



CARACTERIZAÇÃO DAS INTERAÇÕES MOLECULARES ENTRE METFORMINA E FATOR INTRÍNSECO HUMANO

Mayse Leal^{1*}, Janilson Júnior²

¹Acadêmica do Núcleo de Nutrição, UNIBRA ²Professor do Núcleo de Nutrição - Biofísica, UNIBRA / Colaborador do LBM-CT Oleg Krasilnikov, UFPE

*mayseleal1234@gmail.com

INTRODUÇÃO

Metformina é o agente hipoglicemiante oral mais amplamente usado, uma vez que é um agente de primeira linha no tratamento da Diabetes Mellitus Tipo 2. Dentre os efeitos benéficos da metformina, podemos destacar: alteração no metabolismo de carboidratos, diminuição do peso corporal e proteção vascular (JEETENDRA AND TUSHAR, 2016). Além dos efeitos benéficos, podem ser observados efeitos adversos devido ao uso prolongado desse agente terapêutico, dentre os quais, o risco de anemia megaloblástica e neuropatia periférica estão em evidência. Estes efeitos estão associados à significativa redução plasmática de vitamina B₁₂ (também conhecida como cianocobalamina), em virtude da participação deste micronutriente na formação dos eritrócitos e na fisiologia das células nervosas (PAWLAK, 2017).

A deficiência nutricional de vitamina B₁₂ causada pela metformina caracteriza uma típica interação fármaco-nutriente, geralmente descrita como uma interação resultante da relação física, química, fisiológica, patológica ou fisiopatológica entre um fármaco e um nutriente ou estado nutricional (BOULLATA et al, 2012). Como consequência clínica, observam-se alterações na absorção, distribuição e eliminação de um fármaco ou nutriente, por meio de alterações em transportadores fisiológicos ou enzimas responsáveis pela metabolização (BOULLATA AND ARMENTI, 2017), tal como é observado entre o uso de metformina e os níveis plasmáticos de vitamina B₁₂.

As interações fármaco-nutriente representam uma temática de interesse global (LEAL AND SILVA JÚNIOR, 2018). No entanto, muitas interações ainda não estão precisamente esclarecidas, como é o caso da interação fármaco-nutriente envolvendo a metformina e a vitamina B₁₂. Isso torna nítida a necessidade de métodos cada vez mais sofisticados para desmistificar essas interações.

Como descrito anteriormente, ainda não se sabe com precisão, o mecanismo pelo qual a metformina causa deficiência plasmática de vitamina B₁₂, no entanto, acredita-se que há uma redução na absorção intestinal e consequentemente redução na biodisponibilidade desse nutriente (JEETENDRA AND TUSHAR, 2016). Tendo em vista que uma das principais proteínas que participam do processo de absorção intestinal de vitamina B₁₂ é o fator intrínseco humano (IF), e a metformina interfere na absorção desse nutriente, o presente trabalho tem como objetivo caracterizar, por meio de docking molecular, as interações moleculares entre a metformina e o IF.

MATERIAIS E MÉTODOS

A estrutura do fator intrínseco humano complexado com a Vitamina B₁₂ foi obtido no 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 et al, 1996). A molécula da metformina foi obtida no banco de dados de substâncias químicas ChemSpider (Royal Society of Chemistry-RSC) e sua estrutura 3D foi construída utilizando o software Avogadro. O centro do GRID (7,9 x 38,3 x 20,2) foi definido como sendo o cobalto da Vitamina B₁₂ contida no arquivo 2pmv.pdb. A dimensão do GRID (10 X 10 X 10) foi definida visando cobrir todo o espaço do sítio de interação do fator intrínseco com a Vitamina B₁₂.

Foram utilizados os parâmetros padrões de docking da plataforma online do DockThor, empregando um algoritmo genético com o número máximo de 1.000.000 avaliações, com um tamanho de população de 1000 e um total de 30 rodadas. Para a análise do resultado, foi utilizado um RMSD (Root mean square deviation) de 2 Å separando os conformeros em função da energia de interação ligante-proteína.

