonesian *Acanthostrongylophora* sponge and their activity against infectious, tropical parasitic, and Alzheimer's diseases. *Journal of Natural Products* 69 (7): 1034-1040.

- Rayl, A. J. S. 1999. Oceans: medicine chests of the future? *The Scientist* 13: 1.

- Regalado, E. L. 2010a. Aislamiento e identificación de metabolitos bioactivos a partir de esponjas del Caribe. Tesis en opción al título de Doctor en Ciencias Químicas. Universidad de La Habana, La Habana, Cuba.

- Regalado, E. L.; Laguna, A.; Mendiola, J.; Nogueiras, C.; Thomas, O. P. 2010b. Bromopyrrole alkaloids from the Caribbean sponge *Agelas cerebrum*. *Quimica Nova* (in press).

- Regalado, E. L.; Mendiola, J.; Laguna, A.; Nogueiras, C.; Thomas, O. P. 2010c. Polar alkaloids from the marine sponge *Niphates digitalis*. *Natural Product Communications* 5 (8): 1187-1190.

- Regalado, E. L.; Tasdemir, D.; Kaiser, A.; Cachet, N.; Amade, P.; Thomas, O. P. 2010d. Antiprotozoal steroidal saponins from the marine sponge *Pandaros acanthifolium*. *Journal of Natural Products* 73: 1404-1410.

- Regalado, E. L.; Jiménez, C. M.; Genta-Jouve, G.; Kaiser, M.; Tasdemir, D.; Amade, A.; Nogueiras, C.; Thomas, O. P. 2010e. Acanthifoliosides, minor steroidal saponins from the Caribbean sponge *Pandaros acanthifolium*. Tetrahedron (in press).
- Rudi, A.; Kashman, Y.; Benayahu, Y.; Schleyer, M. 1994. Amino acid derivatives from the marine sponge *Jaspis digonoxea*. Journal of Natural Products 57: 829-832.
  
- Rützler, K.; Feller, C. 1987. Mangrove swamp communities. Oceanus 30 (4): 16-24.
  
- Sakai, R.; Higa, T.; Jefford, C. W.; Bernardinelli, G. 1986. Manzamine A; an antitumor alkaloid from a sponge. Journal of the American Chemical Society 108: 6404-6405.
  
- Scheuer, P. J., Marine metabolites as drug leads-retrospect and prospect. In Biochemical Aspects of Marine Pharmacology [Online] Lazarovici, P.; Spira, M. E.; Zlotkin, E., Eds. Alaken, Inc: Fort Collins, Colorado, 1996; pp. 1-12.
  
- Shen, Y.; Burgoyne, D. L. 2002. Efficient synthesis of IPL576,092: a novel anti-asthma agent. Journal of Organic Chemistry 67: 3908-3910.
  
- Simmons, T. L.; Andrianasolo, E.; McPhail, K.; Flatt, P.; Gerwick, W. H. 2005. Marine natural products as anticancer drugs. Molecular Cancer Therapeutics 4: 333-342.
  
- Simmons, T. L.; Coates, R. C.; Clark, B. R.; Engene, N.; Gonzalez, D.; Esquenazi, E.; Dorrestein, P. C.; Gerwick, W. H. 2008. Biosynthetic origin of natural products isolated from marine microorganism–invertebrate assemblages. PNAS 105 (12): 4587–4594.
  
- Simmons, T. L.; Gerwick, W. H., In Oceans and human health, Walsh, P.; Solo-Gabriele, H.; Fleming, L. E.; Smith, S. L.; Gerwick, W. H., Eds. Elsevier: New York, 2008.
  
- Smith, A. B.; Freeze, B. S.; Xian, M.; Hirose, T. 2005. Total synthesis of (+)-discodermolide: a highly convergent fourth-generation approach. Organic Letters 7: 1825-1828.
- Soriente, A.; De Rosa, M.; Scettri, A.; Sodano, G.; Terencio, M. C.; Paya, M.; Alcaraz, M. J. 1999. Manoalide. Current Medicinal Chemistry 6: 415-431.
  
- Sweetman, S. C., The Complete Drug Reference. In Martindale ed.; Pharmaceutical Press: London, 2000; pp 484-487.
  
- Talpir, R.; Benayahu, Y.; Kashman, Y.; Pannell, L.; Schleyer, M. 1994. Hemiasterlin and geodiamolide TA; two new cytotoxic peptides from the marine sponge *Hemiasterella minor* (Kirkpatrick). Tetrahedron Letters 35: 4453-4456.
  
- Thakur, N. L.; Müller, W. E. G. 2004. Biotechnological potential of marine sponges. Current Science 86 (11): 1506-1512.
  
- Towbin, H.; Bair, K. W.; DeCaprio, J. A.; Eck, M. J.; Kim, S.; Kinder, F. R.; Morollo, A.; Mueller, D. R.; Schindler, P.; Song, H. K.; van, O. J.; Versace, R. W.; Voshol, H.; Wood, J.; Zabudoff, S.; Phillips, P. E. 2003. Proteomics-based target identification: bengamides as a new class of methionine aminopeptidase inhibitors. Journal of Biological Chemistry 278: 52964-52971.

- Uemura, D.; Takahashi, K.; Yamamoto, T.; Katayama, C.; Tanaka, J.; Okumura, Y.; Hirata, Y. 1985. Norhalichondrin A: an antitumor polyether macrolide from a marine sponge. *Journal of the American Chemical Society* 107: 4796-4798.
- Wilkinson, C. R. 1983. Net primary productivity in coral reef sponges. *Science* 219: 410-412.
  
- Yousaf, M.; Hammond, N. L.; Peng, J.; Wahyuono, S.; McIntosh, K. A.; Charman, W. N.; Mayer, A. M. S.; Hamman, M. T. 2004. New manzamine alkaloids from an Indo-Pacific sponge. Pharmacokinetic, oral availability, and the significant activity of several manzamines against HIV-I, AIDS opportunistic infections, and inflammatory diseases. *Journal of Medicinal Chemistry* 47 (14): 3512-3517.