

评论

DOI: 10.12211/2096-8280.2026-097

人工环氧酶重塑混源萜类天然产物合成路径

孙玉莉, 叶宇轩

(西湖大学, 浙江省功能分子精密合成重点实验室, 浙江 杭州 310030)

摘要: 烯烃不对称环氧化是构建手性含氧结构的重要反应, 在生物活性分子合成中具有广泛应用。经典小分子催化体系已能够高效实现多类烯烃的不对称环氧化, 但对于缺乏近端导向基团、处于相似化学环境中的多个烯烃, 实现位点选择性和立体选择性的协同控制仍具有挑战。近期, 上海交通大学李健团队与中国医学科学院药用植物研究所张卫东团队通过定向进化将 P450_{BM3} 改造为高区域选择性和对映选择性的人工环氧酶 EPO6, 实现了法尼醇内部 C6=C7 双键的选择性不对称环氧化, 并完成十克级产物制备。在此基础上, 作者将酶催化与多烯环化等化学转化相结合, 以显著缩短的路线完成多种混源萜类天然产物的合成。该工作为化学-酶法协同的复杂分子高效合成提供了新的研究范式。本文介绍该人工环氧酶的开发及其在天然产物全合成中的应用, 重点分析酶催化独特的分子识别能力如何突破传统化学催化中的位点选择性限制, 并讨论生物催化如何通过创造传统方法难以实现的逆合成切断, 拓展复杂分子的合成设计空间。

关键词: 化学-酶法合成; P450_{BM3}; 法尼醇; 不对称环氧化

中图分类号: Q816 **文献标志码:** A

Artificial Epoxidase Streamlines Meroterpenoid Synthesis

SUN Yuli, YE Yuxuan

(Westlake University, Zhejiang Key Laboratory of Precise Synthesis of Functional Molecules, Hangzhou 310030, Zhejiang, China)

Abstract: Asymmetric epoxidation of alkenes is an important transformation for constructing chiral oxygenated motifs and has been widely applied in the synthesis of complex natural products and pharmaceuticals. Although small-molecule catalysts have enabled highly efficient asymmetric epoxidation of diverse alkenes, simultaneous control over site- and stereoselectivity remains challenging. Recently, the groups led by LI Jian at Shanghai Jiao Tong University and ZHANG Weidong at the Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, engineered P450_{BM3} into a highly regio- and enantioselective artificial epoxidase, EPO6. The evolved enzyme selectively epoxidizes the internal C6=C7 alkene of farnesol and enables decagram-scale preparation of the corresponding chiral epoxide. By integrating this biocatalytic transformation with chemical reactions, the authors

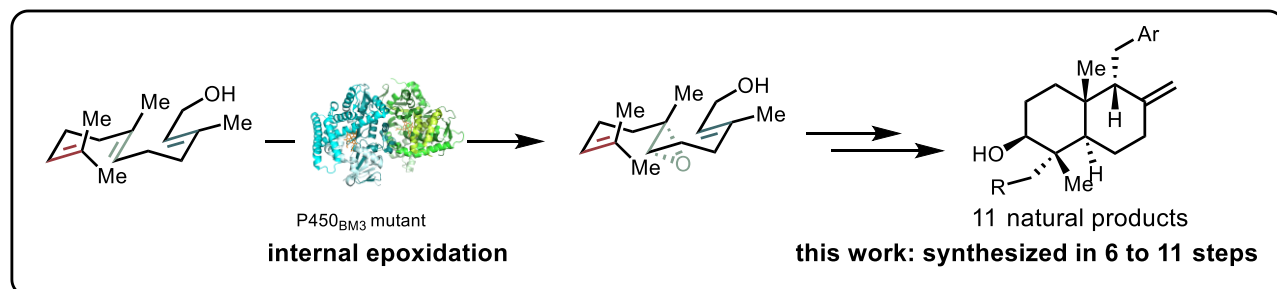
收稿日期: 2026-09-02 修回日期: 2026-10-23

基金项目: 国家重点研发计划 (2022YFA1505600); 国家自然科学基金 (22471223); 浙江省重点实验室建设项目 (2025ZY01063); 浙江省自然科学基金 (XHD24B0101); 化学-生物合成国家重点实验室开放项目 (sklscbs202502)

引用本文: 孙玉莉, 叶宇轩. 人工环氧酶重塑混源萜类天然产物合成路径[J]. 合成生物学, 2026, 7. DOI: 10.12211/2096-8280.2026-097

Citation: SUN Yuli, YE Yuxuan. Artificial Epoxidase Streamlines Meroterpenoid Synthesis [J]. Synthetic Biology Journal, 2026, 7. DOI: 10.12211/2096-8280.2026-097

substantially streamlined the synthesis of a number of terpenoid natural products. This work illustrates that engineered enzymes can provide transformations with selectivity profiles complementary to those of small-molecule catalysts, thereby creating unconventional retrosynthetic disconnections and expanding the design space for complex-molecule synthesis. This article discusses the development of the artificial epoxidase and its application in natural product synthesis, with particular emphasis on how enzyme-mediated molecular recognition can overcome site-selectivity limitations encountered in conventional chemical catalysis.



