

## ESTUDIO COMPUTACIONAL DE LA INHIBICIÓN DE HPPD MEDIANTE COMPUESTOS DE ORIGEN NATURAL

Leonardo Tosoni, Alfonso Pepe, M. Cecilia Carpinella, D. Mariano Vera

Dean Funes 3350, 2º piso Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UNMDP, Mar del Plata, Buenos Aires, CP: 7600, [dmavera@yahoo.com](mailto:dmavera@yahoo.com)

La 4-hidrofenilpiruvato dioxigenasa (4-HPPD o simplemente HPPD) es una metaloenzima que pertenece a un subgrupo de dioxigenasas de hierro mononuclear no hémico dependientes de  $\alpha$ -cetoácido y cataliza la conversión de la 4-hidroxifenilpiruvato (4-HPP) a homogentisato. Esta reacción es el segundo paso en la ruta catabólica de la tirosinasa y se encuentra en la mayoría de los organismos aeróbicos<sup>1</sup>.

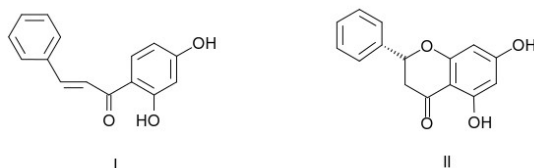


Figura 1: I – 2',4'-dihidroxi-chalcona; II – pinocembrin

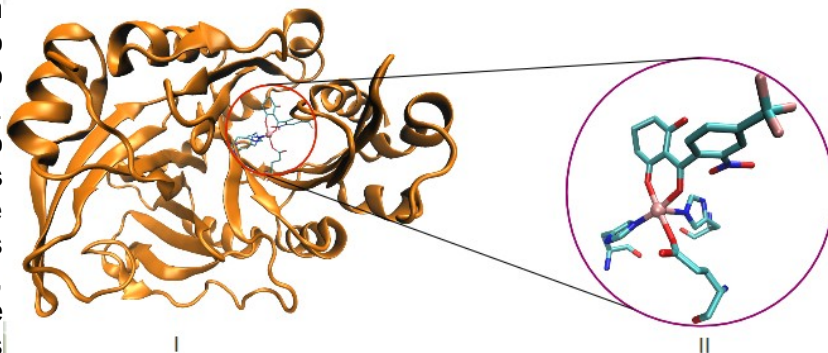
La búsqueda de inhibidores de alta especificidad de la HPPD ha despertado un continuo interés en los últimos tiempos. En el hombre, uno de estos inhibidores es usado para tratar la Tirosinemia tipo I, enfermedad hereditaria autosómica recesiva que si no es tratada puede ser letal. En las plantas, se ha encontrado que la inhibición de la HPPD tiene una importante actividad herbicida,

previniendo la producción de plastoquinonas, cofactores redox que se encuentran en la ruta de la fotosíntesis<sup>2</sup>.

La búsqueda de inhibidores naturales de la HPPD propone la utilización de compuestos que posean una igual o mejor capacidad inhibitoria de los inhibidores sintéticos. Gracias al trabajo de la Dra. Carpinella, se pudieron aislar compuestos de plantas del centro de la Argentina que lograron mostrar una efectiva capacidad inhibitoria de la HPPD *in vitro*<sup>3</sup>.

Nuestra investigación se centra en el estudio computacional de la inhibición de la HPPD. Nuestra atención se centró en dos inhibidores sintéticos, el NTBC y el mesotrione y en dos inhibidores naturales, el pinocembrin y la 2',4'-dihidroxi-chalcona (Figura 1). En 1º lugar, para cálculos *ab*

*initio*, se construyó un modelo reducido de sitio activo como modelo biomimético de la HPPD. Se determinó el estado de multiplicidad mas estable para el átomo de hierro. Con los resultados anteriores, se calcularon, usando métodos de primeros principios, las energías electrónicas de las reacciones de



I - Estructura cristalográfica de la HPPD de la *Streptomyces Avermitilis*; II - Zoom del sitio activo

formación de complejos para cada uno de los inhibidores. En 2º lugar, se realizaron

simulaciones de cribado virtual (docking). Para ello, se utilizaron las estructuras cristalográficas de la HPPD de la *Rattus norvegicus*, *Streptomyces avermitilis* y *Homo sapiens* (pdb id: 1sqd, 1t47 y 3isq respectivamente). También se realizaron estudios cuánticos de la acidez de los inhibidores con el fin de determinar el estado de protonación de los mismos en el entorno de la enzima. Finalmente, se realizaron estudios conformacionales de los mismos inhibidores de manera de determinar los mínimos conformacionales.

Tanto los cálculos *ab initio* como los resultados del cribado virtual muestran que el pinocembrin y la 2',4'-dihidroxichalcona posee un potencial de inhibición mucho mayor que los inhibidores sintéticos. Sin embargo, el pinocembrin demostró poseer una capacidad inhibitoria mucha mayor, superando a la 2',4'-dihidroxichalcona.

#### **Referencias**

1. K. Johnson-Winters, V. M. Purpero, M. Kavana, T. Nelson, G. R. Moran. *Biochemistry* 2003, 42, 2072-2080
2. C. Yang, J.W. Pflugrath, D. L. Camper, M. L. Foster, D. J. Pernich, T. A. Walsh. *Biochemistry* 2004, 43, 10414-10423
3. María Eugenia Chiaria, Domingo Mariano A. Vera, Sara María Palacios, María Cecilia Carpinella. Volume 19, Issue 11, 1 June 2011, Pages 3474–3482