

# A essência das moléculas

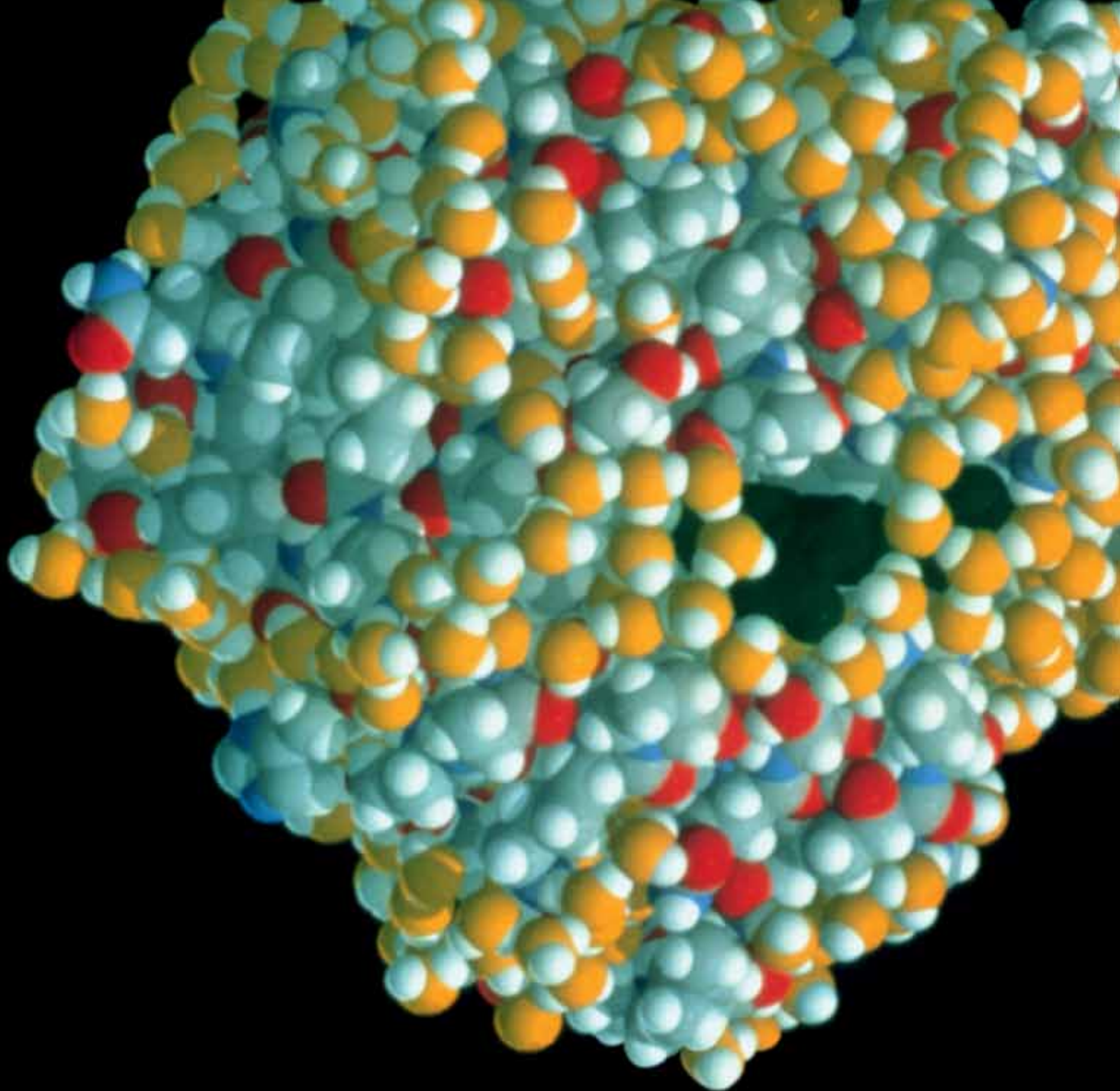
Cristalografia facilita o desenvolvimento de medicamentos

Eduardo Geraque

**S**e há 20 anos eram poucos os laboratórios que usavam a cristalografia no Brasil, hoje são dezenas de centros de pesquisa que dominam esta técnica usada para desvendar a estrutura tridimensional das proteínas. Em São Paulo, o uso da cristalografia deu um salto em 2000 e 2001, com o lançamento do projeto Genoma Estrutural, lançado em conjunto pela FAPESP e pelo Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), ligado ao Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. O projeto Genoma Estrutural injetou US\$ 3,5 milhões em dezenas de laboratórios. Com os recursos, os grupos de pesquisa puderam financiar a compra de equipamentos para expressão, purificação e cristalização de proteínas.