Keywords: Chemoenzymatic Synthesis; P450_{BM3}; Farnesol; Asymmetric Epoxidation

烯烃的不对称环氧化反应是有机合成中构建手性含氧片段的重要转化之一，能够将潜手性或前手性烯烃转化为光学活性的环氧化物，并可通过区域选择性和立体专一性的开环反应进一步转化为1,2-二醇、氨基醇、卤代醇等多类手性砌块。该反应在复杂天然产物和手性药物的合成中已展现出重要的应用价值^[1-3]。经过数十年的发展，化学家已开发出 Sharpless 不对称环氧化^[4]、Shi 不对称环氧化^[5] 和 Jacobsen-Katsuki 环氧化^[6] 等经典方法，分别适用于烯丙醇类底物、非官能化烯烃以及顺式共轭烯烃的不对称环氧化，为复杂分子的合成提供了强有力的工具。

其中，法尼醇（farnesol）是萜类天然产物全合成中最常用的起始原料之一，具有三个化学环境各异的烯烃单元（图1）。凭借 Sharpless 不对称环氧化等经典方法，化学家已能够实现对法尼醇的头端烯烃（C2=C3）与末端烯烃（C10=C11）的选择性不对称环氧化^[7-9]，相应手性中间体也被广泛应用于萜类天然产物的高效合成^[10-13]。然而，法尼醇内部双键（C6=C7）的不对称环氧化至今仍缺乏有效的解决方案，2012年，Miller 课题组首次报道了法尼醇内部烯烃选择性环氧化的化学催化剂，但区域选择性仅为 43%，对映体过量值为 10%

（75% ee）^[14]，同时，以法尼醇内部烯烃为关键官能团化位点的萜类天然产物，其合成不得不依赖繁琐的片段偶联策略来规避选择性难题，导致合成路线冗长、效率低下。因此，发展一种能够高效、高选择性地实现法尼醇内部双键不对称环氧化的方法，不仅是合成方法学上的重要挑战，也是推动混源萜类天然产物高效合成的迫切需求。

随着合成生物学的蓬勃发展，研究人员逐渐将目光转向生物催化策略^[15-17]，以化学-酶法协同的方式突破传统化学方法的局限性，为法尼醇内部双键的选择性环氧化提供了全新思路。2025年，上海交通大学李健教授团队与中国医学科学院药用植物研究所张卫东教授团队在 *Science* 杂志上发表了一篇突破性研究论文，题为“Artificial farnesol epoxidase enables a concise synthesis of meroterpenoids”^[18]。该研究首次将定向进化改造的 P450 酶应用于法尼醇（farnesol）内部双键（C6=C7）的不对称环氧化反应，实现了产物的十克级规模制备的同时仍能保持优异的区域选择性和对映选择性。在此基础上，该策略被成功应用于 11 种重要混源萜类天然产物的全合成，且合成步骤较既有路线缩短 35%-65%，展现出极具吸引力的应用前景。本文将对上述研究成果进行系统

