

## 特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2024-012

## 光酶催化混乱性反应的研究进展

夏孔晨, 徐维华, 吴起

(浙江大学化学系, 浙江 杭州 310058)

**摘要:** 光催化具有条件温和、可再生、反应性强等优点, 然而由于自由基的高活性往往导致其选择性难以调控, 限制了光催化在不对称有机合成中的广泛应用。酶催化虽具有高选择性和专一性的优势, 但这也导致其存在反应类型单一和底物谱窄等缺陷。将反应性强的光催化与选择性高的酶催化相结合的光酶催化则可以提供一种全新的合成模式, 实现优势互补, 更加符合现代绿色有机合成的要求。狭义的光酶催化反应, 也就是光酶协同反应一般包括以下四类: 天然光酶反应, 人工光酶反应, 光催化与酶催化的偶联反应以及光酶催化混乱性反应。近年来, 光酶催化的研究蓬勃发展, 解决了许多传统有机合成中难以实现的问题, 尤其是在不对称合成领域已占据重要地位。例如, 脂肪酸光脱酸酶可以催化长链脂肪酸脱羧转化为相应烃类; 结合光敏辅因子和蛋白骨架的人工光酶大大拓展了酶的应用范围, 催化更多样化非天然有机化学品的生物合成; 光催化剂催化光化学反应与酶催化反应的偶联方式可以实现一些复杂的有机合成过程; 以及近年来一些含有光敏辅因子的氧化还原酶在光激发下催化新分子混乱性反应的功能。尽管已有许多文献对相关研究进行了总结, 但是自2023年以来, 光酶催化混乱性研究不断突破, 涌现出许多全新的光酶催化反应类型和反应机理, 立体选择性和区域选择性的精准调控更是满足了不对称合成的重大需求。对于这个飞速发展的领域, 系统归纳其成果仍显得至关重要。因此本综述聚焦在光激发下光敏辅因子依赖型酶催化的混乱性反应最新研究成果, 根据不同催化反应类型, 分别介绍光酶通过自由基途径实现不对称脱卤、氢化、分子内环化、分子间C—C/C—N/C—S键交叉耦合等非天然反应。这些反应由于酶和底物的不同, 展示了不同机理。例如在氧化还原起始过程中, 包括单电子还原起始和单电子氧化起始两种类型; 在自由基终止过程中, 可能采用单电子还原终止和单电子氧化终止, 而单电子还原终止方式中也存在氢原子转移和电子转移/质子转移耦合过程等不同情况。机理的多样性也为拓展更多的光酶催化混乱性反应提供了可能。在未来, 新型的光酶催化方法将在快速发展的基因工程、合成生物学、酶工程, 以及流动化学、人工智能等学科和技术的推动下, 涌现出更多高效、高选择性的新分子新功能反应, 显著拓展光酶催化方法在有机合成(尤其是绿色不对称合成)领域中的应用范围。

**关键词:** 光酶催化; 非天然反应; 不对称合成; 合成生物学; 混乱性反应

**中图分类号:** Q55 **文献标志码:** A

收稿日期: 2024-01-25 修回日期: 2024-04-28

基金项目: 国家重点研发计划(2021YFC2102000); 国家自然科学基金(22277105, 22307111); 浙江省自然科学基金(LZ24B020003)

引用本文: 夏孔晨, 徐维华, 吴起. 光酶催化混乱性反应的研究进展[J]. 合成生物学, 2024, 5(5): 997-1020

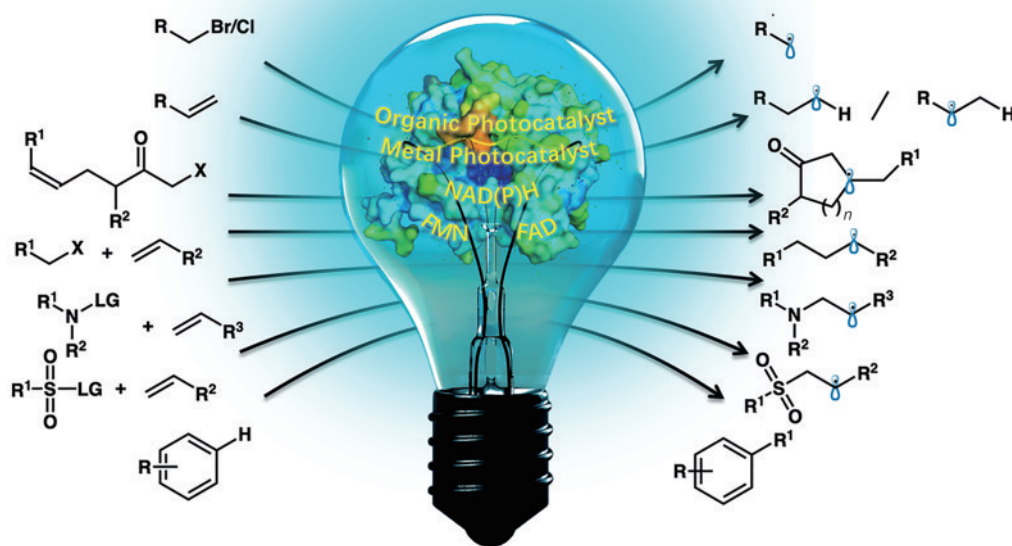
Citation: XIA Kongchen, XU Weihua, WU Qi. Recent advances in photo-induced promiscuous enzymatic reactions[J]. Synthetic Biology Journal, 2024, 5(5): 997-1020

# Recent advances in photo-induced promiscuous enzymatic reactions

XIA Kongchen, XU Weihua, WU Qi

(Department of Chemistry, Zhejiang University, Hangzhou 310058, Zhejiang, China)

**Abstract:** Photocatalysis has the advantages of mild reaction conditions, renewability, and strong reactivity, but the poor selectivity limits its further application in asymmetric synthesis. Enzymatic catalysis shows unique advantages of high selectivity and specificity, but it leads to some defects such as limited reaction types and relatively narrow substrate scope. Photoenzymatic catalysis combines the advantages of high reactivity of photocatalysis with high selectivity of enzymatic catalysis, providing a novel synthesis model, that is more in line with the requirements of modern green organic synthesis. The term “photoenzyme reactions” narrowly refers to the synergistic catalysis involving photoenzymes, which can be classified into the following four categories: natural photoenzymatic reactions, artificial photoenzymatic reactions, photo-biocatalysis cascade reactions, and photo-induced promiscuous enzymatic reactions. However, natural photoenzymes are rarely found in nature, the stringent substrate scope further hinders their application. Artificial photoenzymes integrate photosensitizers into the scaffold of natural enzymes, which have been well summarized in previous reviews. Photo-biocatalysis cascade reactions by combining photochemical steps and enzymatic steps can realize some complex organic synthesis processes. Since the first report on NAD(P)H-dependent KREDs-catalyzed enantioselective radical dehalogenation of lactones, photosensitive cofactor-dependent unnatural photoenzymatic catalysis demonstrated its great potential in the field of organic synthesis, and continues to thrive to date, which has addressed many problems difficult to be achieved in traditional organic synthesis. Since 2023, research into the promiscuity of photoenzyme catalysis has witnessed continuous breakthroughs, reporting diverse novel types of photoenzyme catalytic reactions and mechanisms. The precise control over stereoselectivity and even regioselectivity directly addresses the longstanding challenges in the field of organic synthesis. While there have been many publications summarizing the related research, yet rarely focused on this rapidly evolving field. In this review, we summarize the recent and representative reports of photo-induced promiscuous enzymatic reactions, and classify them according to asymmetric dehalogenation, hydrogenation, intramolecular cyclization, intermolecular C—C/C—N/C—S cross-coupling reactions through free radical pathways, *etc.* These reactions exhibit different mechanisms due to different enzymes and substrates. For example, in the process of redox initiation, there are two types: single-electron reduction initiation and single-electron oxidation initiation. In the radical termination process, single-electron reduction



termination and single-electron oxidation termination may be used. The diversity of mechanisms also makes it possible to develop more photoenzyme-catalyzed promiscuous reactions. In the future, new photoenzymatic methods will be promoted by rapidly developing technologies such as genetic engineering, synthetic biology, enzyme engineering, flow chemistry, and artificial intelligence, and more efficient and highly selective new-to-nature reactions will emerge, significantly expanding the application range of photoenzyme catalysis in the field of green asymmetric synthesis.

**Keywords:** photoenzymatic catalysis; non-natural reactions; asymmetric synthesis; synthesis biology; promiscuous reactions

自1912年化学先驱 Ciamician<sup>[1]</sup>发表题为“未来的光化学”演讲以来,如何将自然界中丰富的光能转化为可利用的化学能已成为科研工作者探寻的热点问题之一。由于有机分子往往只能吸收太阳光中能量较高的紫外光子部分,早期的光催化反应经常因紫外激发导致有机分子的碳碳键断裂而无法得到目标产物<sup>[2]</sup>。近些年,随着新型过渡金属催化剂<sup>[3-6]</sup>、光催化剂<sup>[7-8]</sup>以及光吸收材料<sup>[9-10]</sup>的大量开发,光催化有机合成领域迎来了发展高峰。尽管光催化反应具有条件温和、官能团耐受性好、反应性强等优点,在实际应用中却往往难以实现对反应的区域、化学、立体选择性的精准调控。

随着生物工程手段的蓬勃发展,酶催化凭借其反应条件温和、绿色环保、区域选择性及对映选择性高等优势<sup>[11]</sup>,在有机合成化学中占据越来越重要的地位<sup>[12]</sup>。但是酶天然可催化的反应类型相对有限,底物谱较窄,使得其应用受到了一定的限制。将光催化和酶催化结合的光酶催化可以实现优势互补,在高选择性的基础上极大拓展应用范围,有助于充分发挥其在高价值手性化合物合成中的优势。

狭义的光酶催化反应(也就是光酶协同反应)一般包括以下4类:天然光酶反应,人工光酶反应,光催化与酶催化的偶联反应以及光酶催化混乱性反应。目前报道的自然界中存在的天然光酶仅有3种类型:修复紫外损伤DNA的DNA光解酶<sup>[13]</sup>、催化原叶绿素酸酯还原的光依赖型原叶绿素酸酯氧化还原酶(light-dependent NADPH: protochlorophyllide oxidoreductase, LPOR)<sup>[14]</sup>以及催化脂肪酸脱羧生成烃类化合物的脂肪酸光脱羧

酶(fatty acid photodecarboxylase, FAP)<sup>[15]</sup>。除此之外,人工光酶的提出也实现了很多在传统有机合成中难以进行的化学转化<sup>[16-18]</sup>。而光催化剂催化光化学反应与酶催化反应的偶联方式可以实现一些复杂的有机合成过程<sup>[19-21]</sup>。自然界中还原态烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(磷酸)[reduced nicotinamide adenine dinucleotide (phosphate), NAD(P)H]或黄素(flavins)辅因子依赖型酶的种类繁多、数量庞大<sup>[22-25]</sup>。2016年,Hyster团队<sup>[26]</sup>深度挖掘了NAD(P)H的光敏特性,并在NAD(P)H依赖型酮还原酶(keto-reductases, KERD)中首次实现了非天然的不对称脱卤反应。随后这些辅因子的光敏特征逐渐被认识并充分利用<sup>[27-29]</sup>。在可见光的激发下,这些光敏辅因子依赖型的酶可以通过自由基途径实现不对称脱卤、氢化、分子内环化、分子间C-C/C-N/C-S键交叉耦合等非天然反应。本文聚焦在光激发下光敏辅因子依赖型酶催化的混乱性反应最新研究成果,根据不同催化反应类型,介绍近年来相关的代表性研究工作,对其中涉及的机理也进行了阐述。

## 1 非天然光酶反应

### 1.1 自由基脱卤

2016年,Hyster团队<sup>[26]</sup>在*Nature*上发表了非天然光酶催化领域的开创性工作(图1)。NAD(P)H依赖型的酮还原酶KRED天然可以催化羰基化合物的还原,该文作者将光照引入酶催化体系中,实现了自由基介导的不对称脱卤非天然反应,生成了不同构型的手性内酯化合物。通过酶的筛选,

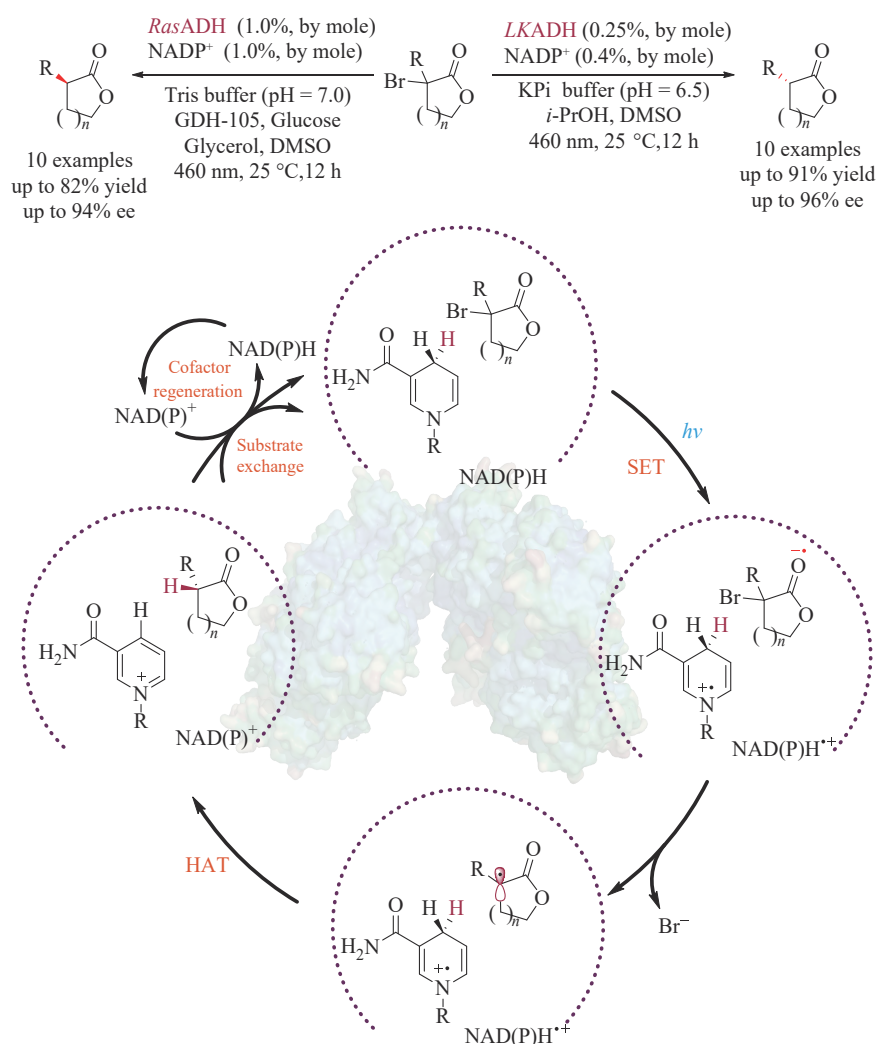


图1 光诱导KRED催化自由基对映选择性脱卤反应<sup>[26]</sup>

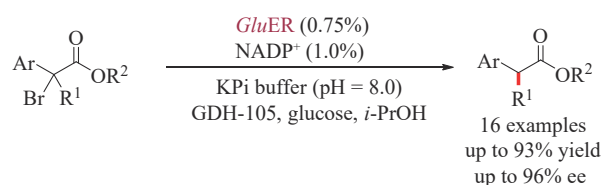
Fig. 1 Photo-induced enantioselective radical dehalogenation catalyzed by KREDs<sup>[26]</sup>

