

MECANISMO MOLECULAR DE INTERAÇÃO ENTRE OMEPRAZOL E VITAMINA B₁₂

Data de submissão: 19/06/2023

Data de aceite: 01/08/2023

Mayse Manuele Freitas Viana Leal

Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Biofísica e Radiobiologia
Recife – PE
<http://lattes.cnpq.br/7795043583151400>

Dijanah Cota Machado

Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Biofísica e Radiobiologia
Recife – PE
<http://lattes.cnpq.br/6392390197330425>

Janilson José da Silva Júnior

Centro Universitário Maurício de Nassau
(UNINASSAU); Afya Educacional; Centro
Universitário Brasileiro (UNIBRA)
Recife – PE
<http://lattes.cnpq.br/1854930033546834>

Cláudio Gabriel Rodrigues

Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Biofísica e Radiobiologia
Recife – PE
<http://lattes.cnpq.br/0681322721384641>

do omeprazol a longo prazo vem sendo uma prática discutível, uma vez que gera efeitos adversos clinicamente importantes. A deficiência de vitamina B₁₂ vem se destacando como um dos principais efeitos adversos dessa prática. Ainda não se sabe, com precisão, o mecanismo molecular de interação que promove a redução dos níveis plasmáticos de vitamina B₁₂ em decorrência do uso crônico de omeprazol. Nesse contexto, o presente estudo visa esclarecer o mecanismo molecular da interação fármaco-nutriente envolvendo o omeprazol e a vitamina B₁₂. Como principal método de investigação, foi utilizado o docking molecular envolvendo o omeprazol e a proteína transportadora de vitamina B₁₂ (Fator Intrínseco Humano – IF). Este estudo é uma importante contribuição para a obtenção de repostas que visam esclarecer e conscientizar uso correto de medicamentos, além de apontar as consequências clínicas da deficiência de vitamina B₁₂ causada pelo uso crônico de omeprazol. Os achados apontam que o omeprazol ocupa estericamente o mesmo sítio de ligação da vitamina B₁₂ no IF. 4 dos 9 resíduos envolvidos na estabilização da vitamina B₁₂ no IF também estão envolvidos na ligação do omeprazol. Além disso, 4

RESUMO: O tratamento de doenças como úlcera duodenal, esofagite e refluxo baseia-se principalmente no uso de inibidores da bomba de prótons, entre os quais, o omeprazol se destaca. O uso

ligações de hidrogênio estabilizam o omeprazol no sítio ativo da proteína. Isso possibilita propor uma competição entre o omeprazol e a vitamina B₁₂ pelo mesmo sítio de ligação no IF, justificando uma diminuição plasmática desse micronutriente diante do uso crônico do omeprazol.

PALAVRAS-CHAVE: Omeprazol. Vitamina B12. Interação fármaco-nutriente.

MOLECULAR MECHANISM OF INTERACTION BETWEEN OMEPRAZOLE AND VITAMIN B₁₂

ABSTRACT: The treatment of diseases such as duodenal ulcer, esophagitis and reflux is mainly based on the use of proton pump inhibitors, among which omeprazole stands out. The long-term use of omeprazole has been a debatable practice, since it generates clinically important adverse effects. Vitamin B₁₂ deficiency has been highlighted as one of the main adverse effects of this practice. The molecular mechanism of interaction that promotes the reduction in plasma levels of vitamin B₁₂ due to the chronic use of omeprazole is still unknown. In this context, the present study aims to clarify the molecular mechanism of drug-nutrient interaction involving omeprazole and vitamin B₁₂. As the main investigation method, molecular docking involving omeprazole and vitamin B₁₂ transporter protein (Human Intrinsic Factor – IF) was used. This study is an important contribution to obtaining answers that aim to clarify and raise awareness about the correct use of medications, in addition to pointing out the clinical consequences of vitamin B₁₂ deficiency caused by the chronic use of omeprazole. The findings indicate that omeprazole sterically occupies the same binding site of vitamin B₁₂ in the IF. 4 of the 9 residues involved in stabilizing vitamin B₁₂ in the IF are also involved in omeprazole binding. In addition, 4 hydrogen bonds stabilize omeprazole in the active site of the protein. This makes it possible to propose a competition between omeprazole and vitamin B₁₂ for the same binding site in the IF, justifying a plasma decrease of this micronutrient in the face of the chronic use of omeprazole.

KEYWORDS: Omeprazole. B₁₂ vitamin. Drug-nutrient interaction.