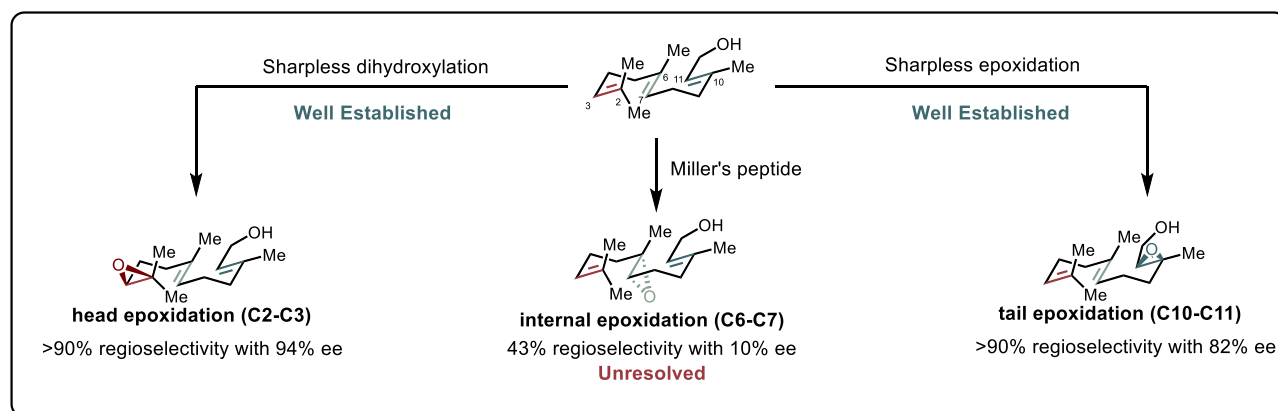


图1 法尼醇不对称环氧化

Fig. 1 Asymmetric epoxidation of farnesol

阐述，并结合本课题组相关研究进展提出若干思考，以期对化学-酶法合成技术的发展及其对逆合成分析逻辑的启示提供参考。

为发掘适用于长链底物环氧化反应的酶催化剂，该研究团队注意到 P450_{BM3}-CYP4C7 嵌合体具有催化长链底物羟基化与环氧化的潜力，遂以 P450_{BM3} 为切入点，对实验室现有酶库进行了系统筛选。结果显示，P450_{BM3} 的 F87A 突变体对法尼醇内部双键不对称环氧化过程表现出中等的区域选择性 (57%)，对映体过量值为 75% (75% ee) (图 2)。为进一步提升催化性能，作者基于 P450_{BM3} 的晶体结构，选择底物结合口袋附近的关键残基进行系统性的定点饱和突变与迭代轮选。首先，针对 L75、V78、M177、L181、I263 和

L437 等大体积疏水残基开展位点饱和突变，结果表明多数突变导致活性或选择性下降，但 M177C 突变体 (命名为 EPO2) 的选择性显著提升。随后，作者以 EPO2 为母体，对催化口袋内的小残基 A74、A82 和 A330 进行迭代饱和突变，获得了选择性进一步优化的 EPO5。鉴于 EPO5 催化口袋的构象相比原始酶已发生显著重塑，作者重新审视了此前被认定为“无效”的残基 L75、V78、L181、I263 和 L437，在 EPO5 骨架基础上进行新一轮突变，最终筛选出最优变体 EPO6。该突变体能够高效催化法尼醇内部双键的不对称环氧化反应，实现 93% 的区域选择性，对映体过量值为 94% (94% ee)。基于上述结果，该进化过程揭示了 P450_{BM3} 活性口袋中不同残基对区域选择性和对映

