



酶资源在天然产物合成中的应用

王进¹, 董浩然², 雷晓光^{1,2*}

1. 北大-清华生命联合中心, 北京大学前沿交叉学科研究院, 北京 100871

2. 北京分子科学国家研究中心, 生物有机与分子工程教育部重点实验室, 北京大学化学与分子工程学院, 北京 100871

*通讯作者, E-mail: xglei@pku.edu.cn

收稿日期: 2025-04-07; 接受日期: 2025-04-21; 网络版发表日期: 2025-05-06

国家自然科学基金(编号: 22193073)资助项目

摘要 随着天然产物生物合成酶的不断解析, 酶作为一种独特的生物资源在天然产物全合成中的应用日益广泛, 推动了化学-酶法策略成为该领域的研究热点. 酶的应用不仅提升了天然产物合成的精准性和效率, 还拓展了传统化学合成的边界, 促进了天然产物资源的深度开发与利用. 本文基于本课题组的研究实践及近三年来国内其他课题组的代表性工作, 系统总结了酶催化反应在天然产物合成中的三大应用维度: 提供新的合成起点、驱动后期复杂骨架的构建以及助力后期精准修饰, 为酶资源在天然产物合成中的进一步应用提供参考.

关键词 酶, 化学酶法合成, 天然产物合成, 生物催化

1 引言

天然产物作为小分子药物、先导化合物和小分子探针的重要来源, 在生物机制的阐释和相关疾病的治疗方面发挥着不可替代的作用. 根据相关统计, 天然产物及其衍生物在美国食品药品监督管理局(FDA)批准上市的小分子药物中占据了1/2左右^[1]. 然而, 大多数天然产物的分离与提取往往面临产量有限的挑战, 通常仅能获得毫克产量. 这种有限的可获得性严重制约了天然产物的深入研究和开发, 而天然产物高效全合成无疑是解决这一问题的重要方法.

随着越来越多的生物合成酶被解析, 酶作为一种独特的生物资源, 正在成为天然产物全合成的强有力工具. 一方面, 酶催化反应的高效性、高选择性为天然产物合成提供了新的催化剂, 为天然产物合成中关

键步骤的解决提供了全新的方案; 另一方面, 生物合成路径的解析和酶催化反应的引入, 为天然产物的逆合成分析提供了新的视角, 从而为更高效的合成路线的设计提供了灵感和基础. 基于此, 将酶催化反应与传统化学方法相结合的化学酶法策略被越来越多地应用于活性天然产物的合成中^[2-6], 这一策略不但为天然产物的合成提供了全新的思路, 而且极大地促进了相关天然产物资源的进一步开发和利用.

本文旨在探讨酶催化反应在天然产物全合成中的应用, 并非就天然产物化学酶法合成进行全面综述. 结合本课题组和近三年来国内其他课题组的代表性工作, 本文从酶催化反应在全合成不同阶段的应用出发, 分三个方面进行总结, 以期对生物催化在天然产物合成中的进一步应用提供参考. 限于篇幅, 本文未能包含所有相关的优秀工作, 我们对此深表歉意.

引用格式: Wang J, Dong H, Lei X. The application of enzyme resources in the synthesis of natural products. *Sci Sin Chim*, 2025, 55: 1196-1202, doi: 10.1360/SSC-2025-0120

2 酶催化反应为天然产物合成提供起点

天然产物合成的起点通常为商业可得简单原料, 而酶催化反应优异的选择性与反应性不但能够为起始原料引入最关键的手性中心或者官能团, 还能够快速构建复杂的环系结构, 从而为天然产物合成开辟全新的起点.

本团队^[7]在对双苄基异喹啉生物碱的合成中, 从多巴胺**1**出发, 通过 $\Delta 21CjNCS$ (来源于日本黄连 *Coptis japonica* 的NCS合酶)催化的不对称Pictet-Spengler反应, 串联区域选择性地酶促甲基化(catechol-*O*-methyltransferase from *Rattus norvegicus*, *RnCOMT*, 来源于大鼠的儿茶酚-*O*-甲基转移酶)以连续一锅的方式实现了多种苄基四氢异喹啉单体的高效制备. 以此作为基础, 通过改进的Ullmann偶联反应将两个苄基异喹啉单元进行模块化组装, 成功实现了多种线性双苄基异喹啉生物碱的简洁化学酶法全合成. 进一步地通过仿生酚氧化偶联反应选择性地生成C-O键, 结合分子内Suzuki-Miyaura反应或分子内Ullmann偶联, 实现了三种环状双苄基异喹啉生物碱的对映选择性全合成(图1). NCS酶为合成提供了关键的手性苄基四氢异喹啉骨架, 而甲基转移酶则为关键甲基官能团的选择性引入提供了工具.