在来源于开胃乳酸杆菌 (*Lactobacillus kefir*) 的短链脱氢酶 (*LkADH*) 中获得了 ee 值高达 96%、产率高达 91% 的 *R* 构型产物；在来源于罗尔斯通氏菌 (*Ralstonia species*) 的短链脱氢酶 (*RasADH*) 中获得了 ee 值 94%、产率 82% 的 *S* 构型产物。

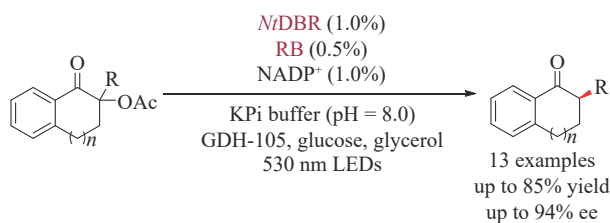
通过一系列的机理实验，该文作者对 KRED 催化的非天然脱卤反应提出了可能涉及的机制：首先辅因子再生体系将  $\text{NAD(P)}^+$  还原成  $\text{NAD(P)H}$ ，基态  $\text{NAD(P)H}$  受光激发可以从弱单电子还原剂转化为强单电子还原剂。底物和  $\text{NAD(P)H}$  在 KRED 活性空腔中形成电子供体-受体 (electron donor-acceptor, EDA) 复合物，激发态的  $\text{NAD(P)H}$  和底物之间发生单电子转移 (single electron transfer, SET)，引发 C-Br 键断裂， $\text{Br}^-$  离去后生成了前手

性烷基自由基中间体。随后在不同酶的活性空腔中，通过  $\text{NAD(P)H}$  介导的氢原子转移 (hydrogen atom transfer, HAT) 过程最终生成不同构型的手性内酯化合物，同时  $\text{NAD(P)H}$  转化为  $\text{NAD(P)}^+$ ，完成光敏辅因子的催化循环。

在  $\text{NAD(P)H}$  依赖型 KRED 实现不对称脱卤反应的基础上，2017 年 Hyster 团队<sup>[30]</sup> 首次利用黄素腺嘌呤单核苷酸 (flavin mononucleotide, FMN) 依赖型的烯还原酶 (ene-reductases, ERED) 实现了非天然自由基脱卤反应 [图 2(a)]。机理实验表明该反应利用酶活性空腔中 FMN 氧化还原状态的转变催化反应：氧化态的 FMN (oxidized state of FMN,  $\text{FMN}_{\text{ox}}$ ) 在  $\text{NADPH}$  的作用下被还原生成基态的氢醌 FMN (hydroquinone state of FMN,



(a) *GluER*催化自由基脱卤<sup>[30]</sup>  
(a) Radical dehalogenation catalyzed by *GluER*<sup>[30]</sup>



(b) 光诱导*NiDBR*催化自由基脱乙酰氧基<sup>[31]</sup>  
(b) Photo-induced radical decarboxylation catalyzed by *NiDBR*<sup>[31]</sup>

图2 酶促自由基脱卤/脱乙酰氧基

Fig. 2 Enzymatic radical dehalogenation/ decarboxylation

FMN<sub>hq</sub>), FMN<sub>hq</sub>与底物在酶的活性空腔中发生SET, 底物脱去卤素离子并生成烷基自由基中间体, FMN<sub>hq</sub>转化为半醌态FMN (semiquinone state of FMN, FMN<sub>sq</sub>)。最后烷基自由基中间体在FMN<sub>sq</sub>介导的HAT作用下生成手性酯类化合物, 同时FMN<sub>sq</sub>转化为FMN<sub>ox</sub>完成FMN的催化循环。值得注意的是, 在无光照的条件下, 基态FMN<sub>hq</sub>可以直接驱动反应的进行。

2018年, Hyster团队<sup>[31]</sup>进一步发展了光催化剂和酶协同作用的新型催化体系, 拓展了非天然的光酶催化自由基脱乙酰氧基/脱卤反应 [图2(b)]。该文作者在来源于烟草 (*Nicotiana tabacum*) 的双键还原酶*NiDBR*的体系中引入了光催化剂孟加拉玫瑰红 (Rose Bengal, RB), RB受光激发转化为RB\*, RB\*在NADPH介导的SET作用下转化为RB<sup>-</sup>。与酶活性空腔结合的 $\alpha$ -乙酰氧基四氢萘酮底物在RB<sup>-</sup>的SET作用下, 乙酰氧基离去生成 $\alpha$ -羰基碳的自由基中间体, 同时生成RB完成光催化剂的催化循环。 $\alpha$ -羰基碳自由基中间体随后在NADPH介导下的HAT作用下获得手性产物。另外, 将光催化剂曙红Y (Eosin Y)与KRED结合的体系也可以协同催化 $\alpha$ -溴酰胺底物的自由基不对称脱卤反应。

2022年, 吴起和徐鉴团队<sup>[32-33]</sup>在黄素腺嘌呤二核苷酸 (flavin adenine dinucleotide, FAD) 依赖型的Baeyer-Villiger单加氧酶CHMO中实现了 $\alpha$ - $\alpha$ -氟氯酮选择性还原脱卤, 并通过“聚焦理性迭代

定点突变”(focused rational iterative site-specific mutagenesis, FRISM) 的策略, 获得了突变株L144A和L435V, 以极高的产率 (>99%) 和对映体比例 (enantiomeric ratio, e.r.) (e.r.>99:1) 获得*S*构型的 $\alpha$ -氟代酮化合物 (图3)。与以往提出的脱卤反应机理不同的是, 该文作者经过氘代、计算模拟等一系列机理实验后提出, 在CHMO光催化非天然脱卤反应的体系中, 自由基中间体的猝灭并不经过HAT, 而是依赖电子转移/质子转移 (electron transfer/proton transfer, ET/PT) 的过程实现, 缓冲液中的水充当了自由基猝灭的氢供体。

## 1.2 不对称氢化

黄素FMN依赖型的ERED天然可以催化活化烯烃底物的立体选择性还原, 然而对羰基类底物的还原却鲜有报道。2019年, Hyster团队<sup>[34]</sup>提出在Ru(bpy)<sub>3</sub>Cl<sub>2</sub>光催化剂的辅助下, 来自恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*) 的吗啡酮还原酶MorB可以通过一种新的光酶催化途径催化芳香酮化合物的还原, 拓展了ERED催化还原反应的底物谱 [图4(a)]。机理实验显示: 首先, MorB活性位点附近的关键残基N189与H186分别负责了底物的锚定与活化, NADH将FMN<sub>ox</sub>还原为FMN<sub>hq</sub>。光催化剂Ru<sup>(II)</sup>受光激发转化为Ru<sup>(II)\*</sup>, Ru<sup>(II)\*</sup>被猝灭后转化为具有强还原性的Ru<sup>(I)</sup>。随后, MorB空腔内

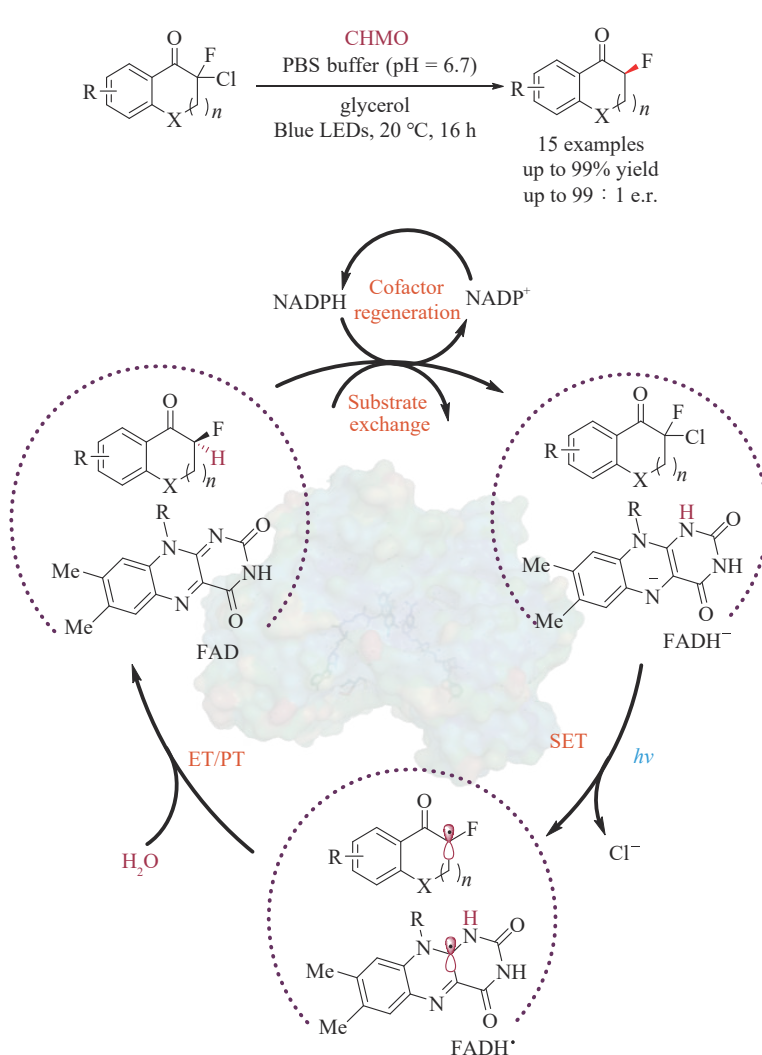


图3 光诱导CHMO催化自由基对映选择性脱卤<sup>[32]</sup>

Fig. 3 Photo-induced enantioselective reductive dehalogenation catalyzed by CHMO<sup>[32]</sup>

$\text{Ru}^{\text{I}}$ 和底物之间发生SET过程产生羰基自由基中间体与 $\text{Ru}^{\text{II}}$ ，羰基自由基在 $\text{FMN}_{\text{sq}}$ 介导的HAT作用下生成还原产物和 $\text{FMN}_{\text{sq}}$ 。最后 $\text{FMN}_{\text{sq}}$ 再与 $\text{Ru}^{\text{II}*}$ 之间发生SET，生成 $\text{FMN}_{\text{ox}}$ ，完成黄素的催化循环。

2022年，Poelarends和Saravana团队<sup>[35]</sup>将这一策略扩展到了其他酶的催化体系中[图4(b)]。作者发现来源于解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)的黄素依赖型硝基还原酶BaNTR1亦可以促进多种羰基化合物的光酶催化不对称还原。与Hyster团队提出的MorB催化体系相比，BaNTR1展现出更高的对映选择性，此外，BaNTR1不仅不会还原双键或三键，还能够促进 $\alpha,\beta$ -不饱和酮转化成高对映选择性的仲醇，遗憾的

是其具体的催化机制尚未明确。

2020年，Hyster团队<sup>[36]</sup>也将该策略应用于缺电子的乙烯基吡啶类化合物的不对称还原[图5(a)]。在光催化剂 $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$ 的辅助下，来源于点型念珠蓝细菌(*N. punctiforme*)的烯还原酶NostocER可以高效、高选择性地催化乙烯基吡啶的还原。

2023年，黄小强和王斌举团队<sup>[37]</sup>将ERED光催化的底物范围进一步拓展到了烯胺类化合物，为手性胺化合物的合成提供了新方法[图5(b)]。来源于酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)的老黄酶1(OYE1)及其突变株可以高效合成R构型的手性胺化合物，e.r.值高达99:1。机理实验表明： $\text{NADPH}$ 还原 $\text{FMN}_{\text{ox}}$ 至氢醌阴离子态( $\text{FMNH}^-$ )，