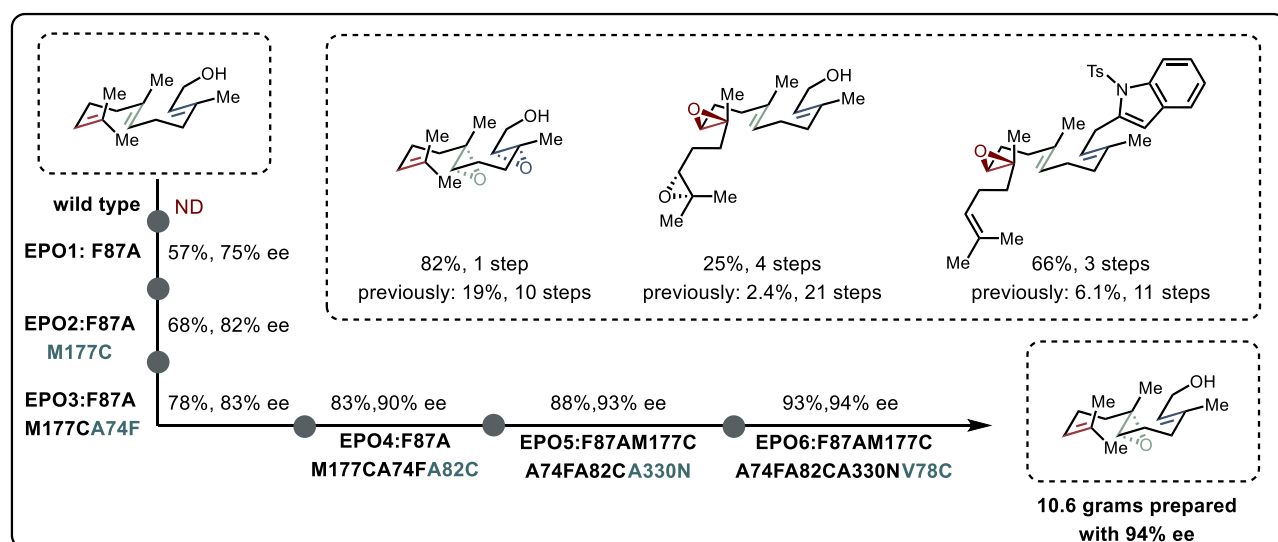


图2 环氧化酶的开发及环氧化物中间体的合成

Fig. 2 Development of the artificial epoxidase and streamlined synthesis of epoxide intermediates

选择性的差异化贡献。F87位点位于血红素近端，其突变（F87A）可改变底物在口袋中的取向，使法尼醇内部双键更易接近活性氧物种，从而初步赋予内部环氧化偏好，但单独F87A突变的选择性有限。M177位于底物通道附近，M177C突变通过减小侧链体积、改变局部疏水环境，可能缓解了内部双键周围的空间位阻，使底物以更有利于C6-C7环氧化的构象结合，从而提升化学选择性。A74、A82和A330等小残基位于催化口袋内部，对其进行迭代饱和突变可精细调节口袋形状和体积，逐步优化底物结合姿态，使反应中心更精准地对准内部双键。值得注意的是，L75、V78、L181、I263和L437等大体积疏水残基在初始骨架中突变通常不利，但在EPO5已优化的口袋环境中重新突变V78却能进一步增益，说明该残基的作用具有显著的上位效应，即其功能取决于口袋的整体构象背景。总体而言，EPO6的高选择性并非单一关键残基决定，而是通过多轮迭代突变对活性口袋形状、体积和疏水/极性平衡进行协同重塑的结果，体现了定向进化中“累积有益突变、逐步优化构象互补”的典型规律。值得注意的是，该反应体系可在十克级规模上稳定制备6,7-环氧法尼醇，这得益于其采用的亚磷酸盐/亚磷酸脱氢酶偶联再生策略。在该体系中， $\text{Na}_2\text{HPO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ （亚磷酸钠）作为牺牲底物，经PTDH催化将 NADP^+ 还原为NADPH，实现辅酶的原位再生。该设计避免了NADPH的化学计量消耗，显著降低辅酶成本，是P450_{BM3}催化体系实现十克级制备的关键工艺保障。上述结果充分表明，定向进化策略能够有效重塑酶对底物的精确识别能力，显著拓展了酶催化在复杂分子合成中的应用潜力。获得高光学纯度的6,7-环氧法尼醇后，作者进一步将其作为关键手性砌块，重新设计多个已报道天然产物关键中间体的合成路线。与此前路线相比，三个代表性关键化合物的合成分别由10步、21步和11步缩短至1步、4步和3步。

值得注意的是，后续的化学转化中TMS促进的级联环化策略是解决大位阻侧链环化能垒问题的核心手段（图3）。作者在底物尾部引入烯丙基TMS基团，利用TMS基团在环化终止步骤中的双重作用：一方面，TMS作为 β -硅基碳正离子的稳

定基团，可显著降低终止步骤的过渡态能垒，促进大位阻侧链参与环化；另一方面，TMS基团可通过后续脱硅或转化为其他官能团，为天然产物合成提供多样化的修饰。实验表明，在 EtAlCl_2 催化下，含TMS底物的环化效率达到65%，而不含TMS的底物在相同条件下不到15%，总环化效率提升约四倍。由此，在该合成策略中，酶促环氧化、中间体转化与关键串联环化三个环节相互衔接、功能互补。首先，EPO6催化的法尼醇内部双键环氧化在路线早期即引入手性中心，以高区域选择性和对映选择性提供关键手性环氧中间体，为后续骨架构建奠定立体化学基础。其次，该环氧中间体经同系化与Suzuki偶联等化学转化，快速装配为具有不同侧链结构的多烯环化前体，实现了从简单线性萜类向复杂多环骨架的过渡。最后，TMS促进的 EtAlCl_2 催化级联环化作为骨架构建的核心步骤，有效克服了大位阻侧链的环化能垒，将多烯前体高效转化为反式十氢萜骨架，并同时控制C9位构型。三者协同，酶催化在早期精准引入手性、化学催化在后期高效构建骨架与调整官能团，共同实现了复杂混源萜类天然产物的短步骤、高选择性合成。该策略首次实现了Emindole DA的选择性全合成，突破了传统方法仅能得到Emindole SA产物的局限。为进一步验证该化学-酶法策略的普适性，作者将其拓展至吡喃酮类混源萜天然产物的合成。以9步完成了Subglutinol B的全合成，较文献报道的14-25步大幅缩减。借助类似策略共完成了11种天然产物的合成，合成路线均大幅缩短。这一结果表明，工程化P450环氧酶能够从源头上重新定义混源萜类分子的逆合成切断，极大地拓展了化学-酶法合成在混源萜类天然产物全合成中的应用空间。