李健课题组^[8]以Baeyer-Villiger酶CHMO催化外消旋底物**10**进行立体选择的Baeyer-Villiger氧化反应, 得到关键前体**11**, 进而以此为基础完成了多个前列腺素系列天然产物的模块化快速合成. 类似的, 陈芬儿与黄则度课题组^[9]也报道了基于Baeyer-Villiger酶CHMO催化的前列腺素系列天然产物的合成路线. 此外, 类似的, 陈芬儿、唐培教授课题组^[10]也采用CHMO催化的不对称Baeyer-Villiger氧化反应, 以原料**13**的去对称化氧化反应作为合成的起点, 完成了多个Tacaman生物碱的立体发散式全合成(图2). 这些研究充分展示了CHMO催化的不对称Baeyer-Villiger氧化反应在复杂天然产物合成起始阶段引入关键手性中心的重要作用.

近年来, 随着合成生物学的发展, 利用微生物生产关键前体化合物作为合成原料的模式被运用于复杂天然产物的合成中. 徐正仁课题组^[11]在对海洋真菌来源的Cyclopiane二萜天然产物的合成中, 创新性地采用基于“异戊烯醇利用途径”的萜类异源合成技术, 利用

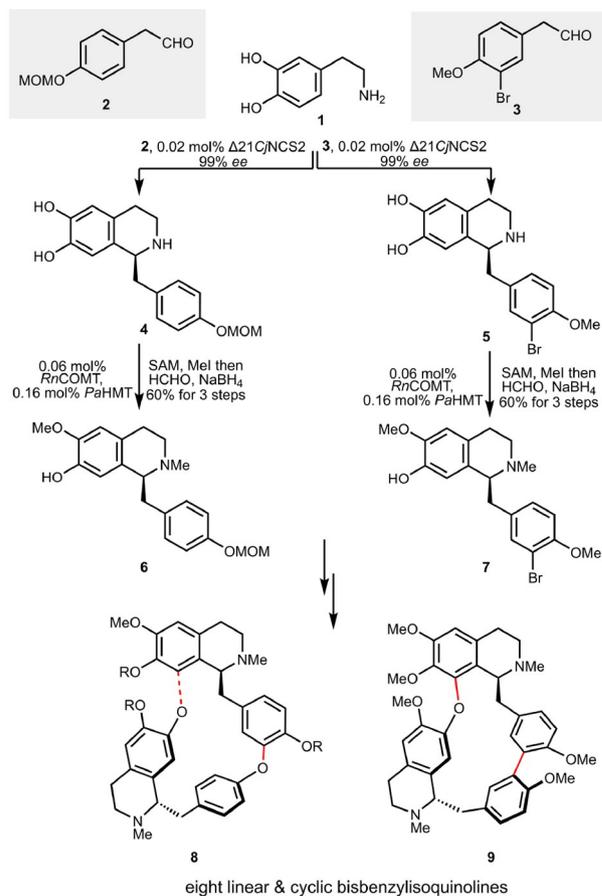


图1 (网络版彩图) NCS催化的Pictet-Spengler反应和 *RnCOMT*催化的区域选择性甲基化在合成双苄基异喹啉生物碱中的应用

Figure 1 (Color online) NCS-catalyzed Pictet-Spengler reaction and *RnCOMT*-catalyzed regioselective methylation in the synthesis of bisbenzylisoquinoline alkaloids.

萜烯环化酶在大肠杆菌中实现了cyclopiane二萜骨架 deoxyconidiogenol (**17**)的异源制备, 产率可达50 mg/L, 为后期官能团化和骨架扩展提供了充足的物质基础. 随后, 该课题组通过直接氧化态调整、导向碳氢键活化和细胞色素P450催化羟化等策略, 实现了多种不同氧化态cyclopiane二萜天然产物的合成. 此外, 通过酸催化的骨架重排反应, 实现了两种新颖骨架的合成, 最终共计完成了10个cyclopiane二萜天然产物的合成, 为合成生物学助力复杂天然产物研究提供了重要参考(图3).

