

Explorando nuevas aplicaciones de Dioxigenasas tipo Rieske: reacciones de ciclopropanación

Rodrigo Arce¹, Victoria Giorgi¹, Ignacio Carrera², Agustina Vila¹

¹Laboratorio de Biocatálisis y Biotransformaciones (LBB), Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

²Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

avila@fq.edu.uy

Las dioxigenasas tipo Rieske (RDOx) son enzimas bacterianas comúnmente utilizadas para dihidroxilación de arenos por su alta regio- y estereoselectividad. Durante el estudio de estas enzimas nuestro grupo ha explorado distintas actividades catalíticas¹⁻³ centradas en la reactividad del átomo de hierro que presentan en su sitio activo, entre ellas la capacidad de formar carbenos y catalizar reacciones de ciclopropanación (Figura 1A), de manera análoga a lo que ha sido reportado previamente para otras enzimas de hierro como las monooxigenasas hemo dependientes.⁴⁻⁶ La posibilidad de aplicar estas enzimas a la formación de nuevos enlaces C-C resulta de interés como aporte de una nueva herramienta a la síntesis orgánica clásica dada la alta quimio, regio y estereoselectividad que caracteriza las reacciones enzimáticas, así como su menor impacto ambiental.

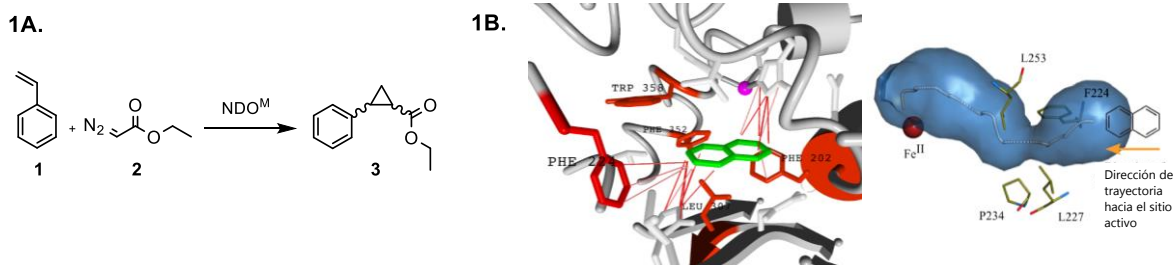


Figura 1: A. Reacción de ciclopropanación en estudio. B. Aminoácidos modificados en las bibliotecas de NDO utilizadas.

En este trabajo se estudiaron 6 bibliotecas de mutantes de la Naftaleno Dioxigenasa (NDO^M) en posiciones claves del sitio activo y su túnel de acceso (F202_NHT, F224_RNC, H295_NHT, L307_NHT, F352_NHT y W358_NHT, Figura 1B), utilizando células enteras de *E. coli* JM109 (DE3) recombinantes como biocatalizadores en la reacción entre estireno (**1**) y diazoacetato de etilo (**2**) en condiciones anaerobias, y se compararon con la cepa que expresa la NDO nativa. En un primer screening se analizaron 34 colonias de las bibliotecas NHT y 22 colonias de la biblioteca RNC en placas multipocillo, y tras el análisis de los productos por GC-FID y GC-MS se seleccionaron 64 clones que mostraron conversiones mayores que la cepa nativa, los cuales se sometieron a un segundo screening. Así se seleccionaron los dos clones con mayores conversiones pertenecientes a las bibliotecas F352 y W358 con los que actualmente se está trabajando a mayor escala para determinar el rendimiento y evaluar el exceso diastereomérico y exceso enantiomérico de los productos obtenidos (**3**).

1. Vila, M. A. *et al. ChemBioChem* 17, 291–295 (2016). 2. Vila, M. A. *et al. Adv. Synth. Catal.* 359, 2149–2157 (2017). 3. Vila, M. A., Steck, V., *et al. ChemBioChem* 1900783, 1–8 (2020). 4. Brandenburg, O. F., *et al. J. Am. Chem. Soc.* 141, 8989–8995 (2019). 5. Bordeaux, M., *et al. Angew. Chemie - Int. Ed.* 54, 1744–1748 (2015). 6. Coelho, P. S. *et al. Nat. Chem. Biol.* 9, 485–487 (2013).