1 | INTRODUÇÃO

O omeprazol é um fármaco pertencente à classe de inibidores da bomba de prótons (IBPs), indicado para o tratamento de refluxo gástroesofágico, gastrite, úlcera gástrica, úlcera duodenal e terapia da erradicação de *Helicobacter pylori*. Fazem parte dessa classe outros agentes, tais como o pantoprazol, rabeprazol e lansoprazol, tendo o omeprazol como o mais prescrito e amplamente utilizado. Atua nas células parietais do estômago, diminuindo a liberação do ácido clorídrico estomacal (THONG et al., 2019).

Embora o uso terapêutico do omeprazol seja considerado seguro, a administração crônica do omeprazol pode trazer uma série de efeitos nocivos como: hipocalcemia, cefaleia, erupções cutâneas, osteoporose, redução da absorção de micronutrientes como ferro, cálcio, magnésio e redução dos níveis plasmáticos de vitamina B₁₂. Tendo em vista que esta vitamina participa ativamente da formação de eritrócitos, sua deficiência, resultante do uso prolongado do omeprazol, propicia o surgimento de anemia (MUMTAZ et al., 2022).

A deficiência de vitamina B₁₂ causada pelo uso crônico do omeprazol, pode estar relacionada com diversos fatores, como a redução da acidez gástrica (importante para a absorção da cianocobalamina) ou alteração da microbiota, pois a diminuição da acidez pode aumentar o consumo bacteriano desse micronutriente (MINDIOLA, et al., 2017). No entanto, a deficiência de Vitamina B₁₂ não é clinicamente significativa até 12 meses de tratamento, o que leva a propor que o efeito sobre a acidez não o único mecanismo que explica a redução clinicamente significativa da vitamina B₁₂ (QORRAJ-BYTYQI et al., 2018).

A deficiência nutricional de vitamina B₁₂ causada pelo omeprazol caracteriza uma interação fármaco-nutriente, que é conceituada como uma interação resultante da relação química, física, fisiológica, patológica ou fisiopatológica entre um fármaco e um nutriente ou estado nutricional do indivíduo (BOULLATA; ARMENTI, 2017).

Ainda não se sabe se o omeprazol interage com algum transportador envolvido na absorção da vitamina B₁₂, causando deficiência plasmática desse micronutriente. No entanto, acredita-se que há uma redução na absorção intestinal desta vitamina. Tendo em vista que uma das principais proteínas que participam do processo de absorção intestinal de vitamina B12 é seu transportador - Fator Intrínseco humano (FI), e o omeprazol interfere na absorção desse nutriente (MINDIOLA et al., 2017; MOHN et al., 2018), este o presente estudo tem como objetivo caracterizar, por meio de docking molecular, as interações moleculares entre o omeprazol e o IF, de modo a esclarecer o mecanismo molecular da interação fármaco-nutriente envolvendo o omeprazol e a vitamina B12.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

A estrutura do fator intrínseco humano complexado com a Vitamina B₁₂ foi obtida do Protein Data Bank (PDB), sob código 2pmv. Coordenadas atômicas apenas do monômero protéico (cadeia A) foram salvas utilizando o software VMD (visual molecular dynamics) (HUMPHREY; DALKE; SCHULTEN, 1996). As coordenadas atômicas do omeprazol foram obtidas no banco de dados de substâncias químicas ChemSpider (Royal Society of Chemistry-RSC) e sua estrutura 3D foi construída utilizando o software Avogadro.

Para a realização do docking, foi utilizada a plataforma online DockThor (DE MAGALHÃES et al, 2014). Tal como descrito por Leal, Machado e Silva Júnior (2021), o centro do GRID (7,9 x 38,3 x 20,2) foi definido como sendo as coordenadas do cobalto da Vitamina B₁₂ disponível no no arquivo 2pmv.pdb. Visando cobrir todo o espaço do sítio de interação do fator intrínseco com a Vitamina B₁₂, foi utilizada a seguinte dimensão do GRID: 10 X 10 X 10. Foram utilizados os parâmetros padrões de docking da plataforma online do DockThor. Foi empregado um algoritmo genético com o número máximo de 1.000.000 avaliações, em um total de 30 rodadas, com um tamanho de população de 1000. Foi utilizado um RMSD (Root mean square deviation) de 2Å separando os confôrmeros em função da

energia de interação proteína-ligante. Os demais parâmetros foram estabelecidos seguindo o padrão da plataforma (GMMSB/LNCC, 2015).