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)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Docking Molecular é um dos métodos mais utilizados para o estudo da interação entre uma Proteína e uma pequena molécula em nível atômico, possibilitando a caracterização do comportamento dos ligantes (pequena molécula) no local de ligação dos receptores alvo (proteína). 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 a metformina e a vitamina B₁₂.

Dentre os conformeros (isômeros estruturais) resultantes do docking, o três melhores ranqueados estão caracterizados na tabela de acordo com as energias de interação com IF.

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

Score	Rodada	Energia de Interação (Kcal/mol)
1	20	-23.056
2	14	-20.901
3	11	-20.311

Dentre 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 que estabilizam a molécula da Vitamina B₁₂ sem seu sítio de interação (MATHEWS et al, 2007). Os três conformeros interagem diretamente com, pelo menos, 2 dos

resíduos cima, no entanto, o confômero de melhor score apresentou superioridade numérica de interações com o IF. Desta forma, os dados a seguir levam em consideração o confômero de melhor score (rodada 20).

Os resultados do docking mostram que o confômero de metformina que apresentou maior energia de interação, interage diretamente com 3 dos resíduos que formam o sítio de interação da vitamina B12 no IF (151, 153 e 204), por meio do mesmo tipo de interação IF (ligações de hidrogênio). Como mostrado na **figura 1**, as ligações de hidrogênio predominam, porém outros tipos de interação estão presentes, como interações de caráter eletrostático.

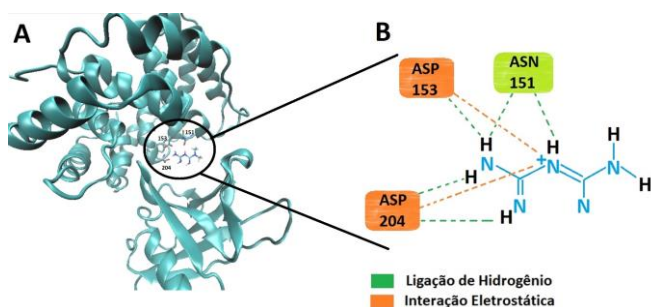


Figura 1. Representação em cartoon do IF com a metformina ocupando seu sítio de interação (A). Diagrama esquemático com as principais ligações envolvidas na interação metformina-IF (B) (Fonte: Elaborado pelo autor, software VMD).

Os resultados computacionais apontam que os resíduos envolvidos na interação da metformina com o IF também participam da interação da Vitamina B12 com o IF, o que sugere uma possível competição da metformina com a Vitamina B12 pelo mesmo sítio de interação, como mostra a **figura 2**.

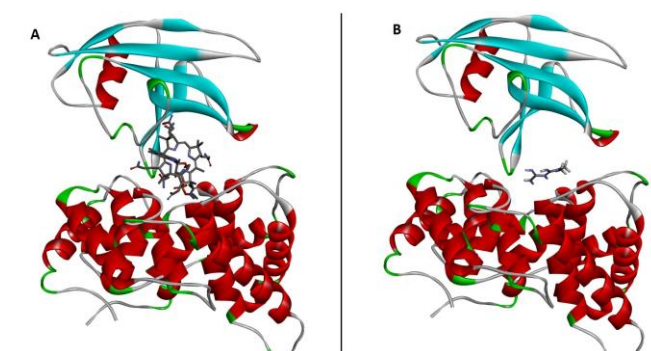


Figura 2. Representação em cartoon do sítio de interação do IF na presença de vitamina B12 (A) e metformina (B) (Fonte: elaborada pelo autor, imagens geradas no Discovery Studio 2017).

O mapa de potencial eletrostático calculado, para avaliar de forma mais precisa as interações de caráter eletrostático entre a metformina e o IF.

A **figura 3** mostra que a metformina posiciona-se em uma região do IF cujo potencial eletrostático tende à negatividade. Isso ocorre, porque a metformina adquire carga líquida positiva em pH fisiológico (EL MESSAOUDI et al, 2016), o que sugere a existência de interações de caráter eletrostático entre a metformina e o IF. Interações estas que contribuem ainda mais com a estabilização da metformina no sítio de interação.