O Centro de Biologia Molecular Estrutural, do Instituto de Física de São Carlos (IFSC) da Universidade de São Paulo (USP), rapidamente se destacou como um dos protagonistas do setor. O grupo já havia elucidado a estrutura molecular de aproximadamente 20 proteínas, usando cristalografia por difração de raio X. As macromoléculas estudadas eram potenciais alvos de inibidores de doenças como hepatite B, malária e alguns tipos de câncer.

Os primeiros passos do centro de cristalografia em São Carlos ocorreram em 1989. “A área estava passando por um *boom* em todo mundo, com muitos centros sendo criados.



A imagem acima representa o oxigênio carregando a mioglobina, uma das primeiras proteínas a serem examinadas por meio da cristalografia; as esferas coloridas representam os aminoácidos da mioglobina, que ajuda a estocar oxigênio nos músculos

Resolvemos fazer algo nosso. O laboratório tinha uma pia de azulejo e 16 metros quadrados, ante uns mil que temos hoje”, conta Glaucius Oliva, coordenador do núcleo da USP de São Carlos. Atual presidente do Conselho Nacional de Pesquisa Científica e Tecnológica (CNPq), ele começou nessa área há trinta anos, durante a graduação em física, sob a orientação da professora Yvonne Mascarenhas, que iniciou os trabalhos com cristalografia em São Carlos. Em 2000, seu grupo ganhou o *status* de um Centro de Pesquisa, Inovação e Difusão (Cepid) e, mais recentemente, de um Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT), com apoio do governo federal e da FAPESP.

**E**m 1992, pela primeira vez, uma proteína, a glucosamina-6-fosfato desaminase da bactéria *Escherichia coli*, foi inteiramente caracterizada no país por meio da cristalografia. Em 1997, mesmo ano em que o grupo do Instituto de Física da USP em São Carlos fez crescer cristais em gravidade zero a bordo de ônibus espaciais norte-americanos, uma linha de luz específica para estudos de cristalografia começou a funcionar no LNLS, em Campinas. De acordo com Oliva, além de ter crescido muito a formação de recursos humanos no setor a partir dos anos 1990, pessoas que hoje lideram grupos de pesquisa em vários estados do Brasil, a cristalografia passou por uma “evolução metodológica e tecnológica muito grande nesse período”.

Se antes todas as soluções usadas para fazer um cristal de uma proteína crescer precisavam ser feitas de forma manual, hoje existem robôs que praticamente montam todo o experimento. A velocidade e o rendimento são muito maiores, dizem os especialistas. “Apesar disso tudo, a técnica ainda é bastante experimental. Não existe teoria para a cristalografia. Você não consegue antever se vai dar certo ou não”, afirma Oliva.

Em paralelo ao amadurecimento do centro de pesquisas em São Carlos, no início dos anos 2000, também com a coordenação do LNLS, começou a funcionar a Rede de Biologia Molecular Estrutural (SMOLBnet), facilitando o trabalho de equipes de dezenas de laboratórios, que identificaram a estrutura tridimensional de 52 proteínas em dois anos (*ver reportagem à página 66*). Nessa época a

## A técnica da cristalografia é usada para planejar novos fármacos e decifrar a estrutura das moléculas do veneno de serpentes

equipe de Oliva fez outro experimento pioneiro, ao elucidar as vias bioquímicas de produção de glicose pelo *Trypanosoma cruzi*, o protozoário da doença de Chagas (*ver reportagem à página 20*).

A Biblioteca Virtual da FAPESP, que registra os projetos apoiados pela instituição desde 1992, cataloga 93 projetos de pesquisa, dos quais 17 estão em andamento e 76 concluídos. Os pesquisadores usam a cristalografia para estudar proteínas que possam levar a novos fármacos ou esclarecer o desenvolvimento de alguns tipos de câncer.

O peso das técnicas modernas de cristalografia é bem percebido por meio de um simples exercício de inverter a logística da produção de um fármaco. Um remédio, para ser eficiente, precisa agir, como no caso da doença de Chagas, na relação entre parasita e hospedeiro. A medicação precisa funcionar e, de preferência, matar o primeiro, sem interferir no segundo.

Mas como enxergar todas estas interações biológicas, em nível molecular? Só por meio de verdadeiras dissecações moleculares de todo o processo. Este é o papel da cristalografia, conjunto de técnicas que detalham a estrutura de proteínas, por exemplo, por meio da difração (espalhamento) dos raios X em um cristal formado pelas proteínas que se deseja estudar.

**Q**uanto mais as pesquisas avançam, mais proteínas são identificadas e validadas pela cristalografia, ampliando o banco de dados biológicos sobre determinado problema. Assim, o número de opções que se terá em mãos para resolver certos desafios em nível molecular tende a ser maior.