Para as análises, foi utilizado o software Discovery Studio Visualizer, uma ferramenta capaz de avaliar os tipos de ligações envolvidas na interação macromolécula-ligante.

Para as análises de potencial eletrostático foi utilizado o software APBS-PDB2PQR, que resolve a equação linearizada de Poisson–Boltzmann (DOLINSKY et al, 2007).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre os métodos utilizados para o estudo de interações envolvendo proteínas e ligantes, o Docking Molecular se destaca. Por meio desse método, é possível caracterizar o comportamento dos ligantes (pequena molécula) no local de ligação da proteína alvo. Por meio dessa abordagem, são geradas informações que auxiliam na elucidação de processos biológicos (McCONKEY et al, 2002), como a possível interação fármaco-nutriente envolvendo o omeprazol e a vitamina B₁₂.

Dentre os conformémeros (isômeros conformacionais ou modos de ligação) resultantes do docking, os três melhores ranqueados estão descritos na tabela 3 de acordo com as energias de interação com IF. Os valores de energia de ligação desses isômeros conformacionais apontam que o omeprazol se liga fortemente ao fator intrínseco.

Posição	Rodada	Energia de interação (kcal/mol)
1	7	-31.265
2	27	-30.081
3	30	-28.520

Tabela 1. Ranking das posições de maior energia de interação que resultaram do docking.

Todas as análises foram realizadas levando em consideração o modo de ligação que apresentou maior energia de interação com a o IF (rodada 7 - posição 1 de score).

A Figura 1 ilustra a disposição da vitamina B12 (extraída do complexo com o IF – 2PMV.pdb) em seu sítio ativo no IF, bem como a disposição do omeprazol no mesmo sítio ativo.

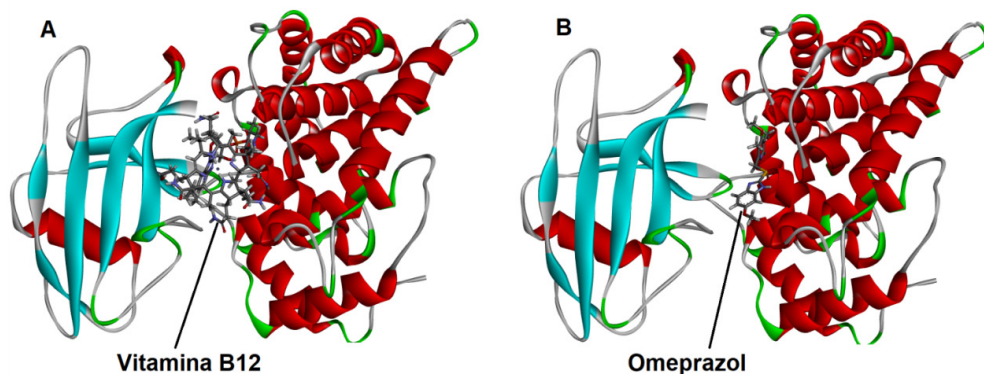


Figura 1. Representação em cartoon do sítio de interação do IF ocupado pela vitamina B12 (A) e omeprazol (B). Representada no VMD. Elaborado pelos autores, utilizando o software VMD.

Quanto à disposição espacial do omeprazol no sítio de interação do IF, é possível observar um adequado encaixe do ligante na proteína. A figura 2 ilustra a disposição espacial do omeprazol na cavidade interna do IF. O sítio ativo apresenta-se bastante acidentado, no entanto, o omeprazol se adequa espacialmente na região, promovendo um ideal encaixe estérico.