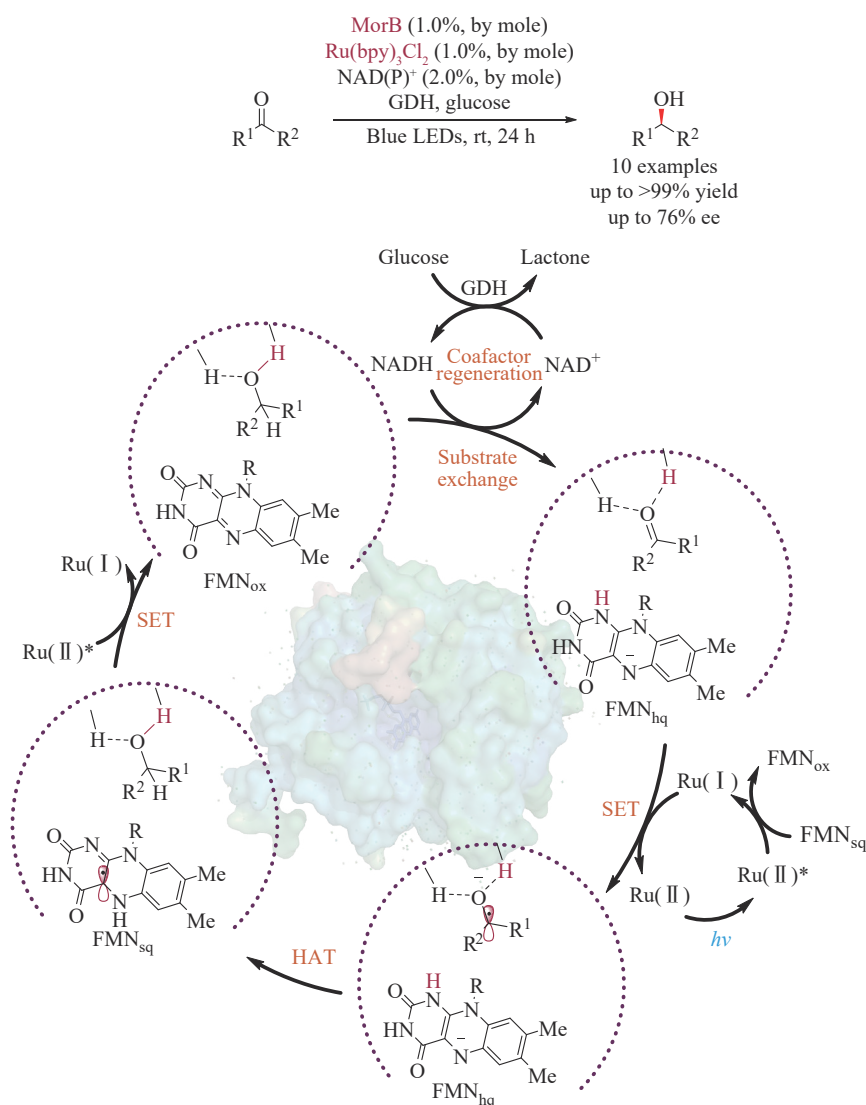
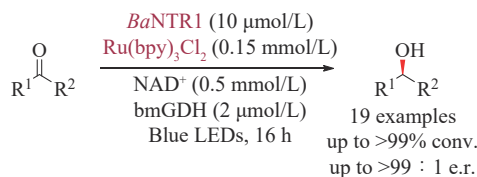
(a) Photo-induced enantioselective ketone reduction catalyzed by MorB<sup>[34]</sup>(b) Photo-induced enantioselective ketone reduction catalyzed by *Ba*NTR1<sup>[35]</sup>

图4 光诱导酶促羰基自由基不对称氢化

Fig. 4 Photo-induced enzymatic enantioselective ketone reduction

FMNH<sup>-</sup>受光激发后转化为激发态的FMNH<sup>\*-</sup>，随后与底物发生SET后生成自由基阴离子中间体，FMNH<sup>-</sup>转化为FMNH<sup>·-</sup>，最终自由基阴离子中间体在FMNH<sup>·-</sup>介导的HAT作用下实现烯胺的手性还原，同时完成FMN的催化循环。

### 1.3 自由基环化

2019年,Hyster团队<sup>[38]</sup>发现部分ERED,如来源于氧化葡萄糖杆菌(*Gluconobacter oxydans*)的*GluER*突变株T36A,来源于干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*)

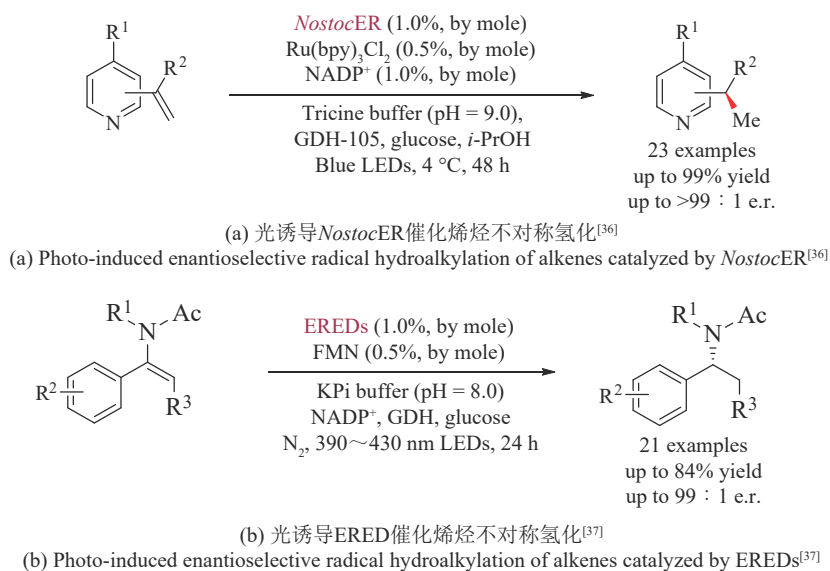
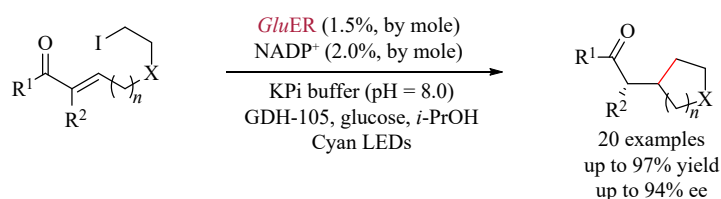
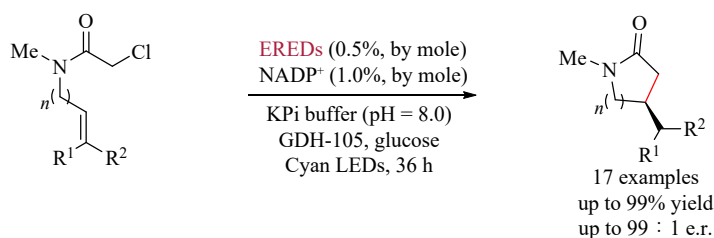


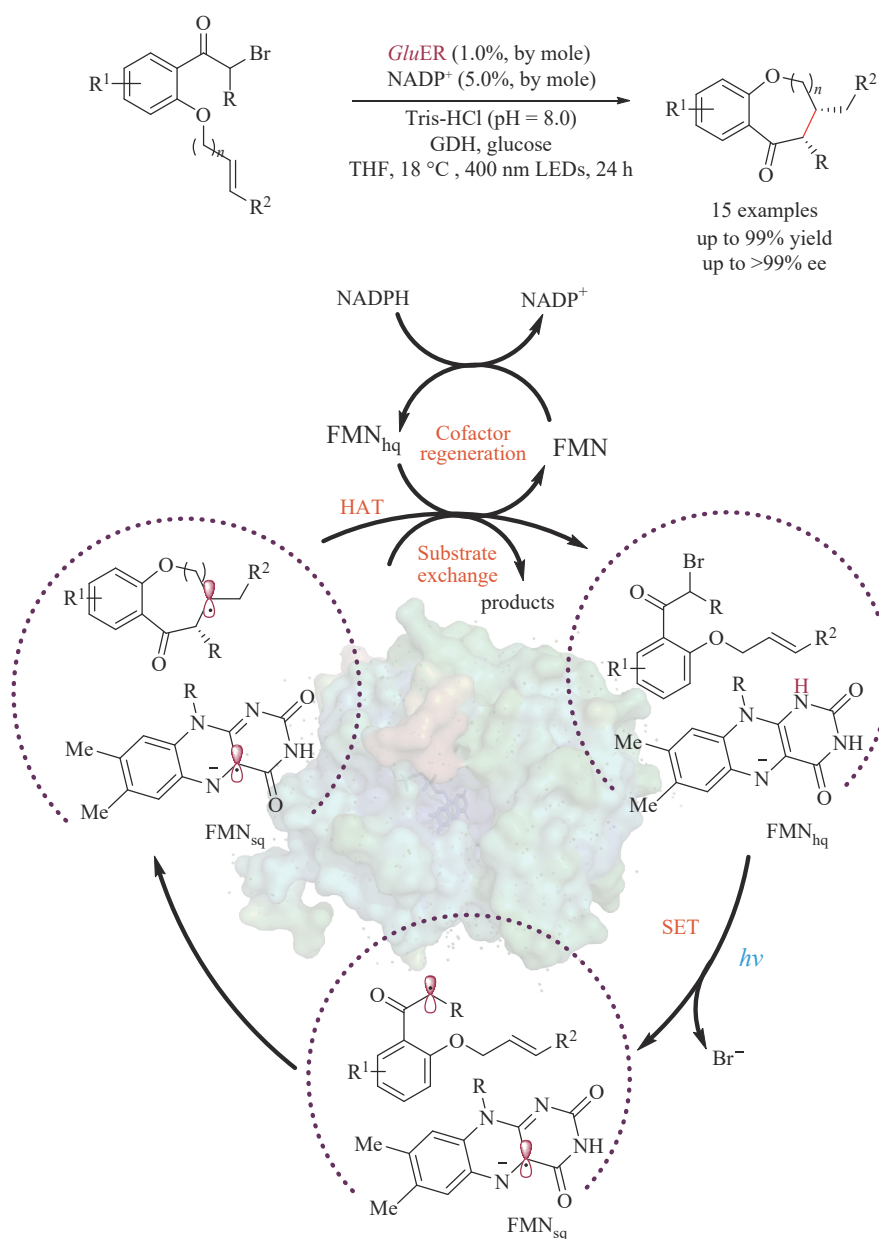
图5 光诱导酶促烯烃不对称氢化

Fig. 5 Photo-induced enzymatic enantioselective radical hydroalkylation of alkenes

的 *LacER*，来自念珠藻 (*Nostoc sp.*) 的 *NostocER* 和 *MorB* 等均能催化含有烯基的  $\alpha$ -氯酰胺类底物选择性的自由基环化，生成不同构型的具有  $\beta$  或  $\gamma$ -立体中心的五元环至八元环的手性内酰胺化合物 [图 6(a)]。机理实验表明：在酶的活性空腔中，NADPH 还原  $\text{FMN}_{\text{ox}}$  至  $\text{FMN}_{\text{hq}}$ ， $\text{FMN}_{\text{hq}}$  和底物形成了 EDA 复合物，光激发下底物在  $\text{FMN}_{\text{hq}}$  的 SET 作用下脱卤生成  $\alpha$ -羰基自由基中间体， $\text{FMN}_{\text{hq}}$  转化为  $\text{FMN}_{\text{sq}}$ ， $\alpha$ -羰基自由基与双键加成并最终通过  $\text{FMN}_{\text{sq}}$  介导的 HAT 生成手性内酰胺类化合物。同时， $\text{FMN}_{\text{sq}}$  被氧化为  $\text{FMN}_{\text{ox}}$ ，完成黄素的催化循环。

通常来讲，产生稳定的自由基是光酶催化自由基环化的前提条件<sup>[39]</sup>。2020年，Hyster 团队<sup>[40]</sup>利用烷基碘作为不稳定的亲核自由基前体，在光照下诱导底物分子内的对映选择性自由基环化 [图 6(b)]。机理实验表明：在 *GluER* 的活性空腔中，NADPH 还原  $\text{FMN}_{\text{ox}}$  至  $\text{FMN}_{\text{hq}}$ ， $\text{FMN}_{\text{hq}}$  和底物形成了电子转移 (charge transfer, CT) 复合物，光激发后底物在  $\text{FMN}_{\text{hq}}$  的 SET 作用下脱去碘离子生成不稳定的烷基自由基中间体， $\text{FMN}_{\text{hq}}$  转化为  $\text{FMN}_{\text{sq}}$ ，烷基自由基中间体随后经过  $\text{FMN}_{\text{sq}}$  介导的 HAT 作用下生成了手性内酯、酰胺等化合物，同时  $\text{FMN}_{\text{sq}}$  被氧化为  $\text{FMN}_{\text{ox}}$  完成黄素的催化循环。





(c) 光诱导 *GluER*<sup>W100H</sup> 催化自由基分子内环化<sup>[41]</sup>  
 (c) Photo-induced intramolecular cyclization catalyzed by *GluER*<sup>W100H</sup><sup>[41]</sup>

图6 光诱导酶促自由基分子内环化

Fig. 6 Photo-induced enzymatic intramolecular cyclization

2023年, 饶义剑、周景文和袁振波团队<sup>[41]</sup>利用 *GluER* 突变株 W100H 对 2'-肉桂氧基-2-溴乙酰苯酮进行不对称脱卤环化反应 [图6(c)], 高效制备了十几种含氧苯并杂环化合物 (产率高达 99%, ee 值高达 99%)。值得一提的是, 本研究成功实现 2'-肉桂氧基-2-溴乙酰苯酮 (3.03 mmol) 的大量反应, 以 86% 的分离产率 (658 mg) 和 >99% 的 ee 值获得了 R 构型产物, 且其可以转化为具有高分离产

率 (95%) 和 ee 值 (>99%) 的高价值手性苯肼。这类刚性的双环化合物很难通过传统的氢烷基化工艺获得, 因此这项研究进一步证明了利用非天然光酶催化合成具有生物活性的高价值手性化合物的实用性。

2023年, Daidone 团队<sup>[42]</sup>通过分子模拟和氨基酸突变等手段进一步解释了 ERED 催化 α-氯酰胺脱卤环化的自由基反应的手性来源。与通常认为

的 $\pi$ 面进攻模式<sup>[43]</sup>不同, 该文作者提出在酶空腔中, 前手性过渡态的稳定性虽然决定了反应的立体选择性, 但是前手性过渡态的稳定性不是与酶的相互作用直接相关, 而是取决于在不同的EREDs空腔中底物分子中C—N—C—C原子构成二面角。