3 酶催化反应驱动后期复杂骨架的构建

复杂骨架的构建往往是天然产物合成中的难点,

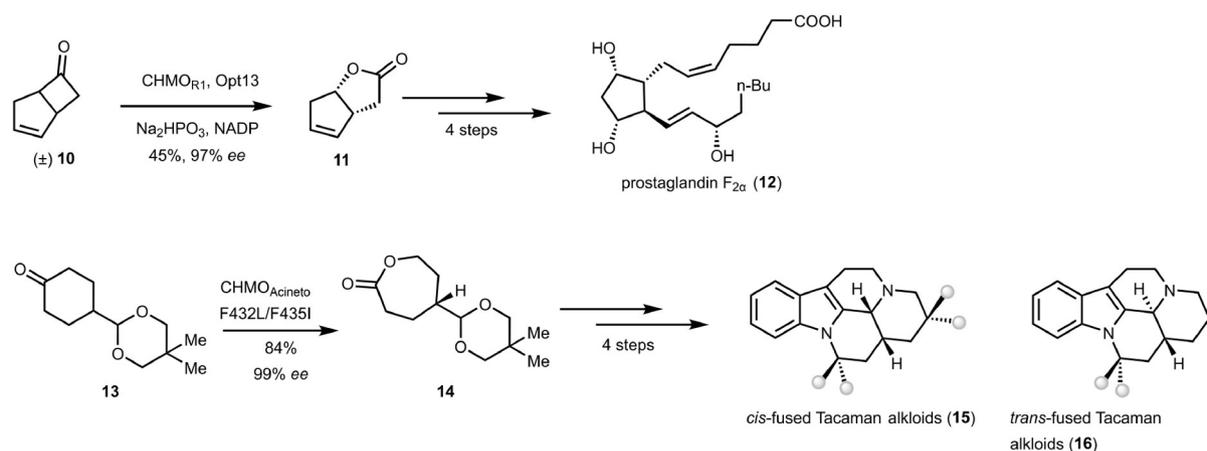


图2 CHMO催化的不对称Baeyer-Villiger氧化在天产物合成中的应用

Figure 2 CHMO-catalyzed asymmetric Baeyer-Villiger oxidation in the synthesis of natural products.

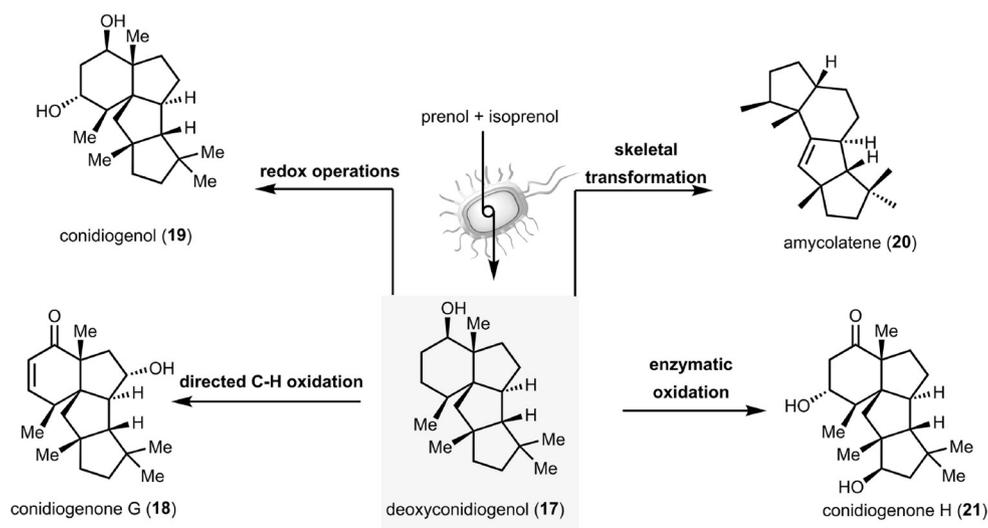


图3 合成生物学辅助的Cyclopiane型二萜的合成

Figure 3 Synthetic biology-assisted synthesis of cyclopiane-type diterpenes.

尤其是在合成后期. 随着越来越多的生物合成酶被解析, 酶在构建复杂骨架上的潜力逐步被释放. 与传统化学方法相比, 酶催化构建复杂骨架往往具有更高的效率、更优异的选择性, 从而大大提高整体路线效率.