综上所述，该研究实现了一类新型P450环氧酶开发，突破了化学方法在惰性烯烃选择性环氧化方面的底物限制。在此基础上，作者将酶促环氧化与羰基烯化、Suzuki偶联及TMS促进的级联环化等化学转化有机结合，以显著缩短的路线完成了包括Emindole SA/DA和Subglutinol B在内的多种混源萜类天然产物的合成，为化学-酶法协同的复杂分子高效合成提供了新的研究范式。尽管前景广阔，化学-酶法合成要进一步发挥其在复杂

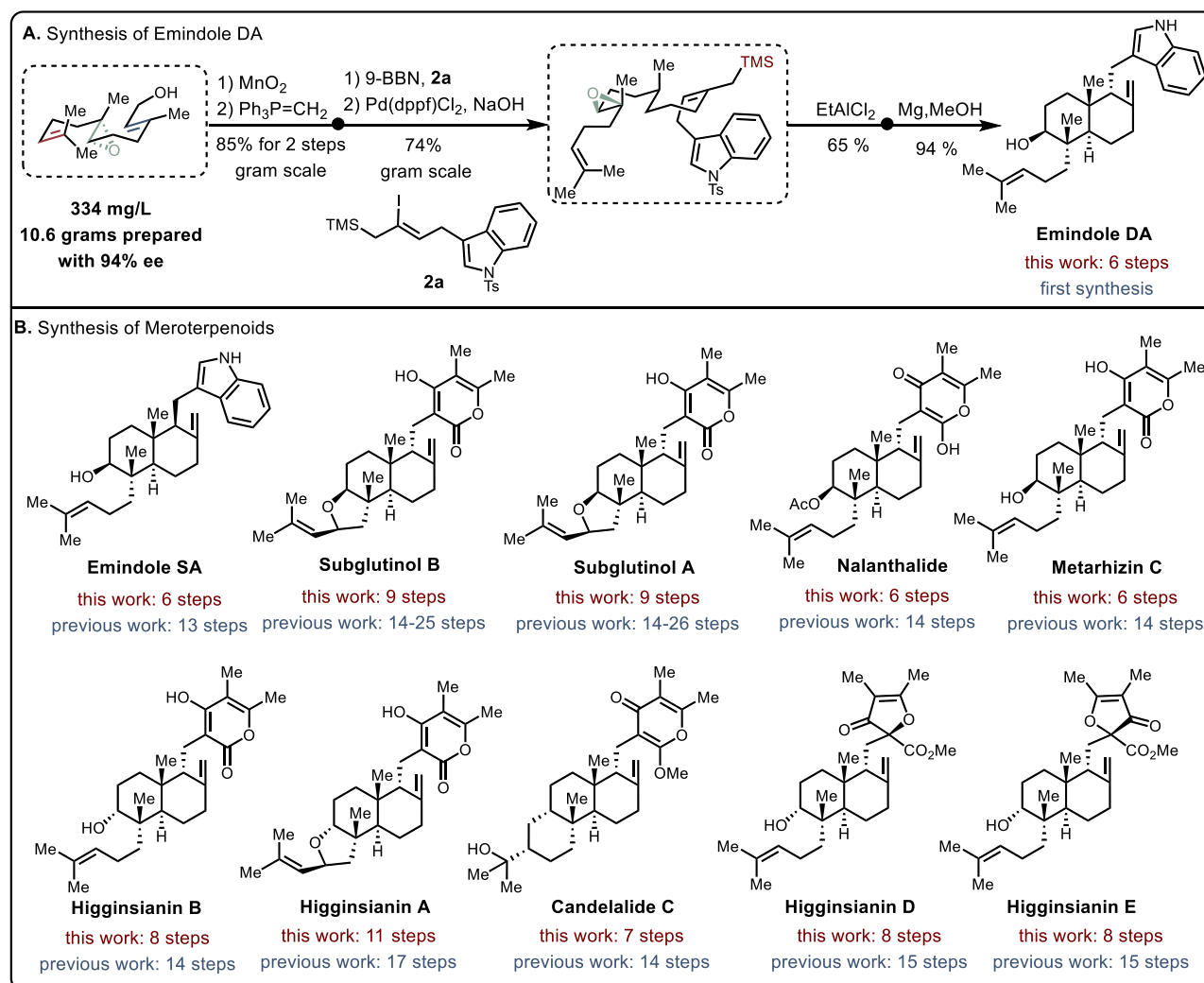


图3 混源萜类化合物的简化合成

Fig. 3 Streamlined synthesis of meroterpenoids.