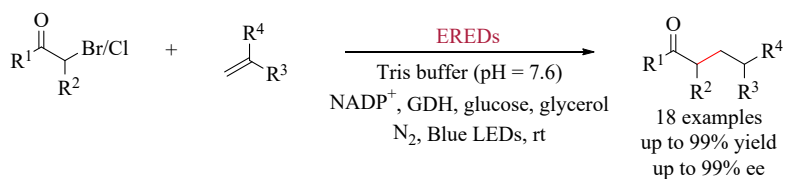
#### 1.4 分子间C—C键形成反应

在过去50年中, 由过渡金属催化的交叉耦合反应极大改变了复杂有机分子的合成方式<sup>[5]</sup>。近

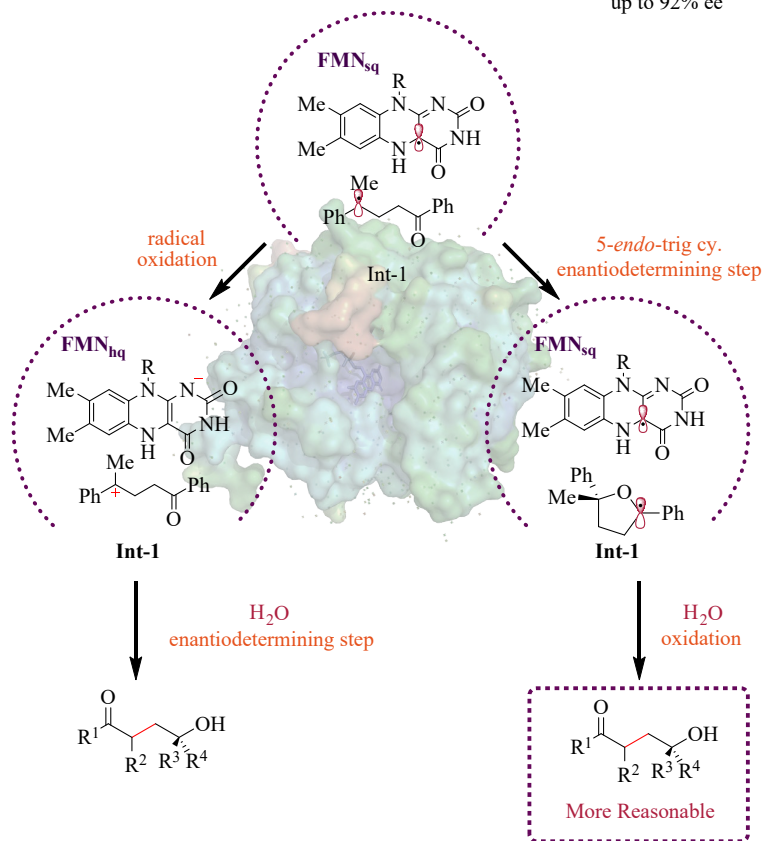
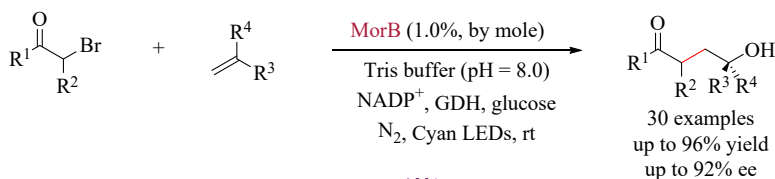
年来, 可见光诱导下的酶催化反应为构筑手性C—C键提供了一个温和高效的策略。该体系初期多用于分子内键的形成和断裂<sup>[44]</sup>, 随后也成功应用于分子间的C—C键交叉耦合, 凸显其在有机合成领域的应用潜力。

##### 1.4.1 缺电子自由基对烯烃的氢烷基化反应

2020年, 赵惠民团队<sup>[45]</sup>提出了光激发下ERED催化 $\alpha$ -卤代羰基化合物和末端烯烃之间交叉耦合的新策略 [图7(a)]。作者通过不同的ERED



(a) 光诱导ERED催化氢烷基化反应<sup>[45]</sup>  
(a) Photo-induced hydrogen alkylation of olefins catalyzed by EREDs<sup>[45]</sup>



(b) 光诱导MorB催化氢烷基化反应<sup>[46]</sup>  
(b) Photo-induced hydrogen alkylation of olefins catalyzed by MorB<sup>[46]</sup>

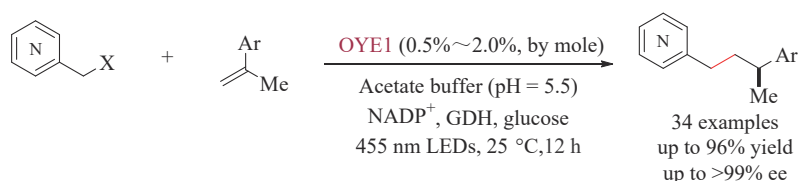
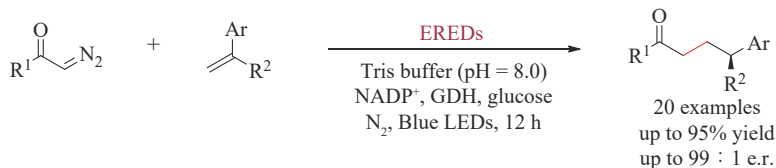
(c) 光诱导OYE1催化氢烷基化反应<sup>[47]</sup>(c) Photo-induced hydrogen alkylation of olefins catalyzed by OYE1<sup>[47]</sup>(d) 光诱导ERED催化氢烷基化反应<sup>[51]</sup>(d) Photo-induced hydrogen alkylation of olefins catalyzed by EREDs<sup>[51]</sup>

图7 光诱导酶促缺电子自由基对烯烃的不对称氢烷基化反应

Fig. 7 Photo-induced enzymatic enantioselective radical hydrogen alkylation of olefins by electron-deficient radicals

成功合成了不同构型的 $\gamma$ -手性羰基化合物：老黄酶OYE1适合催化芳基酮类底物；来自伯氏耶尔森菌(*Yersinia bercovieri*)的YersER适合催化酰胺类底物；来自恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)的XenA适合催化酯类底物。该策略高效、高选择性地合成了一系列含有远程 $\gamma$ 立体中心的酮、酰胺或酯化合物，进一步扩大了生物催化在不对称合成方面的应用范围。机理实验表明：在ERED的活性空腔中，NADPH还原FMN<sub>ox</sub>至FMNH<sup>-</sup>，FMNH<sup>-</sup>和底物形成EDA复合物，受光激发后底物在FMNH<sup>-</sup>的SET作用下生成 $\alpha$ -羰基自由基中间体，FMNH<sup>-</sup>转化为FMNH<sup>•</sup>，随后 $\alpha$ -羰基自由基中间体与末端烯烃发生加成生成新的自由基中间体，最后在FMNH<sup>•</sup>介导的HAT作用下生成 $\gamma$ -手性羰基化合物，同时FMNH<sup>•</sup>被氧化为FMN<sub>ox</sub>，完成黄素的催化循环。

2023年，Hyster团队<sup>[46]</sup>提出，如果光酶催化的非天然反应体系中，前手性自由基中间体不被HAT猝灭，而是被水捕获后发生羟基化，则可以获得手性叔醇类化合物[图7(b)]。通过酶的筛选与定向进化，该文作者利用MorB突变株高效合成了多种手性羟基化产物。机理实验表明：酶活性空腔中FMN<sub>hq</sub>与 $\alpha$ -卤代芳香酮底物形成CT复合物，光激发下底物在FMN<sub>hq</sub>的SET作用下脱卤生成了碳中心的自由基中间体，FMNH<sup>-</sup>转化为FMNH<sup>•</sup>。碳中心的自由基中间体进而与烯烃发生加成生成新的自由基中间体，该自由基进攻羰基氧发生五元

内环化后形成 $\alpha$ -氧自由基，随后该自由基被FMN<sub>sq</sub>氧化后生成碳铰阴离子并水解形成手性叔醇产物，同时完成黄素的催化循环。

2024年，赵惠民团队<sup>[47]</sup>在老黄酶OYE1中实现了光酶催化氮杂芳环底物的远程 $\gamma$ 位手性调控[图7(c)]。机理实验表明：FMN<sub>hq</sub>与溴代吡啶形成的CT复合物受光激发，经过SET过程引发溴代吡啶脱卤，生成吡啶苄基自由基中间体，随后与 $\alpha$ -甲基苯乙烯发生加成生成前手性碳中心自由基中间体，最后经过FMN<sub>sq</sub>介导的HAT作用下高效合成了多种 $\gamma$ -手性中心的氮杂芳环类化合物，突破了有机合成领域中对平面刚性的氮杂芳环远程手性中心控制的难题<sup>[48-49]</sup>。2023年，Hyster团队<sup>[50]</sup>也报道了从 $\alpha$ -氯代吡啶底物合成远程 $\gamma$ -手性中心氮杂芳环化合物的类似方法。

2022年，徐鉴和贾义霞团队<sup>[51]</sup>利用重氮化合物作为自由基前体，在酶的空腔中实现了与末端烯烃化合物的光催化自由基立体选择性加成[图7(d)]。在黄素依赖型酶OYE1和OPR1的作用下，高效合成了多种 $\gamma$ -手性羰基化合物。

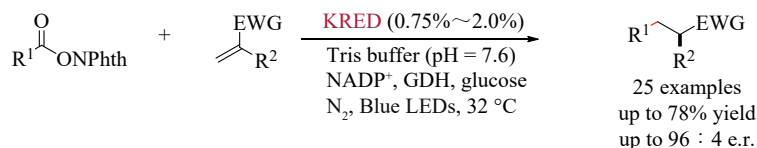
#### 1.4.2 富电子自由基对不饱和键的加成反应

除了卤代化合物或重氮化合物能够作为自由基的前体外，羧酸的氧化还原活性酯类化合物，例如常见的N-(酰氧基)邻苯二甲酰亚胺(N-hydroxyphthalimide, NHPI)酯也是重要的自由基前体之一，其可以通过光诱导脱羧生成自由基。2022年，赵惠民和王斌举团队<sup>[52]</sup>开发了光激发

KRED 催化苄基-NHPI 酯的 N—O 键断裂, 随后自发脱羧生成苄基自由基并与缺电子烯烃耦合的方法, 合成了多种手性  $\alpha$ -酯类化合物 [图 8(a)]。

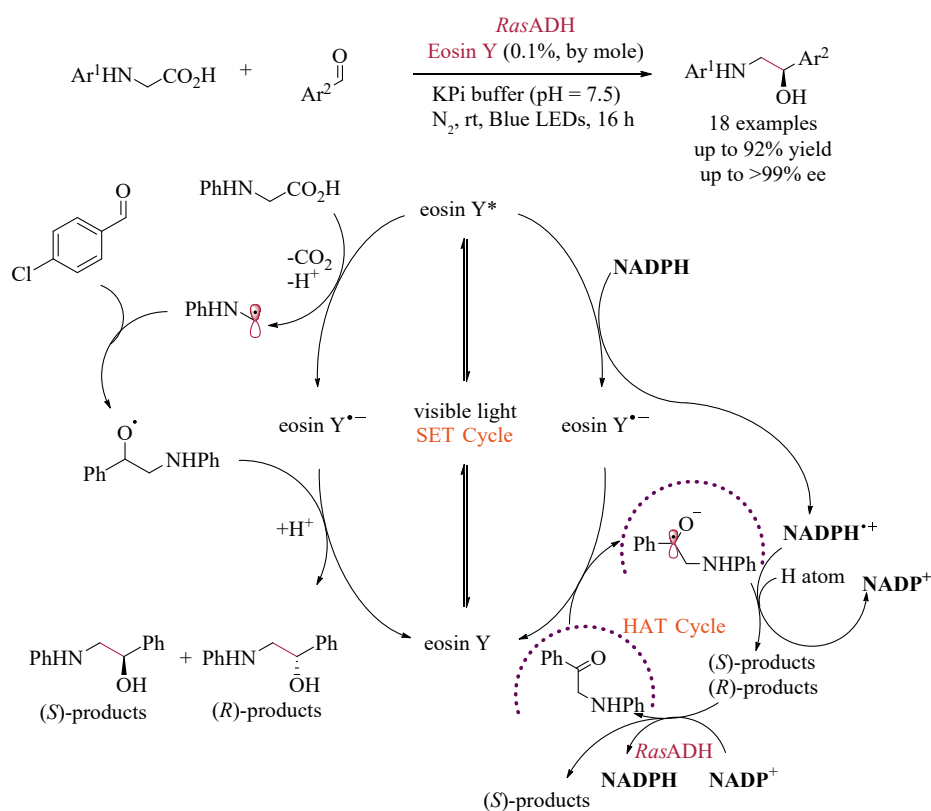
2023 年, 朱敦明、吴洽庆和冯进辉团队<sup>[53]</sup>提出了光催化剂与酶串联催化不对称合成 1,2-氨基醇的新方法 [图 8(b)]。光催化剂 Eosin Y 受光激发生成 Eosin Y\*, 并与底物 *N*-苄基甘氨酸发生 SET

生成 Eosin Y<sup>-</sup>, 与此同时, 底物脱羧后产生烷基自由基中间体, 该自由基中间体与醛发生加成后生成新的 O-中心自由基中间体, 并在 Eosin Y<sup>-</sup> 的 SET 作用下生成消旋氨基醇。RasADH 在辅因子 NADP<sup>+</sup> 的作用下选择性催化 *R* 构型的氨基醇生成氨基酮和 NADPH, NADPH 还原 Eosin Y\* 生成 Eosin Y<sup>-</sup> 和 NADPH<sup>+</sup>, Eosin Y<sup>-</sup> 与氨基酮发生 SET 生成羰基自



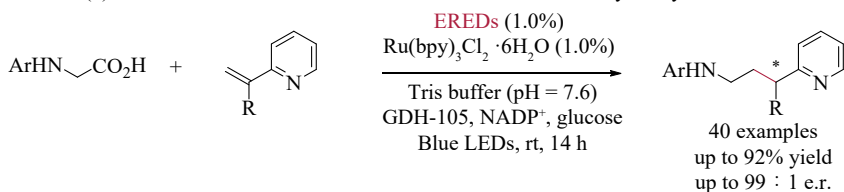
(a) 光诱导 KRED 催化不饱和键的加成反应<sup>[52]</sup>

(a) Photo-induced addition reaction to unsaturated bonds catalyzed by KRED<sup>[52]</sup>



(b) 光诱导 RasADH 催化不饱和键的加成反应<sup>[53]</sup>

(b) Photo-induced addition reaction to unsaturated bonds catalyzed by RasADH<sup>[53]</sup>



(c) 光诱导 ERED 催化不饱和键的加成反应<sup>[54]</sup>

(c) Photo-induced addition reaction to unsaturated bonds catalyzed by EDEDs<sup>[54]</sup>