环加成反应是构建环系骨架的常见方法, 随着近年来越来越多的周环反应酶被发现, 酶催化的Diels-Alder反应为立体选择性地构建天然产物中的六元环骨架提供了全新工具. 本研究组^[12-16]在对来源于桑科植物中具有环己烯骨架的天然产物研究中, 发现了首例催化分子间Diels-Alder反应的酶. 通过化学方法合

成亲双烯体(23)和双烯体(24), 最终在*endo*选择性地MaDA或MaDA1的催化下可合成如chalconoracin (25)等*endo*型天然产物, 而MaDA2/MaDA3可用于mangolicin F (26)等*exo*型天然产物的合成(图4). 值得注意的是, MaDAs具有相当宽泛的底物谱, 可用于多种非天然环己烯骨架的合成. 此外, 通过定向进化和与脱羧偶联相结合, MaDA1的底物空间还可以进一步得到拓展, 从而用于合成多种多样的环己烯骨架^[15].

天然产物生物合成途径中形成关键碳碳键的酶往往能够为相关天然产物骨架的合成提供全新的工具,

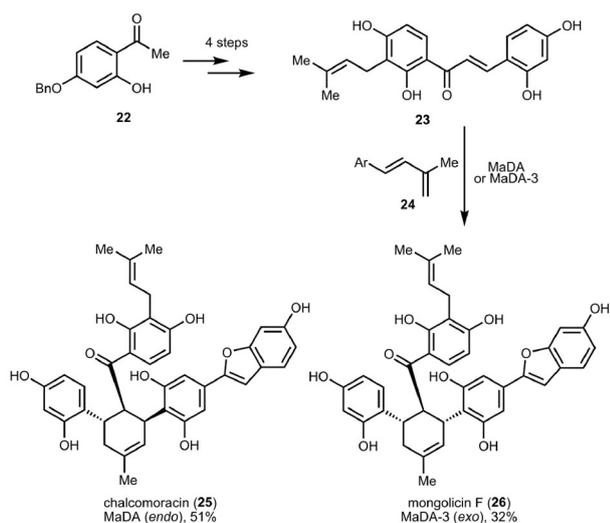


图 4 MaDAs催化的Diels-Alder反应在合成桑树天然产物的应用

Figure 4 MaDAs-catalyzed Diels-Alder reaction in the synthesis of mulberry natural products.

从而助力天然产物的高效构建. 项征课题组^[17]在对cylindrocyclophane类天然产物合成中, 结合晶体研究^[18]和定点突变, 以生物合成途径中的关键酶CylK的突变体CylK-L11A催化分子间傅克烷基化反应形成[7,7]对环骨架, 以6~8步的最长线性步骤完成了多个cylindrocyclophane类天然产物的合成, 合成效率相比单一化学合成有了较为显著的提高(图5).

4 酶催化助力复杂骨架的后期精准修饰

在天然产物骨架上特定位置引入所需的官能团是完成天然产物精准构建的关键因素. 酶催化的优异选择性为天然产物骨架的后期修饰提供了新的催化剂. 其中, 最为广泛应用的便是酶催化的多种氧化反应, 如C-H氧化反应、环氧化反应等. 尽管近年来金属催化C-H活化反应得到了蓬勃发展, 但酶催化的C-H修饰反应往往具备常规反应难以比拟的选择性, 为复杂天然产物骨架的定点修饰开辟了新的途径.

本研究组^[19]在对抗菌聚酮天然产物alchivemycin A (35)的合成中(图6), 利用分子间的Suzuki-Miyaura偶联反应、分子内胺解反应介导的大环内酰胺化以及Lacey-Dieckmann缩合反应等关键化学合成步骤, 精准地完成了含有tetramic acid结构的复杂分子骨架32的构建, 并以此非天然酶催化底物为起点, 利用AvmO3

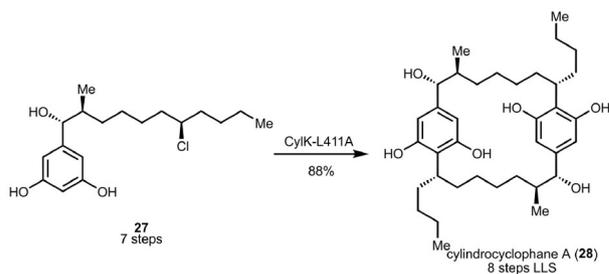


图 5 CylK-L411A催化傅克烷基化反应在cylindrocyclophane类天然产物合成中的应用

Figure 5 CylK-L411A-catalyzed Friedel-Crafts alkylation in the synthesis of cylindrocyclophane natural products.