Este trabalho de montar e desmontar, em nível molecular, não existe apenas para a doença de Chagas, mas para várias moléstias, além de permitir outras aplicações dentro da biologia em geral. O objetivo é sempre identificar macromoléculas e, em laboratório, tentar sintetizar outros compostos que se ligam aos chamados alvos biológicos. O que se pretende é bloquear aquele caminho, para que alguns desdobramentos normalmente desejáveis, como a morte do *T. cruzi*, ocorram.

Outra prova de que as técnicas de cristalografia são vitais para o desenvolvimento científico vem do mundo

das serpentes. Vários projetos em curso no estado de São Paulo nos últimos anos usam exatamente esta ferramenta para decifrar os venenos desses animais.

A analogia que pode ser feita é fácil de entender. Os componentes da peçonha – e vários projetos de pesquisa contribuíram para essas descobertas recentemente – não são adequados para ser usados clinicamente. Mas, se suas estruturas moleculares forem bem conhecidas, os especialistas acreditam que poderiam trocar uma parte da molécula para alterar sua ação sobre o organismo. Essa modificação planejada na estrutura original de uma molécula poderá, acredita-se, ter um uso terapêutico em muitas doenças.

**U**m grupo de pesquisa da Fundação Hermínio Ometto, de Araras, está trilhando este exato caminho. Os pesquisadores estão interessados em isolar um grupo de enzimas do veneno da serpente *Crotalus durissus terrificus*, a bem conhecida cascavel. Além de outras ferramentas, a cristalografia por difração de raios X está sendo usada para elucidar as estruturas tridimensionais das proteínas selecionadas.

De acordo com o grupo, as enzimas L-aminoácido-oxidases (LAAOs), que conferem ao veneno da serpente uma tonalidade amarelo-âmbar, apresentaram potencial citotóxico, bactericida e antiparasitário *in vitro*. Elas têm sido

descritas como indutoras de uma série de efeitos tóxicos em sistemas biológicos, como agregação plaquetária, hemorragia, edema e apoptose.

A evolução dessas técnicas e dos bancos de dados de estruturas de proteínas, com suas informações moleculares conhecidas, é apenas parte do problema. Também existem lacunas do lado da pesquisa aplicada.

Desde que a mioglobina, uma das primeiras estruturas de uma proteína totalmente conhecida por meio da cristalografia, foi validada nos Estados Unidos em 1960, começou uma evolução paralela no setor empresarial, embora no Brasil poucas empresas invistam em pesquisa de novos fármacos, a principal área em que a cristalografia tem sido aplicada.

As consequências dos avanços na biologia estrutural apenas conseguirão ter um escoamento esperado, em termos de saúde, se os processos de inovação tecnológica e desenvolvimento de fármacos estiverem totalmente azeitados, alertam os pesquisadores. Eles acreditam que o desenvolvimento de moléculas que realmente poderão atingir os alvos biológicos para os quais elas foram desenhadas vai ocorrer só se as universidades e as empresas conseguirem trabalhar em conjunto. Só um produto classificado como rentável pelas empresas poderá receber apoio financeiro e ser fabricado em escala comercial. ■

## OS PROJETOS

1. Instituto Nacional de Biotecnologia Estrutural e Química Medicinal em Doenças Infecciosas – INBEQMeDI – nº 2008/57910-0 (2009-2014)
2. Cristalografia, modelagem molecular e planejamento de substâncias de interesse biológico II – nº 1994/00587-9 (1995-1998)
3. Centro de Biotecnologia Molecular Estrutural – nº 1998/14138-2 (2000-2012)
4. Caracterização bioquímica, estrutural e funcional de L-aminoácido-oxidase isolada do veneno amarelo da serpente *Crotalus durissus terrificus* – nº 2011/12267-6 (2012-2013)

### MODALIDADE

- 1 e 2 Temático
3. Programa Centros de Pesquisa – Cepid
4. Linha regular de auxílio a projeto de pesquisa

### COORDENADORES

1. a 3. Glaucius Oliva – IFSC/USP
4. Maurício Ventura Mazzi – Centro Universitário Hermínio Ometto (UniAraras)

### INVESTIMENTO

1. R\$ 1.340.213,83
2. R\$ 257.249,99
3. R\$ 28.449.954,27
4. R\$ 301.426,83

## DE NOSSO ARQUIVO

### *Quebra-cabeças da vida*

Edição especial Cepids – maio de 2007

### *A chave para novos medicamentos*

Edição nº 57 – setembro de 2000

### *Genes identificados podem ter relação com a CVC*

Edição nº 38 – dezembro de 1998

### *Cooperação no espaço*

Edição nº 21 – junho de 1997

### *Viagem de reconhecimento*

Edição nº 19 – abril de 1997

## Em três dimensões

Passo a passo da criação dos modelos espaciais de proteínas