图 8 光诱导酶促富电子自由基对不饱和键的不对称加成反应

Fig. 8 Photo-induced enzymatic enantioselective addition of electron-rich radicals to unsaturated bonds

由基中间体和 Eosin Y, 进而通过  $\text{NADPH}^+$  介导的 HAT 过程生成消旋的氨基醇和  $\text{NADP}^+$ , 从而实现了光催化和酶催化协同作用下对氨基醇的动态动力学拆分, 最终高效、高选择性地合成了 *S* 构型的 1,2-氨基醇化合物。

2024 年, Hyster 团队<sup>[54]</sup> 报道了另一例利用光催化剂和酶协同催化自由基选择性脱羧烷基化的反应 [图 8(c)]。该文作者将老黄酶 3 (OYE3) 与  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  光催化剂结合, 催化氨基酸脱羧生成自由基中间体, 与缺电子的乙烯基吡啶发生自由基偶联, 随后在  $\text{FMN}_{\text{hq}}$  介导的 HAT 作用下生成了多种手性吡啶胺化合物。

非天然氨基酸 (non-canonical amino acid, ncAA) 结构多样、应用广泛, 存在于各种天然产物、药物分子中<sup>[55-58]</sup>。吡哆醛 5'-磷酸 (pyridoxal

5'-phosphate, PLP) 依赖型酶能高效、特异性地合成和降解氨基酸<sup>[59]</sup>, 省去了传统的 ncAA 化学合成中对氨基和羧基保护及去保护等烦琐过程<sup>[60]</sup>。2023 年, 杨扬和刘鹏团队<sup>[61]</sup> 开发了一种光催化剂与酶协同催化产生吡哆醛自由基的新方法, 实现了多手性中心 ncAA 的高效合成 (图 9)。机理实验表明: 光催化剂罗丹明 B (Rhodamine B, RhB) 受光激发转化为  $\text{RhB}^*$ , 与烷基三氟硼酸盐底物发生单电子氧化生成碳中心自由基中间体和  $\text{RhB}^-$ 。与此同时, 吡哆醛 5'-磷酸 (PLP) 依赖型酶催化丝氨酸或者其他的  $\beta$ -羟基- $\alpha$ -氨基酸生成亲电氨基丙烯酸酯, 并与碳中心的自由基中间体结合生成亲电的氮杂烯丙基自由基中间体。随后经过  $\text{RhB}^-$  介导的 ET/PT 或质子耦合电子转移 (proton-coupled electron transfer, PCET) 过程生成手性 ncAA, 同

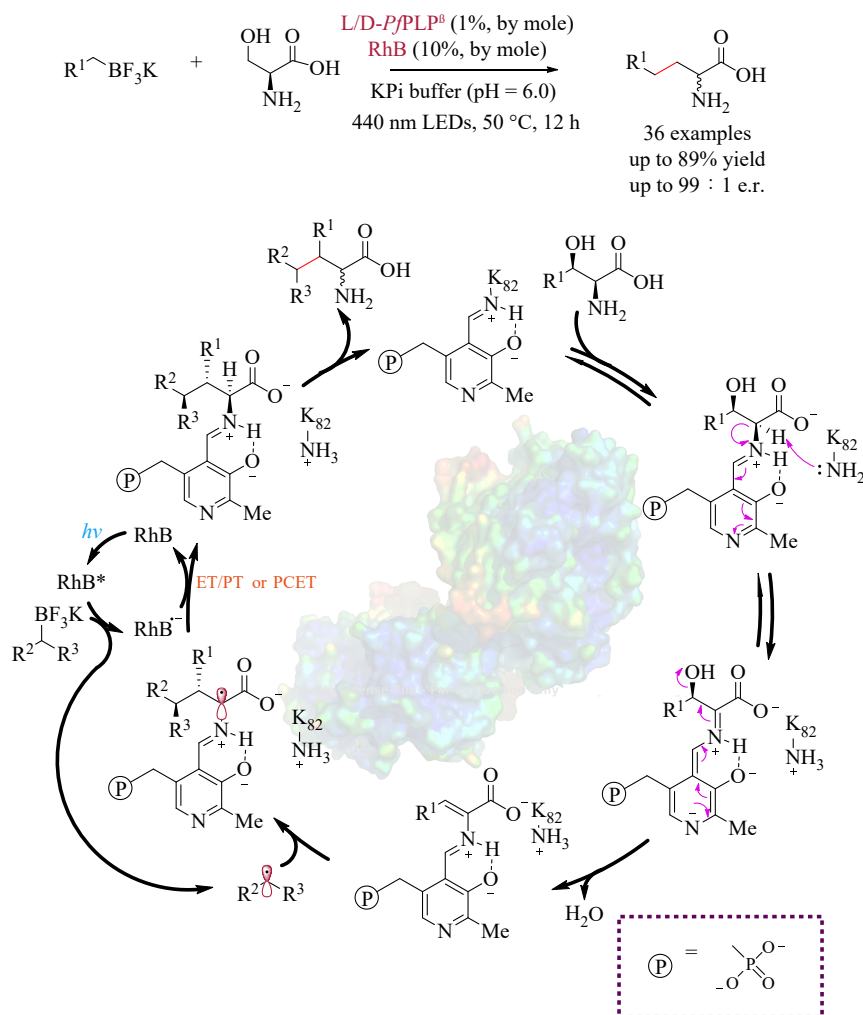


图 9 光诱导 PLP 依赖型酶促氧化还原-吡哆醛自由基协同催化<sup>[61]</sup>

Fig. 9 Photo-induced synergistic photoredox-pyridoxal radical biocatalysis catalyzed by PLP-dependent enzyme<sup>[61]</sup>

时完成RhB的催化循环。

#### 1.4.3 C(sp<sup>3</sup>)-C(sp<sup>3</sup>)成键反应

高立体选择性C(sp<sup>3</sup>)-C(sp<sup>3</sup>)交叉亲电耦合(XEC)是有机化学中长期存在的一大挑战<sup>[62]</sup>,近年来,光酶催化体系也为更高难度的XEC提供了新的思路与方法。

2022年,Hyster团队<sup>[63]</sup>利用来源于柄杆菌(*Caulobacter segnis*)的烯还原酶CsER实现了 $\alpha$ -氯代羰基化合物和硝基烷烃之间的高化学选择性和立体选择性XEC[图10(a)]。机理实验表明:光催化脱卤获得的 $\alpha$ -酰胺自由基与亚硝酸盐迅速生成自由基负离子,随后经历不可逆的脱硝基生成烷基自由基中间体,最终由FMN<sub>sq</sub>介导的HAT过程猝灭,生成了多种S构型的 $\beta$ -酰胺化合物。然而在不同酶的空腔中,上述机理还有其他的可能。2023年,Hyster团队<sup>[64]</sup>在利用来源于嗜热地芽孢

杆菌(*Geobacillus kaustophilus*)的老黄酶GkOYE催化时发现,底物生成自由基负离子中间体后没有发生脱硝基而是发生SET过程,最终生成多种手性 $\beta$ -硝基酰胺化合物[图10(b)]。

#### 1.4.4 自由基-自由基交叉偶联反应

焦磷酸硫胺素(thiamine diphosphate, ThDP)依赖的苯甲醛裂解酶(benzaldehyde lyase, BAL)可以催化苯甲醛与安息香之间的可逆反应<sup>[65-66]</sup>。受此启发,科研工作者发展了多种氮杂环卡宾(N-heterocyclic carbenes, NHC)化合物,并成功运用于自由基反应中<sup>[67]</sup>。2024年,黄小强、梁勇与田长麟团队<sup>[68]</sup>利用来源于荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)的苯甲醛裂解酶PfbAL开发了一种光催化剂与酶协同催化的新方法,实现了羰基自由基与烷基自由基的自由基-自由基交叉耦合,高效合成了多种手性羰基化合物(图11)。机理实验表

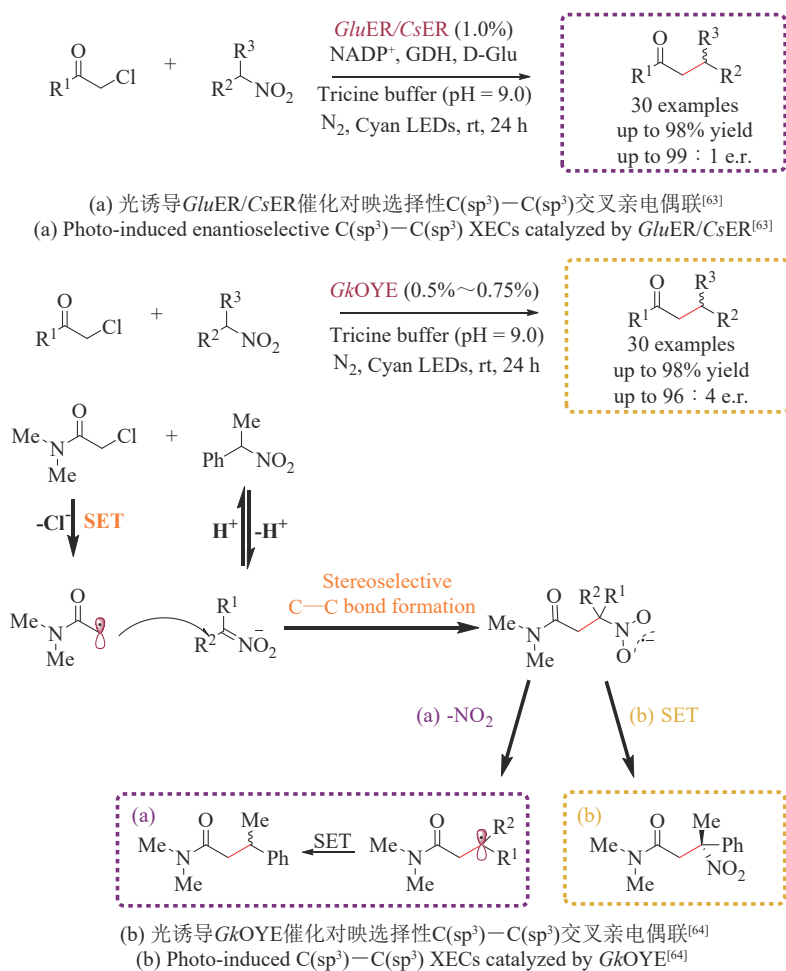


图10 光诱导酶促对映选择性C(sp<sup>3</sup>)-C(sp<sup>3</sup>)交叉亲电偶联

Fig. 10 Photo-induced enzymatic enantioselective C(sp<sup>3</sup>)-C(sp<sup>3</sup>) XECs

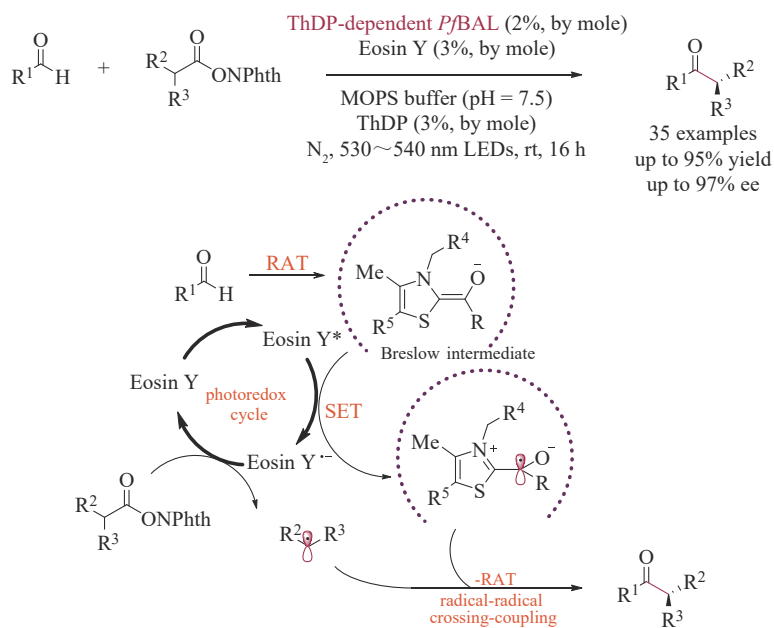


图 11 光诱导 *p/BAL* 不对称自由基-自由基偶联协同催化<sup>[68]</sup>

Fig. 11 Photo-induced synergistic enantioselective radical-radical coupling catalyzed by *p/BAL*<sup>[68]</sup>

明, Eosin Y 受光激发生成 Eosin Y\*, 在 *p/BAL* 的活性空腔中底物醛和 ThDP 形成的 Breslow 中间体发生单电子氧化生成稳态的羰基自由基和 Eosin Y•-, Eosin Y•- 可以还原苄基-NHPI 酯底物生成瞬态的前手性苄基自由基, 并与稳态的羰基自由基中间体发生自由基-自由基交叉耦合, 生成多种取代的手性酮化合物, 同时完成 Eosin Y 的催化循环。

### 1.5 C—N 键形成反应

N 中心的自由基是一类多功能的、高反应性的合成中间体, 然而与经典的 C 中心自由基相比, N 中心的自由基很容易被还原, 因此如何高效构建 C—N 键仍然是有机合成领域的一个巨大挑战<sup>[69-70]</sup>。

2023 年, Hyster 团队<sup>[71]</sup> 开发了一种光催化剂与酶协同催化产生 N 中心自由基的新方法, 实现了分子内对映选择性的自由基氢胺化反应 [图 12(a)]。来自枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 的 YqjM 和光催化剂 Ru(bpy)<sub>3</sub>Cl<sub>2</sub> 协同催化, 可以将羟基酯转化为对应的 *R* 或 *S* 构型的氢胺化产物。机理实验表明: 光激发 Ru<sup>(I)</sup> 与酶活性空腔中非共价结合的底物羟胺酯发生 SET, 生成 N 自由基中间体, 该自由基与双键加成生成苄基自由基中间体, 随后通过 FMN<sub>sq</sub> 介导的 HAT 作用生成手性内酰胺产