和AvmO2两种氧化酶进行立体选择性和区域选择性的环氧化. 最后利用酶催化的Baeyer-Villiger氧化反应, 将tetramic acid的酰胺键直接进行氧化来构建TDO杂环, 从而完成天然产物的合成. 为了提高最后一步反应中AvmO1对于非天然底物的活性, 本研究组利用基于理性设计的策略对AvmO1进行工程化改造, 开发了突变体AvmO1-Y282R, 能够显著提升对非天然底物的反应活性, 从而大幅提升了天然产物alchivemycin A的合成效率. 值得注意的是, 目前尚无化学方法能在如此复杂的底物中完成TDO杂环的构建, 这更加彰显了酶催化在天然产物复杂骨架的精准修饰上的优势.

李健课题组^[20]成功开发了一种基于化学酶法策略的对labdane型骨架的氧化态自由调控的方法. 该研究通过酶库筛选和定向进化技术, 优化了 α -KG依赖的双加氧酶AndA, 成功实现了对脱氢香紫苏内酯在C1、C2、C3、C5和C6位点的选择性氧化. 此外, 该团队还结合化学方法, 从36出发, 实现了对底物的连续氧化, 生成了20个不同氧化态的衍生物, 并在此基础上完成了nimbolide (40)的无保护基形式合成, 完美展现了酶催化选择性C-H氧化在合成高氧化态天然产物的巨大潜力(图7).

针对甾体骨架的修饰酶为相关天然产物的合成提供了全新的路径. 刘文和桂敬汉课题组^[21]开发了一种化学-酶催化合成策略, 用于高效合成9,10-开环甾体天然产物. 这类甾体具有多种生物活性, 如抗病毒、抗炎和抑制肿瘤细胞等. 该研究团队从红球菌(*Rhodococcus rhodochrous*)中发现了一种名为KSH的Rieske型非血红素单加氧酶, 能够高效实现甾体的选择性C9 α -羟基化, 并通过后续的C9-C10键的碎裂串联反应生成9,10-开环甾体. 该酶不仅适用于多种底物, 还能进行

