

## Resumen

---

Los  $\alpha$ -alquil- $\beta$ -hidroxiésteres quirales son sintones de particular versatilidad en estrategias sintéticas ya que presentan dos estereocentros en una molécula con muchas posibilidades de derivatización. La síntesis biocatalítica de los mismos por reducción del  $\alpha$ -alquil- $\beta$ -cetoéster precursor resulta un método muy conveniente para su obtención. Sin embargo no se cuenta aún con biocatalizadores que permitan acceder en forma general y económica a todos los isómeros ópticos. La mayoría de los biocatalizadores reportados siguen la regla de Prelog, permitiendo acceder sólo a los isómeros con configuración  $3S$ . El objetivo del presente trabajo consistió en la identificación de reductasas con actividad anti Prelog y el desarrollo de cepas recombinantes que expresaran las mismas de modo de completar el espectro de biocatalizadores disponibles para la síntesis de  $\alpha$ -alquil- $\beta$ -hidroxiésteres quirales.

Para lograr identificar nuevas enzimas que permitieran construir estos biocatalizadores, se desarrolló un método rápido de screening para la identificación de genes correspondientes a enzimas con actividad reductasa. Se utilizó como modelo la cepa *Paucimonas lemoignei*, la cual expresa una  $\beta$ -cetoéster reductasa con actividad anti Prelog, aunque no se conoce el gen que la codifica. Utilizando este método fueron identificados genes que codifican para posibles  $\beta$ -cetoéster reductasas, uno de los cuales fue clonado y expresado en diversas cepas de *E. coli*. Las cepas recombinantes generadas fueron utilizadas en diversos ensayos de biotransformación con el objetivo de caracterizar su especificidad de sustrato y su diastereo y enantioselectividad. Uno de los biocatalizadores desarrollados presentó actividad  $\beta$ -cetoéster reductasa sobre todos los  $\alpha$ -alquil- $\beta$ -cetoésteres utilizados como sustratos, exhibiendo actividad anti Prelog en la reducción de  $\alpha$ -alil y  $\alpha$ -propargil acetoacetato de etilo. Esta cepa constituye el primer biocatalizador de célula entera para la síntesis de *anti* ( $2R$ ,  $3R$ )  $\alpha$ -alquil- $\beta$ -hidroxiésteres, ampliando el repertorio de biocatalizadores disponibles para la síntesis de  $\alpha$ -alquil- $\beta$ -hidroxiésteres quirales. El método desarrollado se podrá utilizar en el futuro para la búsqueda de nuevas  $\beta$ -cetoéster reductasas de interés para biocatálisis.