

## Estudio de la actividad oxima deshidratasa en Dioxigenasas tipo Rieske

Agustina Cardoso<sup>1</sup>, Martín Cerdón<sup>1</sup>, Diego Umpiérrez<sup>1,2</sup>, Nicolás Veiga<sup>3</sup>, Sonia Rodríguez<sup>1</sup>, Ignacio Carrera<sup>1</sup>, Agustina Vila<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Biotocatálisis y Biotransformaciones, DQO - DEP BIO, Facultad de Química - Udelar

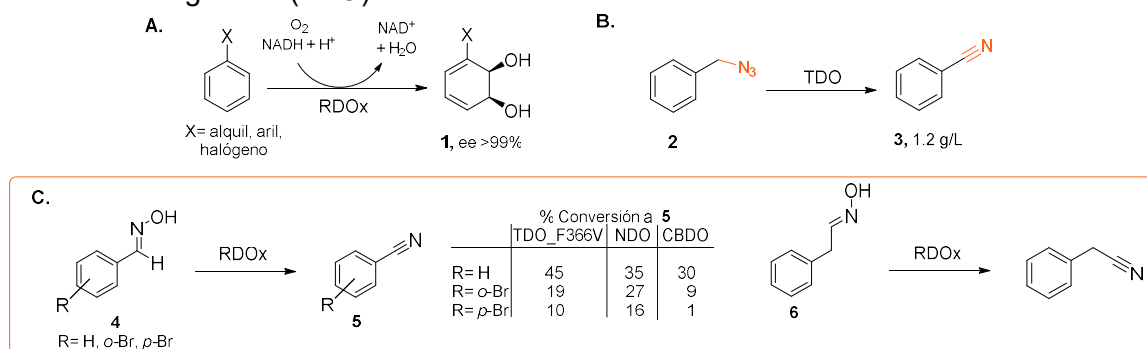
<sup>2</sup> Área Bioquímica, DEP BIO, Facultad de Química – Udelar

<sup>3</sup> Química Inorgánica, DEC, Facultad de Química – Udelar

\*Autor correspondiente: avila@fq.edu.uy

Las dioxigenasas tipo Rieske (RDOx) constituyen una superfamilia de enzimas bacterianas involucradas en el metabolismo de compuestos aromáticos que catalizan la dihidroxilación de arenos con alta regio- y enantioselectividad para dar los *cis*-ciclohexadienodiolos tipo **1** (figura 1A). Nuestro grupo cuenta con amplia experiencia en el trabajo con estos sistemas enzimáticos ya que sus productos son asequibles únicamente por biotransformación y tienen un alto potencial de uso en rutas sintéticas enantioselectivas. En los últimos años evidenciamos actividades promiscuas basadas en la capacidad del átomo de hierro del sitio activo de coordinar directamente sustratos orgánicos como lo hace con el O<sub>2</sub> en sus reacciones naturales. Entre ellas reportamos por primera vez la biotransformación de la benzilazida **2** al benzonitrilo **3** (figura 1B), que acompañada de estudios mecanísticos nos llevaron a proponer la formación de una oxima (**4**, R=H) y su posterior deshidratación,<sup>1</sup> siendo esta actividad de gran interés por el valor sintético de estos grupos funcionales y las ventajas que ofrecen los métodos biocatalíticos para su obtención.<sup>2</sup>

El presente trabajo muestra los resultados de un estudio profundo sobre la actividad oxima deshidratasa. Primero se estudió el impacto de la presencia de oxígeno en la reacción con un panel de 7 biocatalizadores pertenecientes a tres familias de dioxigenasas tipo Rieske distintas utilizando benzaldoxima (**4**, R=H) como sustrato modelo. Los biocatalizadores que mostraron mejores conversiones se ensayaron frente a un panel más amplio de sustratos (**4** y **6** figura 1C). En una segunda etapa se incorporaron 6 biocatalizadores más pertenecientes a distintas sub-familias de RDOx. Se presentarán también resultados de biotransformación en escala de 100 mL y de estudios *in silico* que brindan información relevante sobre el mecanismo implicado en la deshidratación de oximas catalizada por la Tolueno Dioxigenasa (TDO).



**Figura 1:** A. Actividad natural de dioxigenasas tipo Rieske. B. Biotransformación de benzilazida a benzonitrilo catalizada por Tolueno Dioxigenasa. C. Resultados preliminares de la biotransformación de las benzaldoximas (**4**) por los tres mejores biocatalizadores encontrados inicialmente (TDO\_ F366V, NDO: Naftaleno Diox., CBDO: Clorobenceno Diox.)

### Referencias

- Vila, M. A. *et al.* Toluene Dioxygenase-Catalysed Oxidation of Benzyl Azide to Benzonitrile: Mechanistic Insights for an Unprecedented Enzymatic Transformation. *ChemBioChem* **17**, 291–295 (2016).
- Betke, T. *et al.* Biocatalytic Synthesis of Nitriles through Dehydration of Aldoximes: The Substrate Scope of Aldoxime Dehydratases. *ChemBioChem* **19**, 768–779 (2018).

**Agradecimientos:** Facultad de Química – Udelar; PEDECIBA – Química; Fondo Vaz Ferreira – DICYT, MEC; CETP – UTU, Fondo Clemente Estable – ANII.