物以及 FMN<sub>sq</sub>, FMN<sub>sq</sub> 还原激发态的 Ru<sup>(II)\*</sup> 生成 Ru<sup>(I)</sup> 和 FMN<sub>ox</sub>, 完成光催化剂与黄素的催化循环。

2023 年, 赵惠民、王斌举和仲冬平团队<sup>[72]</sup> 将这种光酶催化产生 N 中心自由基的策略应用于分子间的自由基氢胺化反应 [图 12(b)]。作者设计了一种含有 N—O 键离去基团的氨基甲酸酯作为 N 中心自由基的前体, 在来源于恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*) 的烯还原酶 XenB 空腔中, 光激发 FMNH 与底物之间发生 SET, 底物 N—O 键断裂生成 N 中心自由基中间体与 FMNH•, N 中心自由基中间体进而与末端烯烃化合物发生自由基加成, 最终在 FMNH• 介导 HAT 作用下生成手性产物。

### 1.6 C—S 键形成反应

2023 年, 徐鉴团队<sup>[73]</sup> 报道了一例自由基介导的立体选择性磺酰化的光酶催化新方法 [图 13(a)]。在蓝光照射下, 通过定向进化手段获得的 OYE1 突变株能催化磺酰氯脱卤生成 S 中心自由基中间体, 并与末端烯烃底物发生自由基加成, 生成新的自由基中间体。随后在酶活性空腔中的酪氨酸 (Y196) 介导的 HAT 作用下高效合成一系列 *R* 构型的 β-手性磺酰化合物。此项工作为手性磺酰基化合物的



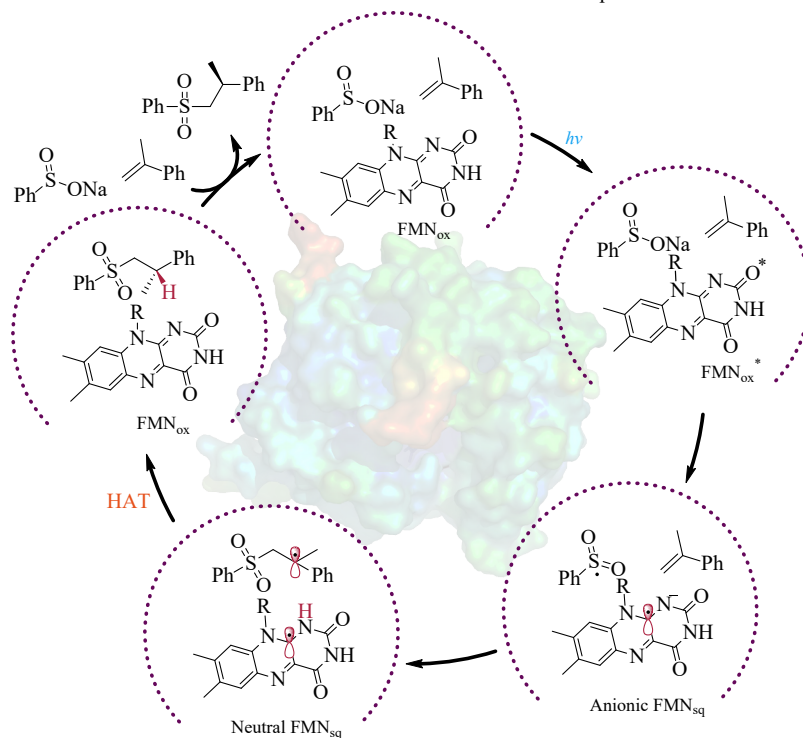
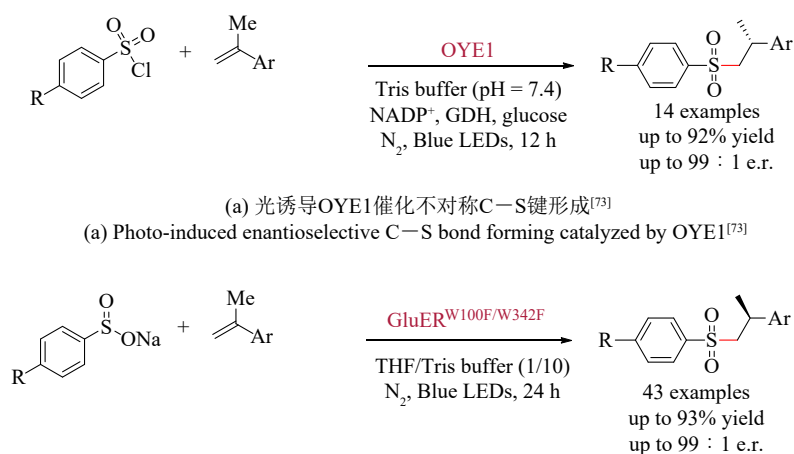


图13 光诱导酶促不对称C—S键形成

Fig. 13 Photo-induced enzymatic enantioselective C—S bond forming

还原启动的反应相比，这种氧化机制不依赖于底物和辅因子之间的EDA复合物形成，因此为多样化的高价值化合物的合成提供了更大的平台。

### 1.7 C—H官能团化

C—H键作为有机化合物中最为普遍的化学键，其官能团化备受科研工作者的关注。尽管过渡金属催化的C—H键活化已成为一种强有力的合

成手段，然而在绿色以及经济性上仍然有着一定的不足<sup>[75-76]</sup>。近年来光酶催化领域的迅速发展，为惰性C—H键活化提供了新方法<sup>[77]</sup>。

2023年，受自然界中FAD依赖型FAP的脱羧机理的启发，黄小强、王斌举和田长麟团队<sup>[78]</sup>开发了一种直接激发富电子的噻吩底物生成芳基自由基的光酶催化新方法（图14）。作者选择了3-甲氧基噻吩和 $\alpha$ -甲基苯乙烯作为模型底物，在加入光催化剂核黄素5-单磷酸钠盐（FMN-Na）的情况

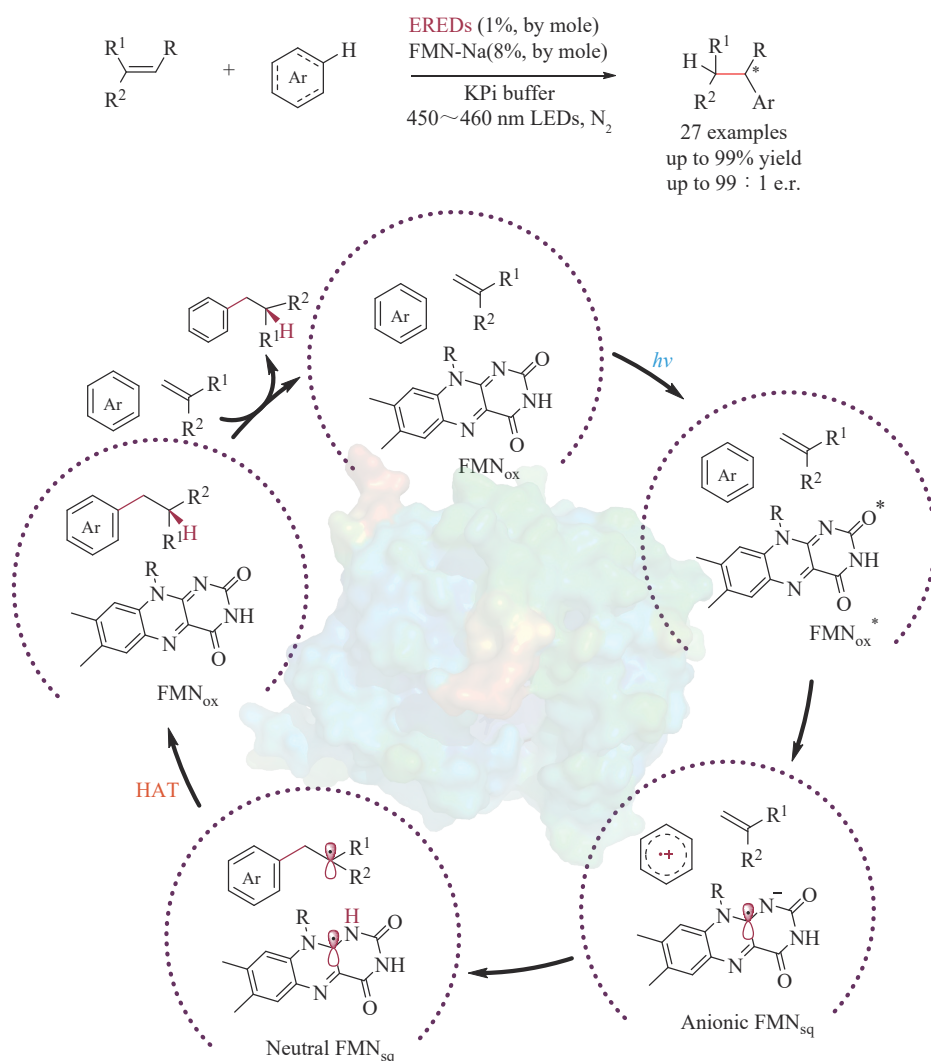


图 14 ERED 光酶催化烯烃不对称自由基氢芳基化<sup>[78]</sup>

Fig. 14 Photo-induced alkenes asymmetric radical hydroarylation transformation catalyzed by EREDs<sup>[78]</sup>

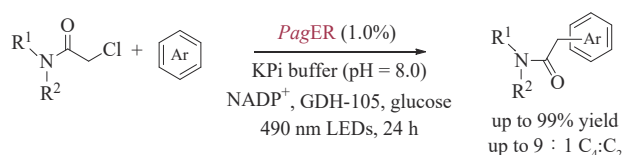
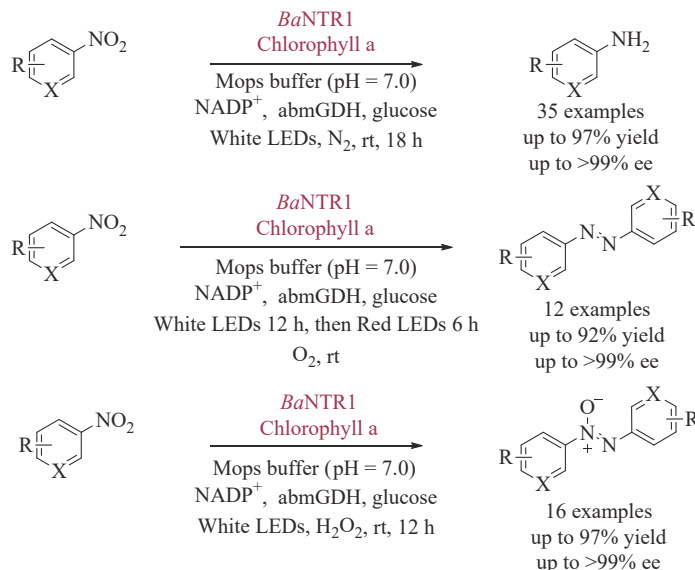
下分别筛选出了选择 *R* 构型的烯还原酶 *GluER* 以及选择 *S* 构型的老黄酶 *OYE1*。在底物拓展实验中,该方法对多种富电子的杂环以及苯环均显示出了良好的产率和选择性。机理实验表明: ERED 活性空腔中  $\text{FMN}_{\text{ox}}$  受光激发后转化为激发态  $\text{FMN}_{\text{ox}}^*$ ,  $\text{FMN}_{\text{ox}}^*$  夺取了富电子芳烃的电子产生芳基自由基阳离子中间体以及  $\text{FMN}_{\text{sq}}$ , 随后芳基的自由基中间体与烯烃发生自由基加成形成前手性中间体。最后,前手性中间体在酶活性位点  $\text{FMN}_{\text{sq}}$  介导的 ET/PT (或 HAT) 作用下生成手性产物,  $\text{FMN}_{\text{sq}}$  再生为  $\text{FMN}_{\text{ox}}$  完成黄素的催化循环。

芳烃官能团化中的区域选择性控制是合成化学中的一个经典难题<sup>[79]</sup>。2023年, Hyster 团队<sup>[80]</sup>发现通过定向进化手段获得的突变株, 可以影响

底物与黄素辅因子形成的 CT 复合物的电性, 从而调控了吡啶底物烷基化的区域选择性, 最终实现了吡啶 C4 位置的官能团化 (图 15)。

## 1.8 其他

2023年, Poelarends 团队<sup>[81]</sup>利用 *BaNTR1* 与叶绿素光催化系统的协同作用, 促进硝基苯转化成氨基苯、偶氮产物等一系列的复杂产物 (图 16)。值得一提的是, 该反应可以在白光甚至太阳光的照射下顺利进行。另外, 该文作者还发现了一种来自阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*) 的硝基还原酶 *EcNR* 能以硝化烯烃和硝化烷烃为起始底物合成脂肪胺。这些反应以叶绿素为光催化剂, 直接利

图15 光诱导酶促C—H键官能团化<sup>[80]</sup>Fig. 15 Photo-induced C—H bond functionalization catalyzed by EREDs<sup>[80]</sup>图16 光诱导合成高价值胺化合物<sup>[81]</sup>Fig. 16 Photo-induced synthesis of high value amines<sup>[81]</sup>

用太阳光作为能源驱动，为高价值有机化合物的合成提供了可能，也为绿色化学、节能化学领域提供了新的思路。

## 2 总结与展望

尽管距离2016年首次提出光敏辅因子依赖的非天然光酶催化这一概念还不足十年，但是在自由基介导的不对称脱卤/氢化、分子内环化、分子间C—C/C—N/C—S键的交叉耦合等众多反应类型中已有诸多报道，而且展现了多种不同的催化机理（图17），充分展示了其在不对称有机合成领域的巨大潜力。然而作为一个高速发展的新兴研究领域，非天然光酶催化也同样面对着不少的挑战：

(1) 酶空腔中的自由基反应受限于诸多因素，如pH、温度、氧气敏感等<sup>[82]</sup>，酶在其非生理条件下的活性和稳定性大打折扣。此外，酶催化反应大多在水相体系中进行，常见的有机物在水中的

溶解度低。这些问题导致了反应产率不高，以及传统有机合成中的很多容易实现的反应难以在酶中进行。

(2) 目前主要报道的可利用的天然光敏辅因子，例如NAD(P)H与FMN/FAD的种类有限，氧化还原电势不足，导致经常需要依赖额外的光催化剂甚至是金属光催化剂来协助反应的进行，经济成本增高。