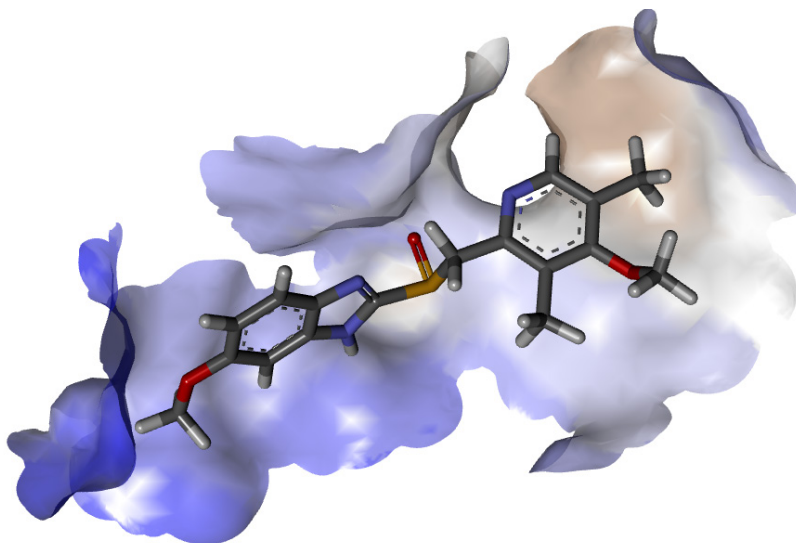


Figura 2. Representação tridimensional da disposição do omeprazol na cavidade interna do IF. Representada no Discovery studio.

As figuras 3 e 4 caracterizam as interações envolvidas na formação do complexo omeprazol - IF. A figura 6 apresenta um arranjo tridimensional dos resíduos de aminoácidos envolvidos do IF e do omeprazol. A figura 4 esquematiza e detalha as interações envolvidas. É possível observar que o omeprazol interage com 7 resíduos do fator intrínseco: LEU 76,

TYR 115, LEU 119, ASP 153, ASP 204, GLN 252 e TRP 348 (Figura 4). Apesar da maior parte das interações envolvidas na formação do complexo omeprazol-IF serem de caráter hidrofóbica, pi-pi e outras, o omeprazol é capaz de formar 4 ligações de hidrogênio como o IF. A figura 6 evidencia que diversas interações intermoleculares estão presentes. Destaque deve ser dado nas linhas tracejadas em verde, que representam ligações de hidrogênio. Essas ligações conferem elevada afinidade de ligação na formação do complexo proteína-ligante (DU et al., 2016).

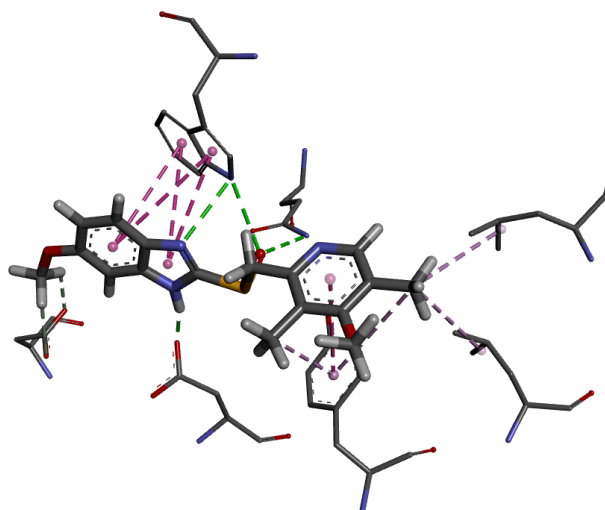


Figura 3. Representação Tridimensional dos resíduos e interações, envolvidos na ligação do IF com o omeprazol. Representada no Discovery studio.

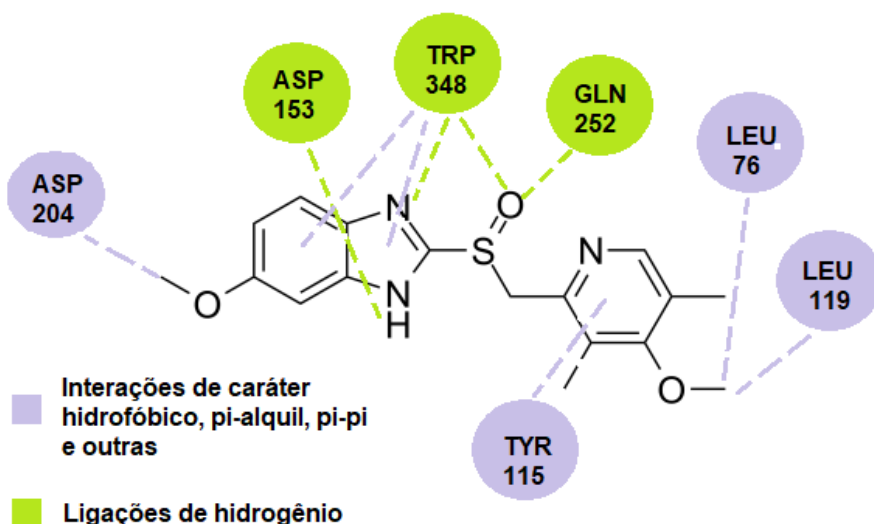


Figura 4. Representação esquemática dos resíduos de aminoácido envolvidos na ligação com o omeprazol, bem como os tipos de interação.