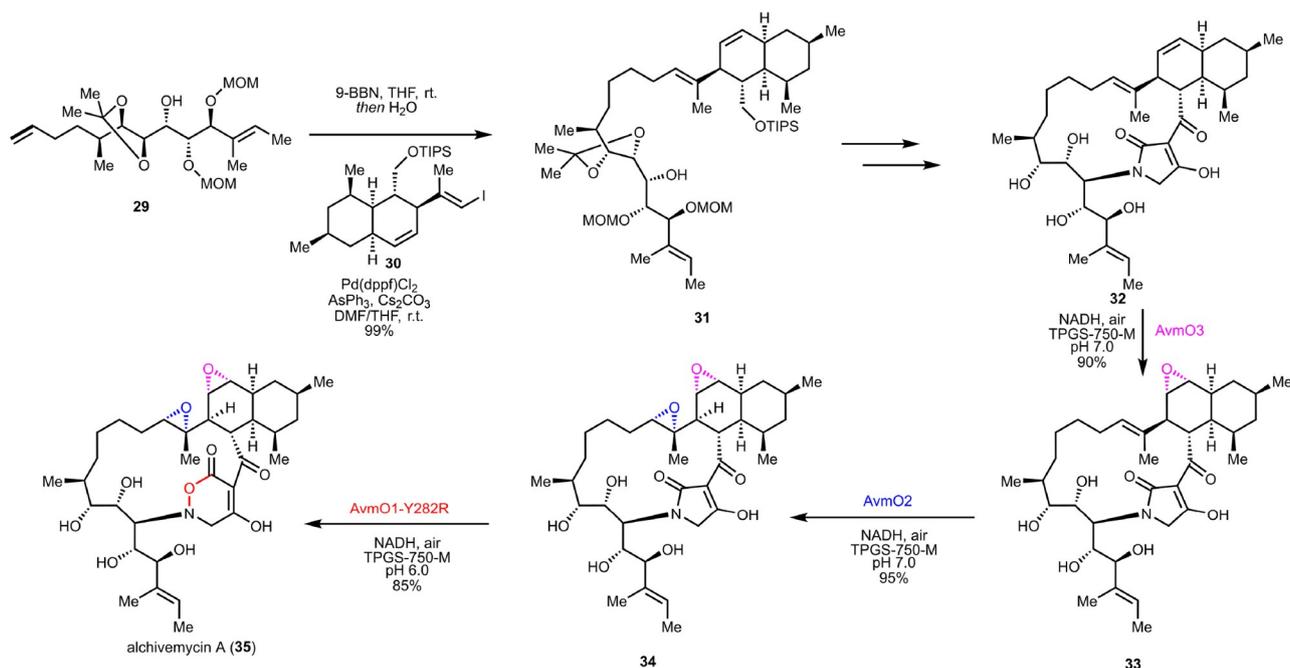


图 6 (网络版彩图)氧化酶在alchivemycin A合成中的应用
Figure 6 (Color online) Oxidase in the synthesis of Alchivemycin A.

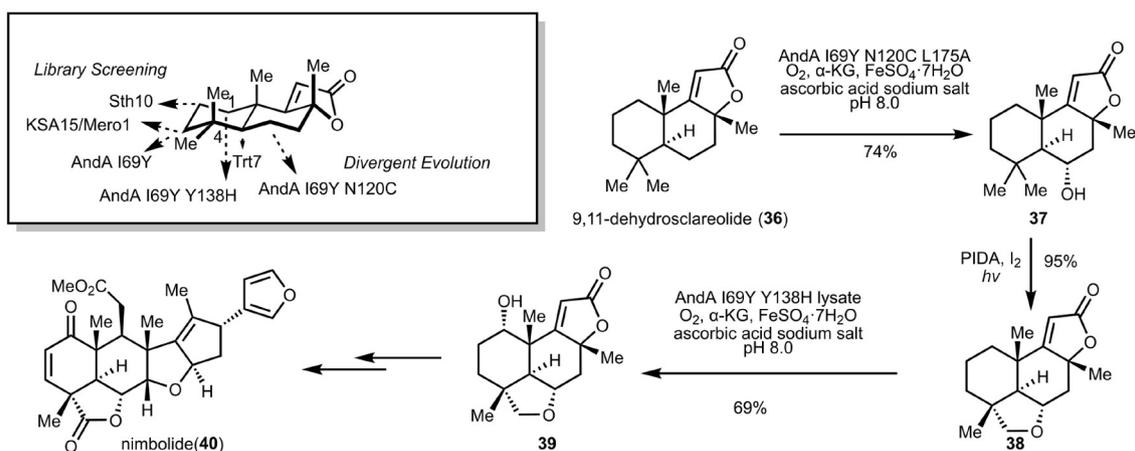


图 7 α -KG依赖的双加氧酶在合成nimbolide中的应用
Figure 7 α -KG-dependent dioxxygenases in the synthesis of nimbolide.

克级规模放大, 产率最高可达97%。从廉价的胆固醇等原料出发, 基于该化学酶法合成策略, 经过氢化和氧化得到关键的酶催化底物**41**, 通过3~8步便可实现10种9,10-开环甾体天然产物的高效、快速合成。与传统路线相比, 效率得到大幅提升。此外, 周强辉、瞿旭东课题组^[22]以细胞色素CYP14A对甾体骨架**43**的14位选择性羟化作为起点, 完成了多个强心甾类天然产物的合