(3) 对于绝大部分光酶反应来说，其转化数（turnover number, TON）小、底物承载量低、光利用率差，目前还缺乏诸如固定化技术的支持，尚难以实现大规模的工业应用。

(4) 现有光酶催化的非天然反应，自由基的引发通常依赖于脱卤/脱羧等方式，整体的原子经济性较差。另外，自由基前体往往需要额外的合成，步骤烦琐，这也极大地限制了反应底物的类型。

(5) 很多光酶除了新发现的非天然反应活性外，自身还具有特定的天然催化功能，如何充分

利用一种光酶的天然和非天然反应活性, 实现多步串联合成复杂化合物方面仍有很大的探究空间。

(6) 目前该领域的研究机理主要依靠氘代实验、密度泛函理论计算、MD模拟、X射线衍射、低温电子顺磁共振(EPR)以及光谱验证等<sup>[83]</sup>, 对催化机理的探究亟待更加深入。

(7) 由于非天然光酶催化的研究仍然处于初期, 各实验室方法各异且没有规范统一的标准, 导致数据难以重现。随着该领域的成熟, 应用范围越来越广, 有必要建立光酶催化反应的技术和化学细节的标准<sup>[18]</sup>, 如光生物转化反应条件的重要信息, 包括细胞密度、生理状态和形式、催化剂浓度和形式等。

近年来定向进化技术的成熟<sup>[84]</sup>、人工光酶的发展<sup>[85-86]</sup>和机器学习的兴起<sup>[87-88]</sup>, 也都将为非天然光酶催化的研究添砖加瓦, 不断激发新的活力。为了试图解决非天然光酶催化的挑战, 以下方面可能激发读者的思考:

(1) 充分整合交叉学科的优势, 促进光酶反

应的发展。例如目前流动化学在生物医学、环境监测等方面的应用越发成熟<sup>[89]</sup>, 利用类似的技术实现光酶催化的连续自动化监测工作站具有巨大的发展潜力和应用前景; 细胞工厂已经逐渐成为工业制造化学品的新风潮<sup>[90]</sup>, 将光酶反应融入细胞内, 利用合成生物学的方法实现复杂的串联反应, 可以为复杂化合物的生物合成提供强力支撑。

(2) 目前光酶催化反应体系通常依赖昂贵的NAD(P)H作为电子供体, 除此之外三乙醇胺、乙二胺四乙酸、三乙胺等缓冲液也是常见的电子牺牲供体<sup>[25]</sup>, 然而这种方法也同时面临了副产物污染的风险。开发稳定的新型光催化剂, 直接高效利用水分子作为电子供体显然更加绿色环保<sup>[91]</sup>。

(3) 目前已经发现的天然光酶较少, 着眼于探索更多种类的天然光酶或稀有光敏辅因子依赖型酶<sup>[92]</sup>, 以及引入更多新型的化学光敏基团, 都有利于发现更多新型的光酶反应。

(4) 开发更加简单高效的定向进化方法, 辅

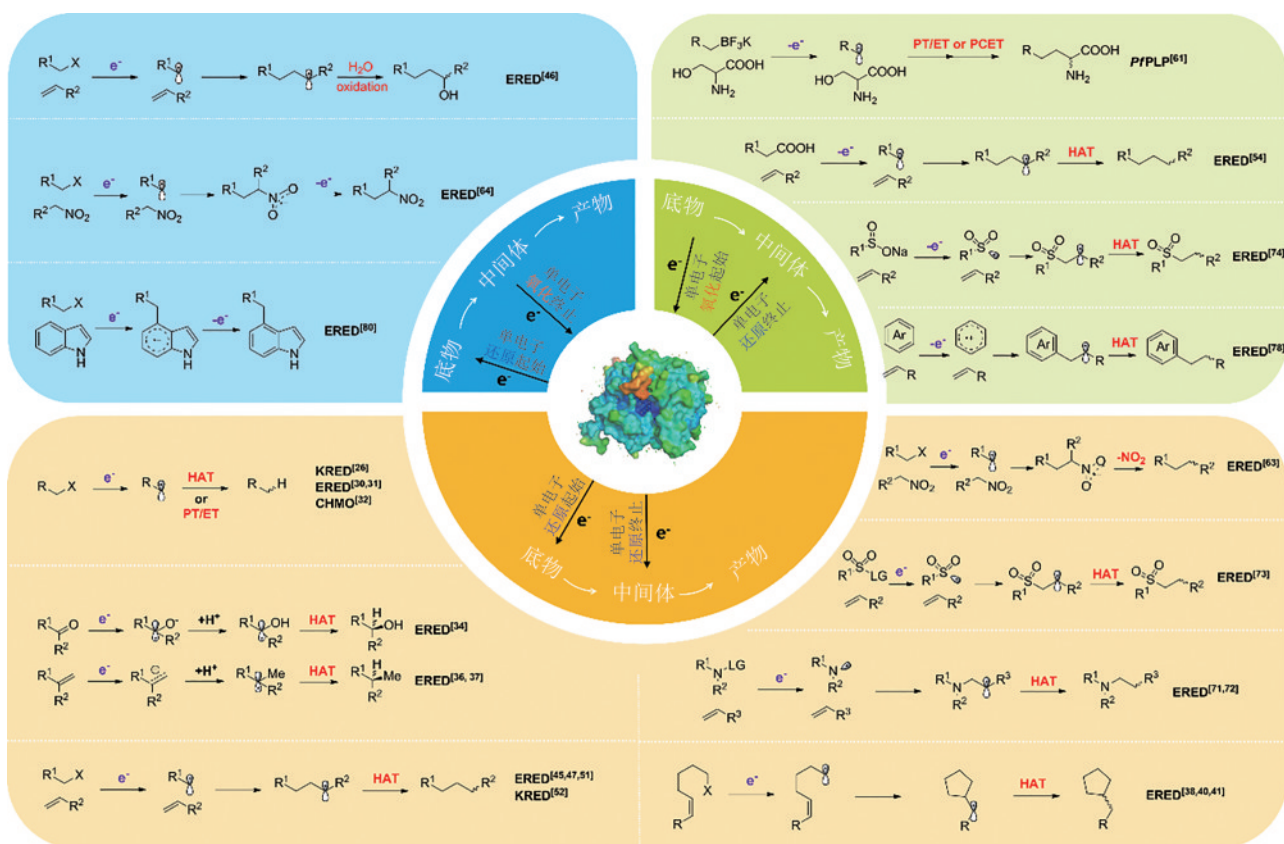


图17 光诱导的酶促混乱性反应总结

Fig. 17 Summary of light-induced promiscuous enzymatic reactions

碱耐受性好、有机溶剂容忍度高等优异性质的突变株，进一步通过精准调控酶的性质从而创建有效的反应元件，获得更多、更高性能的光酶催化剂<sup>[94]</sup>

随着生物技术的不断发展和多学科交叉的不断推动，人们对于光酶催化非天然反应的机理逐步有了清晰认识，可以进一步促进光酶催化研究领域的深入和拓展，未来非天然光酶催化必将在有机合成尤其是绿色不对称合成领域中发挥更大的作用<sup>[95]</sup>。

### 参 考 文 献

- [1] CIAMICIAN G. The photochemistry of the future[J]. *Science*, 1912, 36(926): 385-394.
- [2] SCHULTZ D M, YOON T P. Solar synthesis: prospects in visible light photocatalysis[J]. *Science*, 2014, 343(6174): 1239176.
- [3] WEI H L, CHEN H, CHEN J Z, et al. Nickel-catalyzed asymmetric hydrogenation of  $\alpha$ -substituted vinylphosphonates and diarylvinyldiphosphine oxides[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2023, 62(6): e202214990.
- [4] SPRAGUE-KLEIN E A, HE X, MARA M W, et al. Photoelectrochemical effect in the amorphous cobalt oxide water oxidation catalyst cobalt-phosphate (CoPi) [J]. *ACS Energy Letters*, 2022, 7(9): 3129-3138.
- [5] JOHNSTON C P, SMITH R T, ALLMENDINGER S, et al. Metallaphotoredox-catalysed  $sp^3$ - $sp^3$  cross-coupling of carboxylic acids with alkyl halides[J]. *Nature*, 2016, 536(7616): 322-325.
- [6] CAO D W, ATAYA M, CHEN Z P, et al. Light-driven transition-metal-free direct decarbonylation of unstrained diaryl ketones *via* a dual C—C bond cleavage[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 1805.
- [7] QUIRÓS I, MARTÍN M, GOMEZ-MENDOZA M, et al. Isonitriles as alkyl radical precursors in visible light mediated hydro- and deuterodeamination reactions[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2024, 63(7): e202317683.
- [8] ZHANG L, PFUND B, WENGER O S, et al. Oxidase-type C—H/C—H coupling using an isoquinoline-derived organic photocatalyst[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2022, 61(20): e202202649.
- [9] BACKUS E H G, HOSSEINPOUR S, RAMANAN C, et al. Ultrafast surface-specific spectroscopy of water at a photoexcited  $TiO_2$  model water-splitting photocatalyst[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2024, 63(8): e202312123.
- [10] HUANG J, KANG Y Y, LIU J N, et al. Gradient tungsten-doped  $Bi_3TiNbO_9$  ferroelectric photocatalysts with additional built-in electric field for efficient overall water splitting[J]. *Nature Communications*, 2023, 14(1): 7948.
- [11] QU G, LI A T, ACEVEDO-ROCHA C G, et al. The crucial role of methodology development in directed evolution of selective enzymes[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2020, 59(32): 13204-13231.
- [12] SHELDON R A, WOODLEY J M. Role of biocatalysis in sustainable chemistry[J]. *Chemical Reviews*, 2018, 118(2): 801-838.
- [13] MAESTRE-REYNA M, WANG P H, NANGO E, et al. Visualizing the DNA repair process by a photolyase at atomic resolution[J]. *Science*, 2023, 382(6674): eadd7795.
- [14] ZHANG S W, HEYES D J, FENG L L, et al. Structural basis for enzymatic photocatalysis in chlorophyll biosynthesis[J]. *Nature*, 2019, 574(7780): 722-725.
- [15] SORIGUÉ D, LÉGERET B, CUINÉ S, et al. An algal photoenzyme converts fatty acids to hydrocarbons[J]. *Science*, 2017, 357(6354): 903-907.
- [16] SUN N N, HUANG J J, QIAN J Y, et al. Enantioselective [2+2]-cycloadditions with triplet photoenzymes[J]. *Nature*, 2022, 611(7937): 715-720.
- [17] TRIMBLE J S, CRAWSHAW R, HARDY F J, et al. A designed photoenzyme for enantioselective [2+2] cycloadditions[J]. *Nature*, 2022, 611(7937): 709-714.
- [18] ALPHAND V, VAN BERKEL W J H, JURKAŠ V, et al. Exciting enzymes: current state and future perspective of photobiocatalysis[J]. *ChemPhotoChem*, 2023, 7(7): e202200325.
- [19] SINGH P P, SINHA S, NAINWAL P, et al. Novel applications of photobiocatalysts in chemical transformations[J]. *RSC Advances*, 2024, 14(4): 2590-2601.
- [20] LI S H, SHI J F, LIU S S, et al. Molecule-electron-proton transfer in enzyme-photo-coupled catalytic system[J]. *Chinese Journal of Catalysis*, 2023, 44: 96-110.
- [21] YANG N, TIAN Y, ZHANG M, et al. Photocatalyst-enzyme hybrid systems for light-driven biotransformation[J]. *Biotechnology Advances*, 2022, 54: 107808.
- [22] ROTH S, NIESE R, MÜLLER M, et al. Redox out of the box: catalytic versatility across NAD(P)H-dependent oxidoreductases [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2024, 63(13): e202314740.
- [23] SELLÉS VIDAL L, KELLY C L, MORDAKA P M, et al. Review of NAD(P)H-dependent oxidoreductases: properties, engineering and application[J]. *Biochimica et Biophysica Acta Proteins and Proteomics*, 2018, 1866(2): 327-347.
- [24] PAUL C E, EGGERICHS D, WESTPHAL A H, et al. Flavoprotein monooxygenases: versatile biocatalysts[J].