Dados experimentais apontam que entre os resíduos que compõem o sítio de interação da vitamina B12 no IF, 9 resíduos se destacam: His-73, Tyr-115, Asp 151, Asp-153, Asp 204, Gln-252, Ser-347, Phe-370, e Leu-377. Esses resíduos realizam ligações de hidrogênio com a molécula da Vitamina B12 que estabilizam essa molécula em seu sítio de interação (MATHEWS et al, 2007). Tal como já discutido, os achados apontam que o omeprazol interage diretamente com 4 desses resíduos (Tyr-115, Asp-153, Asp-204 e Gln-252), entre os quais três resíduos realizam ligações de hidrogênio (Figura 4). São ao todo 4 ligações de hidrogênio, o que explica a elevada energia de ligação (-31.265 kcal/mol) e a adequada estabilidade conformacional do omeprazol no sítio ativo.

De acordo com Freitas & Schapira (2017), ligações de hidrogênio são interações frequentemente estabilizam interações entre proteínas e ligantes. Portanto, isso nos leva a propor que o omeprazol e o fator intrínseco interagem com adequada estabilidade.

Esses dados sugerem uma competição entre o omeprazol e a vitamina B₁₂ pelo mesmo sítio de interação no IF, uma vez que ocupa o mesmo sítio de interação e interage com alguns dos mesmos resíduos de aminoácido do IF envolvidos na ligação da vitamina B₁₂.

Sabe-se que a redução na absorção da vitamina B₁₂, causada pelo uso do omeprazol, é um dos fatores responsáveis pela deficiência plasmática desse micronutriente. Foi proposto nesse trabalho o uso de docking molecular para avaliar a capacidade do omeprazol em inibir o fator intrínseco humano, um dos transportadores responsáveis pela absorção intestinal da vitamina B₁₂.

O docking molecular destaca-se como uma adequada ferramenta para predizer o mecanismo molecular de interação envolvendo proteína e ligante, contribuindo com a elucidação e compreensão de processos biológicos até então desconhecidos, ao nível molecular (PANTSAR & POSO, 2018). Além, disso, estudos este tipo de apontam que os níveis de vitamina B₁₂ reduzem pelo uso de outros fármacos, como antidiabéticos orais e o mecanismo de redução pode envolver a interação do fármaco com o fator intrínseco humano (LEAL; MACHADO; SILVA JÚNIOR, 2021).

Vale ressaltar a importância do nutricionista na detecção da interação fármaco-nutriente envolvendo o omeprazol e a vitamina B₁₂. Além disso, compete a esse profissional, adequado aconselhamento dietético, de modo a aumentar os níveis plasmáticos desse micronutriente. Existem algumas formas de aumentar os níveis plasmáticos desta vitamina causada pelo omeprazol, entre as quais destacam-se: ingerir o alimento ou suplementação ao final do dia, quando os níveis de omeprazol já estão baixos no plasma; prescrever uma dieta que contenha alimentos com maior percentual de vitamina B₁₂ em sua composição, como o fígado bovino; em casos graves, indicasse que um profissional qualificado aplique dosagens séricas de vitamina B₁₂. Essas adequações nutricionais são úteis no combate à anemia causada pela deficiência de vitamina B₁₂ (DAMANTE & MELO, 2017; CRAVO, 2017).

4 | CONCLUSÕES

Os achados apontam que o omeprazol é capaz de se ligar ao transportador de vitamina B₁₂ com eficiência, pois apresentou um adequado encaixe estérico na cavidade interna do fator intrínseco. Além disso, alguns dos mesmos resíduos envolvidos que compõem o sítio de interação da vitamina B₁₂ também participam da estabilização do omeprazol na mesma região da proteína. Destaque deve ser dado à presença de 4 ligações de hidrogênio estabilizando a molécula do omeprazol na cavidade da proteína, propondo elevada afinidade entre o fármaco e a proteína.

Diante desse contexto, o presente estudo propõe que o omeprazol compete com a vitamina B₁₂ pelo mesmo sítio de interação, que, a nível macroscópico pode diminuir a absorção intestinal desse micronutriente. Portanto, a inibição do fator intrínseco surge como uma possível explicação do mecanismo molecular de interação fármaco-nutriente envolvida na deficiência de vitamina B₁₂ causada pelo uso crônico do omeprazol. Além disso, evidencia-se a importância dos métodos de computacional na elucidação e compreensão de fenômenos biológicos.