成(图8)。戈惠明课题组与合作者^[23]也利用类似的策略完成了多个强心甾类天然产物的合成。

5 总结与展望

酶催化反应因其卓越的反应性和选择性, 已然成为天然产物合成的重要工具。随着生物催化和合成生

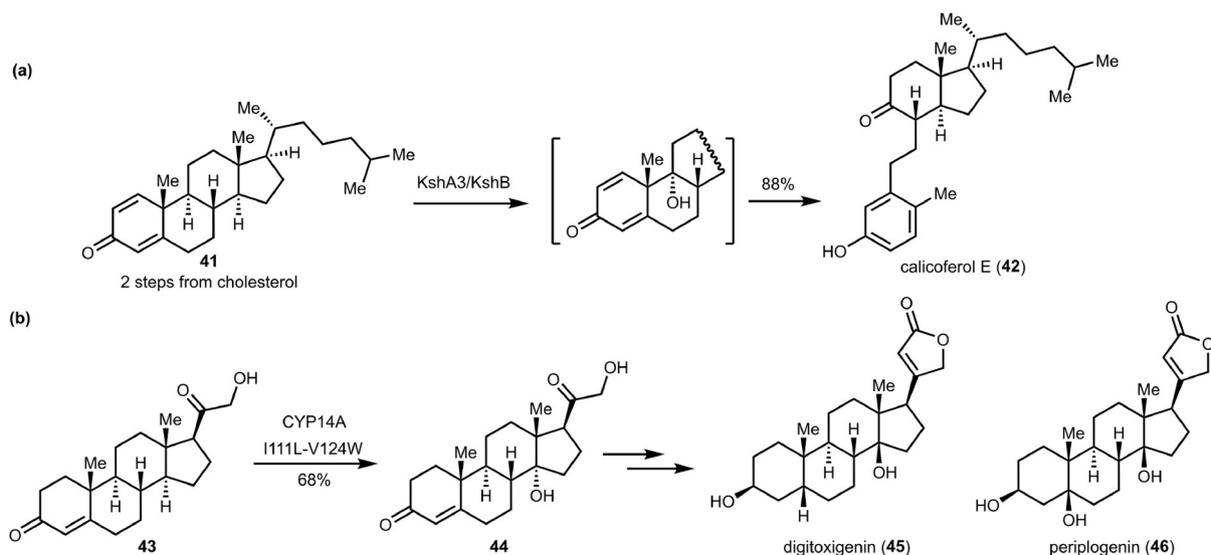


图 8 CYP14A催化的选择性羟化在甾体合成中的应用

Figure 8 CYP14A-catalyzed selective hydroxylation in the synthesis of steroids.

物学的快速发展, 酶的发掘、改造和利用日益便捷. 如何深度开发酶资源成为推动天然产物合成的关键问题. 尽管目前天然产物化学-酶合成的研究实践日益丰富, 该领域仍处于机遇与挑战并存的“蓝海”阶段:

在酶资源的开发方面, 当前在天然产物合成中所应用的酶主要基于天然产物生物合成酶的直接应用或有限的改造, 而基于逆合成分析, 结合化学原理设计开发具有全新功能的酶催化反应——尤其是“New to Nature”的酶催化反应——仍然是一个具有挑战性的研究方向. 此外, 现有酶催化反应数据库的局限性也制约了酶资源的系统性开发. 尽管Reaxys、SciFinder和Rhea等数据库提供了部分酶反应信息, 但其在数据的完整性、分类的规范性以及检索的便捷性方面仍有较大提升空间, 这在一定程度上限制了酶催化反应的高效筛选与优化.

在酶资源的应用层面, 反应规模是限制酶催化在化学合成中广泛应用的关键因素. 酶催化反应的浓度一般较低, 这为其规模化应用带来了显著挑战. 诸如细胞色素P450和许多植物来源的酶存在表达困难, 体外表达活性低等问题, 限制了其实际应用. 尽管酶的定向进化技术为解决这些问题提供了可能, 但目前仍缺乏普适性的解决方案.

人工智能技术的发展为酶资源的智能化开发提供了新的机遇. 人工智能参与的逆合成分析为天然产物的合成提供了新的研究范式. 然而, 将酶催化反应有效整合到人工智能设计的路线中尚缺乏有力的工具支持. 人工智能技术的深入应用必将为天然产物化学酶法合成路线的开发提供新的机遇. 此外, 人工智能辅助的酶的设计与进化也必然为酶资源的进一步应用提供新的方向.

参考文献

- Newman DJ, Cragg GM. *J Nat Prod*, 2020, 83: 770–803
- Chakrabarty S, Romero EO, Pyser JB, Yazarians JA, Narayan ARH. *Acc Chem Res*, 2021, 54: 1374–1384
- Stout CN, Renata H. *Acc Chem Res*, 2021, 54: 1143–1156
- Li F, Deng H, Renata H. *Nat Synth*, 2023, 2: 708–718
- Stout CN, Wasfy NM, Chen F, Renata H. *J Am Chem Soc*, 2023, 145: 18161–18181
- Zhang S, Wang T, Kong Y, Zou J, Xu Z. *Synth Biol J*, 2024, 5: 913–940
- Wang J, Zhao J, Yu Z, Wang S, Guo F, Yang J, Gao L, Lei X. *Angew Chem Int Ed*, 2025, 64: e202414340