- Biotechnology Advances, 2021, 51: 107712.
- [25] LEE S H, CHOI D S, KUK S K, et al. Photobiocatalysis: activating redox enzymes by direct or indirect transfer of photoinduced electrons[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2018, 57(27): 7958-7985.
- [26] EMMANUEL M A, GREENBERG N R, OBLINSKY D G, et al. Accessing non-natural reactivity by irradiating nicotinamide-dependent enzymes with light[J]. *Nature*, 2016, 540(7633): 414-417.
- [27] EMMANUEL M A, BENDER S G, BILODEAU C, et al. Photobiocatalytic strategies for organic synthesis[J]. *Chemical Reviews*, 2023, 123(9): 5459-5520.
- [28] HARRISON W, HUANG X Q, ZHAO H M. Photobiocatalysis for abiological transformations[J]. *Accounts of Chemical Research*, 2022, 55(8): 1087-1096.
- [29] 明阳, 陈彬, 黄小强. 光酶催化合成进展[J]. *合成生物学*, 2023, 4(4): 651-675.
- MING Y, CHEN B, HUANG X Q. Recent advances in photoenzymatic synthesis[J]. *Synthetic Biology Journal*, 2023, 4(4): 651-675.
- [30] SANDOVAL B A, MEICHAN A J, HYSTER T K. Enantioselective hydrogen atom transfer: discovery of catalytic promiscuity in flavin-dependent 'ene'-reductases[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2017, 139(33): 11313-11316.
- [31] BIEGASIEWICZ K F, COOPER S J, EMMANUEL M A, et al. Catalytic promiscuity enabled by photoredox catalysis in nicotinamide-dependent oxidoreductases[J]. *Nature Chemistry*, 2018, 10(7): 770-775.
- [32] PENG Y Z, WANG Z G, CHEN Y, et al. Photoinduced promiscuity of cyclohexanone monooxygenase for the enantioselective synthesis of  $\alpha$ -fluoroketones[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2022, 61(50): e202211199.
- [33] XU J, CEN Y X, SINGH W, et al. Stereodivergent protein engineering of a lipase to access all possible stereoisomers of chiral esters with two stereocenters[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2019, 141(19): 7934-7945.
- [34] SANDOVAL B A, KURTOIC S I, CHUNG M M, et al. Photoenzymatic catalysis enables radical-mediated ketone reduction in ene-reductases[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2019, 58(26): 8714-8718.
- [35] PRATS LUJÁN A, BHAT M F, SARAVANAN T, et al. Chemo- and enantioselective photoenzymatic ketone reductions using a promiscuous flavin-dependent nitroreductase [J]. *ChemCatChem*, 2022, 14(8): e202200043.
- [36] NAKANO Y, BLACK M J, MEICHAN A J, et al. Photoenzymatic hydrogenation of heteroaromatic olefins using 'ene'-reductases with photoredox catalysts[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2020, 59(26): 10484-10488.
- [37] ZHANG J W, ZHANG Q Y, CHEN B, et al. Photoenzymatic conversion of enamides to enantioenriched benzylic amines enabled by visible-light-induced single-electron reduction[J]. *ACS Catalysis*, 2023, 13(24): 15682-15690.
- [38] BIEGASIEWICZ K F, COOPER S J, GAO X, et al. Photoexcitation of flavoenzymes enables a stereoselective radical cyclization[J]. *Science*, 2019, 364(6446): 1166-1169.
- [39] MONDAL S, DUMUR F, GIGMES D, et al. Enantioselective radical reactions using chiral catalysts[J]. *Chemical Reviews*, 2022, 122(6): 5842-5976.
- [40] CLAYMAN P D, HYSTER T K. Photoenzymatic generation of unstabilized alkyl radicals: an asymmetric reductive cyclization [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2020, 142(37): 15673-15677.
- [41] ZHU C T, YUAN Z B, DENG Z W, et al. Photoenzymatic enantioselective synthesis of oxygen-containing benzo-fused heterocycles[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2023, 62(50): e202311762.
- [42] CAPONE M, DELL'ORLETTA G, NICHOLLS B T, et al. Evidence of a distinctive enantioselective binding mode for the photoinduced radical cyclization of  $\alpha$ -chloroamides in ene-reductases[J]. *ACS Catalysis*, 2023, 13(23): 15310-15321.
- [43] COLEMAN T, KIRK A M, CHAO R R, et al. Understanding the mechanistic requirements for efficient and stereoselective alkene epoxidation by a cytochrome P450 enzyme[J]. *ACS Catalysis*, 2021, 11(4): 1995-2010.
- [44] SCHMERMUND L, VALENTINA JURKAŠ V, ÖZGEN F F. Photo-biocatalysis: biotransformations in the presence of light [J]. *ACS Catalysis*, 2019, 9(5): 4115-4144.
- [45] HUANG X Q, WANG B J, WANG Y J, et al. Photoenzymatic enantioselective intermolecular radical hydroalkylation[J]. *Nature*, 2020, 584(7819): 69-74.
- [46] OUYANG Y, TUREK-HERMAN J, QIAO T Z, et al. Asymmetric carbhydroxylation of alkenes using photoenzymatic catalysis[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2023, 145(31): 17018-17022.
- [47] LI M L, HARRISON W, ZHANG Z Y, et al. Remote stereocontrol with azaarenes *via* enzymatic hydrogen atom transfer[J]. *Nature Chemistry*, 2024, 16(2): 277-284.
- [48] BEST D, LAM H W. C—N-containing azaarenes as activating groups in enantioselective catalysis[J]. *The Journal of Organic Chemistry*, 2014, 79(3): 831-845.
- [49] GUO J, XIE Y, LAI Z M, et al. Enantioselective hydroalkylation of alkenylpyridines enabled by merging photoactive electron donor-acceptor complexes with chiral bifunctional organocatalysis[J]. *ACS Catalysis*, 2022, 12(20): 13065-13074.
- [50] BENDER S G, HYSTER T K. Pyridylmethyl radicals for enantioselective alkene hydroalkylation using "ene"-reductases

- [J]. ACS Catalysis, 2023, 13(22): 14680-14684.
- [51] DUAN X Y, CUI D, WANG Z G, et al. A photoenzymatic strategy for radical-mediated stereoselective hydroalkylation with diazo compounds[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2023, 62(5): e202214135.
- [52] HUANG X Q, FENG J Q, CUI J W, et al. Photoinduced chemomimetic biocatalysis for enantioselective intermolecular radical conjugate addition[J]. Nature Catalysis, 2022, 5: 586-593.
- [53] LIU Y Y, ZHU L Y, LI X M, et al. Photoredox/enzymatic catalysis enabling redox-neutral decarboxylative asymmetric C—C coupling for asymmetric synthesis of chiral 1,2-amino alcohols[J]. JACS Au, 2023, 3(11): 3005-3013.
- [54] SUN S Z, NICHOLLS B T, BAIN D, et al. Enantioselective decarboxylative alkylation using synergistic photoenzymatic catalysis[J]. Nature Catalysis, 2024, 7: 35-42.
- [55] XUE Y P, CAO C H, ZHENG Y G. Enzymatic asymmetric synthesis of chiral amino acids[J]. Chemical Society Reviews, 2018, 47(4): 1516-1561.
- [56] BLASKOVICH M A T. Unusual amino acids in medicinal chemistry[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2016, 59(24): 10807-10836.
- [57] WANG Y W, DENG L F, ZHANG X, et al. A radical approach to making unnatural amino acids: conversion of C—S bonds in cysteine derivatives into C—C bonds[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2021, 60(4): 2155-2159.
- [58] DUMAS A, LERCHER L, SPICER C D, et al. Designing logical codon reassignment — expanding the chemistry in biology[J]. Chemical Science, 2015, 6(1): 50-69.
- [59] ELIOT A C, KIRSCH J F. Pyridoxal phosphate enzymes: mechanistic, structural, and evolutionary considerations[J]. Annual Review of Biochemistry, 2004, 73: 383-415.
- [60] NAJERA C, SANSANO J M. Catalytic asymmetric synthesis of alpha-amino acids[J]. Chemical Reviews, 2007, 107(11): 4584-4671.
- [61] CHENG L, LI D, MAI B K, et al. Stereoselective amino acid synthesis by synergistic photoredox-pyridoxal radical biocatalysis[J]. Science, 2023, 381(6656): 444-451.
- [62] ZHANG W, LU L X, ZHANG W, et al. Electrochemically driven cross-electrophile coupling of alkyl halides[J]. Nature, 2022, 604(7905): 292-297.
- [63] FU H G, CAO J Z, QIAO T Z, et al. An asymmetric sp<sup>3</sup>-sp<sup>3</sup> cross-electrophile coupling using 'ene'-reductases[J]. Nature, 2022, 610(7931): 302-307.
- [64] FU H G, QIAO T Z, CARCELLER J M, et al. Asymmetric C-alkylation of nitroalkanes via enzymatic photoredox catalysis [J]. Journal of the American Chemical Society, 2023, 145(2): 787-793.
- [65] BALAKRISHNAN A, PARAMASIVAM S, CHAKRABORTY S, et al. Solid-state nuclear magnetic resonance studies delineate the role of the protein in activation of both aromatic rings of thiamin[J]. Journal of the American Chemical Society, 2012, 134(1): 665-672.
- [66] BALAKRISHNAN A, GAO Y H, MOORJANI P, et al. Bifunctionality of the thiamin diphosphate cofactor: assignment of tautomeric/ionization states of the 4'-aminopyrimidine ring when various intermediates occupy the active sites during the catalysis of yeast pyruvate decarboxylase[J]. Journal of the American Chemical Society, 2012, 134(8): 3873-3885.
- [67] GAN M M, LIU J Q, ZHANG L, et al. Preparation and post-assembly modification of metallosupramolecular assemblies from poly(*N*-heterocyclic carbene) ligands[J]. Chemical Reviews, 2018, 118(19): 9587-9641.
- [68] XU Y Y, CHEN H W, YU L, et al. A light-driven enzymatic enantioselective radical acylation[J]. Nature, 2024, 625(7993): 74-78.
- [69] XIONG T, ZHANG Q. New amination strategies based on nitrogen-centered radical chemistry[J]. Chemical Society Reviews, 2016, 45(11): 3069-3087.
- [70] KWON K, SIMONS R T, NANDAKUMAR M, et al. Strategies to generate nitrogen-centered radicals that may rely on photoredox catalysis: development in reaction methodology and applications in organic synthesis[J]. Chemical Reviews, 2022, 122(2): 2353-2428.
- [71] YE Y X, CAO J Z, OBLINSKY D G, et al. Using enzymes to tame nitrogen-centred radicals for enantioselective hydroamination[J]. Nature Chemistry, 2023, 15(2): 206-212.
- [72] ZHANG Z Y, FENG J Q, YANG C, et al. Photoenzymatic enantioselective intermolecular radical hydroamination[J]. Nature Catalysis, 2023, 6(8): 687-694.
- [73] CHEN X Y, ZHENG D N, JIANG L Y, et al. Photoenzymatic hydrosulfonylation for the stereoselective synthesis of chiral sulfones[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2023, 62(23): e202218140.
- [74] SHI Q L, KANG X W, LIU Z Y, et al. Single-electron oxidation-initiated enantioselective hydrosulfonylation of olefins enabled by photoenzymatic catalysis[J]. Journal of the American Chemical Society, 2024, 146(4): 2748-2756.
- [75] DUTTA U, MAITI S, BHATTACHARYA T, et al. Arene diversification through distal C(sp<sup>2</sup>)-H functionalization[J]. Science, 2021, 372(6543): eabd5992.
- [76] WANG Y J, CHANG W J, QIN S M, et al. Diversification of aryl sulfonyl compounds through ligand-controlled *meta*- and *para*-C—H borylation[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2022, 61(34): e202206797.
- [77] LAUDER K, TOSCANI A, QI Y Y, et al. Photo-biocatalytic one-pot cascades for the enantioselective synthesis of 1,3-

- mercaptoalkanol volatile sulfur compounds[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2018, 57(20): 5803-5807.
- [78] ZHAO B B, FENG J Q, YU L, et al. Direct visible-light-excited flavoproteins for redox-neutral asymmetric radical hydroarylation[J]. *Nature Catalysis*, 2023, 6(11): 996-1004.
- [79] COLGAN A C, PROCTOR R S J, GIBSON D C, et al. Hydrogen atom transfer driven enantioselective Minisci reaction of alcohols[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2022, 61(25): e202200266.
- [80] PAGE C G, CAO J Z, OBLINSKY D G, et al. Regioselective radical alkylation of arenes using evolved photoenzymes[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2023, 145(21): 11866-11874.
- [81] LUJÁN A P, BHAT M F, TSATURYAN S, et al. Tailored photoenzymatic systems for selective reduction of aliphatic and aromatic nitro compounds fueled by light[J]. *Nature Communications*, 2023, 14(1): 5442.
- [82] CHEN L, ZHANG Z Y, HOSHINO A, et al. NADPH production by the oxidative pentose-phosphate pathway supports folate metabolism[J]. *Nature Metabolism*, 2019, 1(3): 404-415.
- [83] BAUMANN S, PAUL W, CHOI T Y, et al. Electron paramagnetic resonance of individual atoms on a surface[J]. *Science*, 2015, 350(6259): 417-420.
- [84] WANG Y J, XUE P, CAO M F, et al. Directed evolution: methodologies and applications[J]. *Chemical Reviews*, 2021, 121(20): 12384-12444.
- [85] QIN Z Y, ZHOU Y, LI Z, et al. Production of biobased ethylbenzene by cascade biocatalysis with an engineered photodecarboxylase[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2024, 63(8): e202314566.
- [86] FU Y, LIU X H, XIA Y, et al. Whole-cell-catalyzed hydrogenation/deuteration of aryl halides with a genetically repurposed photodehalogenase[J]. *Chem*, 2023, 9(7): 1897-1909.
- [87] YU T H, CUI H Y, LI J C, et al. Enzyme function prediction using contrastive learning[J]. *Science*, 2023, 379(6639): 1358-1363.
- [88] CHONG W Y, QI Y, JI L R, et al. Computer-aided tunnel engineering: a promising strategy for improving lipase applications in esterification reactions[J]. *ACS Catalysis*, 2024, 14(1): 67-83.
- [89] BENINCÁ L A D, FRANÇA A S, BRÊDA G C, et al. Continuous-flow CvFAP photodecarboxylation of palmitic acid under environmentally friendly conditions[J]. *Molecular Catalysis*, 2022, 528: 112469.
- [90] TAN C L, TAO F, XU P. Direct carbon capture for the production of high-performance biodegradable plastics by cyanobacterial cell factories[J]. *Green Chemistry*, 2022, 24(11): 4470-4483.
- [91] ÖZGEN F F, RUNDA M E, SCHMIDT S. Photo-biocatalytic cascades: combining chemical and enzymatic transformations fueled by light[J]. *ChemBioChem*, 2021, 22(5): 790-806.
- [92] TAYLOR A, HEYES D J, SCRUTTON N S. Catalysis by nature's photoenzymes[J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2022, 77: 102491.
- [93] COLLINS K D, GENSCHE T, GLORIUS F. Contemporary screening approaches to reaction discovery and development [J]. *Nature Chemistry*, 2014, 6(10): 859-871.
- [94] VOLK M J, TRAN V G, TAN S I, et al. Metabolic engineering: methodologies and applications[J]. *Chemical Reviews*, 2023, 123(9): 5521-5570.
- [95] BULLER R, LUTZ S, KAZLAUSKAS R J, et al. From nature to industry: harnessing enzymes for biocatalysis[J]. *Science*, 2023, 382(6673): eadh8615.



**通讯作者:** 吴起(1976—),男,教授,博士生导师,研究方向为酶定向进化、合成生物学、生物催化等。  
E-mail: wuqi1000@163.com, llc123@zju.edu.cn



**通讯作者:** 徐维华(1991—),女,博士后。研究方向为酶定向进化、光酶催化多功能性、酶促混乱性反应。  
E-mail: xuwh@zju.edu.cn



**第一作者:** 夏孔晨(2000—),女,硕士研究生。研究方向为酶定向进化与催化多功能性。  
E-mail: 22337042@zju.edu.cn