REFERÊNCIAS

BOULLATA, J. I. AND ARMENTI, V. T. **Handbook of Drug-Nutrient Interactions**. Ed. 2, vol. 53, Springer, 2017.

CRAVO, Cristiane de Oliveira. **Interpretando a dosagem da vitamina B12**. Revista Brasileira de Nutrição Funcional, 2017. Disponível em: <https://www.vponline.com.br/portal/noticia/pdf/cb47c82452e06d9745f4ff875cb5e89c.pdf>. Acessado em: 01/11/2020.

DAMANTE, A. L. J. & MELO, F. R. G. **O papel do nutricionista no aconselhamento dietético de atletas vegetarianos**. Ling. Acadêmica, Batatais, v. 7, n. 5, p. 95-106, 2017.

DE MAGALHÃES, C. S. et al. **A dynamic niching genetic algorithm strategy for docking highly flexible ligands**. Information Sciences, v. 289, n. 1, p. 206–224, 2014.

DOLINSKY, T. J.; CZODROWSKI, P.; LI, H.; NIELSEN, J. E.; JENSEN, J. H.; KLEBE, G.; BAKER, N. A. **PDB2PQR: Expanding and upgrading automated preparation of biomolecular structures for molecular simulations**. Nucleic Acids Research, v. 35, p. 522-5, 2007.

FREITAS, R. F. & SHAPIRA, M. **A systematic analysis of atomic protein–ligand interactions in the PDB**. Med. Chem. Commun., v. 8, p. 1970–1981, 2017.

GMMSB/LNCC. DockThor: **A receptor-ligand docking program**. 2015. Acessado em 29 de junho de 2015.

HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. **VMD: visual molecular dynamics**. Journal of molecular graphics, v. 14, n. 1, p. 33-38, 1996.

LEAL, M. F. V.; MACHADO, D. C.; SILVA JÚNIOR, J. J. **Caracterização das interações moleculares entre metformina e fator intrínseco humano**. In: O fortalecimento intensivo das ciências biológicas e suas interfaces. Organizadora Poliana Arruda Fajardo. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2021.

MATHEWS, F. S.; GORDON, M. M.; CHEN, Z.; RAJASHANKAR, K. R.; EALICK, S. E.; ALPERS, D. H.; SUKUMAR, N. **Crystal structure of human intrinsic factor: Cobalamin complex at 2.6-Å resolution**. PNAS, v. 104, n 44, p. 17311-17316, 2007.

MCCONKEY, B. J.; SOBOLEV, V.; EDELMAN, M. **The performance of current methods in ligand-protein docking**. Current Science, v. 83, p. 845-855, 2002.

MINDIOLA, A. L.; FERNÁNDEZ, H. M.; ARCINIEGAS, D. R.; REGINO, W. O. **Vitamin B12 Deficiency Associated with Consumption of Proton Pump Inhibitors**. Revista Colombiana de Gastroenterologia, v. 32, n. 3, 2017.

MOHN, E. S.; KERN, H. J.; SALTZMAN, E., MITMESSER, S. H.; McKAY, D. L. Evidence of Drug–Nutrient Interactions with Chronic Use of Commonly Prescribed Medications: An Update. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 36, 2018.

MUMTAZ, H.; GHAFOOR, B.; SAGHIR, H. et al. **Association of Vitamin B12 deficiency with long-term PPIs use: A cohort study**. Ann Med Surg (Lond), v. 26, n. 82:104762, 2022.

PANTSAR, T. & POSO, A. **Binding Affinity via Docking: Fact and Fiction**. Molecules, v. 23, n. 8, p. 1-11, 2018.

QORRAJ-BYTYQI Hasime et al. Proton Pump Inhibitors Intake and Iron and **Vitamin B12 Status: A Prospective Comparative Study with a Follow up of 12 Months**. Open Access Macedonian Journal Medical Sciences, v. 6, n. 3, p. 442–446, 2018.

THONG, B. K. S.; IMA-NIRWANA, S.; CHIN, K. Y. **Proton Pump Inhibitors and Fracture Risk: A Review of Current Evidence and Mechanisms Involved**. International Journal of Environmental Research and Public Health, v. 16, p. 1571, 2019.