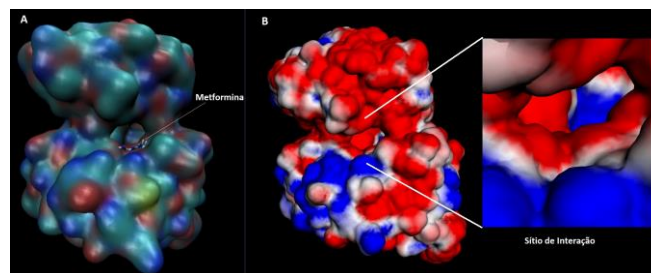


Figura 3. Representação da Metformina no sítio de interação do IF (A). Mapa de potencial eletrostático do IF destacando predominância de resíduos negativamente carregados no sítio de interação (B) (Fonte: elaborado pelo autor, imagens geradas no VMD (A) e APBS-PDB2PQR online (B)).

CONCLUSÕES

Os achados mostram que a metformina interage com resíduos que fazem parte do sítio de interação da vitamina B12 no fator intrínseco humano, por meio de mais de um tipo de ligação (ligações de hidrogênio e atração eletrostática). Isso sugere que mecanismo pelo qual a metformina interfere na absorção da vitamina B12 se dá, por meio da competição pelo mesmo sítio de interação da proteína transportadora da vitamina. Nesse contexto, esses dados contribuem com o esclarecimento do mecanismo molecular de interação fármaco-nutriente dos mesmos. Além disso, métodos experimentais e estudos de dinâmica molecular podem ser úteis de modo a avaliar a dinâmica da interação entre a metformina e o IF e corroborar com este estudo.

REFERÊNCIAS

- BOULLATA J.I. AND ARMENTI V. T. **Handbook of Drug-Nutrient Interactions**. Ed. 2, vol. 53, Springer, 2017.
- BOULLATA, J.I.; HUDSON L. M. Drug-Nutrient Interactions: A Broad View with Implications for Practice. *J Acad Nutr Diet*, v. 112, n. 4, p. 506-17, 2012.
- 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 Res*, v. 35, p. 522-5, 2007.
- EL MESSAOUDI S.; RUSSEL, F. G.; COLBERS, A.; BANDELL, C. C. J. G.; VAN DEN BROEK, P. H. H.; BURGER, D. M.; RONGEN, G. A.; RIKSE N. P. The effect of dipyrindamole on the pharmacokinetics of metformin: a randomized crossover study in healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol*, v. 72, n. 6, p. 725-30, 2016.
- EL MESSAOUDI, S.; RUSSEL, F. G.; COLBERS, A.; BANDELL, C. C. J. G.; VAN DEN BROEK, P. H. H.; BURGER, D. M.; RONGEN, G. A.; RIKSEN, N. P. The effect of dipyrindamole on the pharmacokinetics of metformin: a randomized crossover study in healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol*, v. 72, n. 6, p. 725-30, 2016.
- HUMPHREY W, DALKE A, SCHULTEN K. VMD: visual molecular dynamics. *Journal of molecular graphics*, v. 14, n. 1, p. 33-38, 1996.
- JEETENDRA S. AND TUSHAR B. Metformin Use and Vitamin B12 Deficiency in Patients with Type-2 Diabetes Mellitus. *MVP Journal of Medical Sciences*, v. 3, n. 1, p. 67-70, 2016.
- LEAL, M. M. F. V.; SILVA JÚNIOR, J. J. Interações fármco nutriente: caracterização e métodos inovadores de avaliação. *Revista rios saúde*, v. 1, n. 4, p. 38-48, 2018.
- PAWLAK, R. Vitamin B12 for Diabetes Patients Treated with Metformin. *Fam Med Dis Prev* 2017. v. 3, n. 2, 2017.