- 8 Yin Y, Wang J, Li J. *Nat Commun*, 2024, 15: 2523
- 9 Zhu K, Jiang M, Ye B, Zhang GT, Li W, Tang P, Huang Z, Chen F. *Chem Sci*, 2021, 12: 10362–10370
- 10 Chen X, Wang H, Zeng J, Li Q, Zhang T, Yang Q, Tang P, Chen F. *Angew Chem Int Ed*, 2024, 63: e202407149
- 11 Wang T, Zou J, Wang K, Liu Y, Zhang S, Kong Y, Xu Z. *Angew Chem Int Ed*, 2025, 64: e202419092
- 12 Gao L, Su C, Du X, Wang R, Chen S, Zhou Y, Liu C, Liu X, Tian R, Zhang L, Xie K, Chen S, Guo Q, Guo L, Hano Y, Shimazaki M, Minami A, Oikawa H, Huang N, Houk KN, Huang L, Dai J, Lei X. *Nat Chem*, 2020, 12: 620–628
- 13 Gao L, Zou Y, Liu X, Yang J, Du X, Wang J, Yu X, Fan J, Jiang M, Li Y, Houk KN, Lei X. *Nat Catal*, 2021, 4: 1059–1069
- 14 Liu X, Yang J, Gao L, Zhang L, Lei X. *Biotechnol J*, 2020, 15: e2000119
- 15 Wang J, Ke H, Yang J, Guo N, Hu K, Tang R, Ding Q, Gao L, Lei X. *Chem Catal*, 2023, 3: 100451
- 16 Gao L, Ding Q, Lei X. *Acc Chem Res*, 2024, 57: 2166–2183
- 17 Chen K, Wang H, Yuan Y, Mou S, Xiang Z. *Angew Chem Int Ed*, 2023, 62: e202307602
- 18 Wang HQ, Mou SB, Xiao W, Zhou H, Hou XD, Wang SJ, Wang Q, Gao J, Wei Z, Liu L, Xiang Z. *ACS Catal*, 2022, 12: 2108–2117
- 19 Dong H, Guo N, Hu D, Hong B, Liao D, Zhu HJ, Yan ZY, Ge HM, Lei X. *Nat Synth*, 2024, 3: 1124–1133
- 20 Liu X, Xu Y, Li L, Li J. *J Am Chem Soc*, 2024, 146: 26243–26250
- 21 Song H, Zhang Z, Cao C, Tang Z, Gui J, Liu W. *Angew Chem Int Ed*, 2024, 63: e202319624
- 22 Song F, Zheng M, Wang J, Liu H, Lin Z, Liu B, Deng Z, Cong H, Zhou Q, Qu X. *Nat Synth*, 2023, 2: 729–739
- 23 Zhao Y, Zhang B, Sun ZQ, Zhang H, Wang W, Wang ZR, Guo ZK, Yu S, Tan RX, Ge HM. *ACS Catal*, 2022, 12: 9839–9845

The application of enzyme resources in the synthesis of natural products

Jin Wang¹, Haoran Dong², Xiaoguang Lei^{1,2*}

¹ Peking-Tsinghua Center for Life Science, Academy for Advanced Interdisciplinary Studies, Peking University, Beijing 100871, China

² Beijing National Laboratory for Molecular Sciences, Key Laboratory of Bioorganic Chemistry and Molecular Engineering of Ministry of Education, College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871, China

*Corresponding author (email: xglei@pku.edu.cn)

Abstract: With the continuous elucidation of biosynthetic enzymes for natural products, the application of enzymes as unique biological resources in the total synthesis of natural products has become increasingly widespread, driving the chemoenzymatic strategy to emerge as a research hotspot in this field. The use of enzymes not only enhances the precision and efficiency of natural product synthesis but also expands the boundaries of traditional chemical synthesis, promoting the in-depth development and utilization of natural product resources. Based on the research practices of our group and representative work from other domestic groups over the past three years, this article systematically summarizes the three major application dimensions of enzyme-catalyzed reactions in natural product synthesis: providing new synthetic starting points, driving the construction of complex scaffolds, and facilitating precise late-stage modifications. This provides a reference for the further application of enzyme resources in natural product synthesis.

Keywords: enzyme, chemoenzymatic synthesis, natural product synthesis, biocatalysis

doi: [10.1360/SSC-2025-0120](https://doi.org/10.1360/SSC-2025-0120)