分子构建中的潜力，仍面临若干关键挑战。当前许多化学-酶法研究仍以“反应替代”为主要思路，即在既有化学合成路线中寻找能够替代某一化学步骤的酶催化剂，以更加温和、高效或高选择性的方式完成相同或相近的转化^[19]。经典案例是 Hughes 团队通过定向进化获得高性能转氨酶，以生物催化不对称胺化替代传统铑催化不对称氢化，实现西格列汀手性胺中间体的工业化生产^[20]。这一策略充分体现了生物催化在效率、选择性和可持续性方面的优势，但其逆合成逻辑总体上仍建立在已有化学反应和合成路线基础之上。更进一步的策略，则是利用酶独特的反应性和分子识别能力，实现经典化学方法难以完成的转化，从而直接获得传统路线难以高效制备的关键合成中

间体，并由此重新设计后续合成路线。本文所评述的工作正体现了这一理念：P450 人工环氧酶实现了传统化学催化难以完成的法尼醇内部双键选择性不对称环氧化，使多个复杂天然产物的关键中间体能够从简单原料直接获得，从源头上大幅缩短了后续合成路线。类似地，本课题组与胡鹏飞团队合作完成的河豚毒素化学-酶法合成^[21]，也利用酶催化获得传统化学方法难以高效制备的关键手性中间体，进而实现整体合成路线的显著简化。这些工作表明，复杂分子合成将进一步走向化学-酶法协同逆合成。

因此，未来化学-酶法合成更具潜力的发展方向，是在逆合成分析阶段即战略性地引入酶催化反应，将酶催化与经典化学反应共同纳入合成路

线设计,充分利用二者在反应性和选择性上的互补性,从而探索传统化学逆合成分析难以触及的合成路径。Renata课题组在氧化型混源萜合成中的工作为此提供了代表性范例^[22],他们将化学酶法与自由基方法相结合,并未在传统仿生环化路线中寻找酶替代步骤,而是在设计之初即将P450催化的C3选择性羟化识别为发散合成的关键分支点,从这一酶促中间体出发,通过后续化学转化完成了多个目标分子,充分体现了酶催化引入到逆合成分析后对合成效率的实质性提升。目前,这一方向目前仍面临两个关键瓶颈。其一,即使目标反应已有相应的天然酶或工程酶,实现对具体底物合成的高效、高选择性催化通常仍需要经历酶筛选和多轮定向进化。传统定向进化高度依赖大规模实验筛选,开发周期长、工作量大等局限,人工智能的发展为突破这一瓶颈提供了新的可能。例如,赵惠民团队开发的EZSpecificity^[23]通过构建大规模酶-底物三维复合体数据库,实现了对酶-底物特异性的高准确率预测,表明人工智能有望提高酶-底物匹配与有利突变预测的效率,从而加速定向进化进程,使研究者能够针对具体底物合成更快获得具有活性与选择性的催化剂。其二,与现代有机化学丰富的反应工具箱相比,酶催化能够覆盖的反应类型仍然有限,许多具有重要合成价值的化学转化尚缺乏相应的生物催化体系。拓展酶催化反应空间,一方面需要进一步挖掘天然酶的潜在反应性,通过酶功能重塑赋予天然酶新的催化功能。例如,本课题组通过挖掘烯还原酶的潜在催化能力,将其由天然还原酶重塑为去饱和化酶,实现饱和羰基化合物的选择性脱氢,为酶催化反应空间的拓展提供了新的路径^[24-25]。另一方面则需要借助人工智能辅助的从头酶设计,围绕目标反应的过渡态几何创建自然界中全新蛋白质骨架与活性位点,从源头上突破天然酶反应类型的限制^[26]。近年来基于RFdiffusion等生成式模型的从头设计工作^[27],已能够在少量设计变体中鉴定出具有全新活性的酶,展示了这一路线在创制非天然催化功能方面的潜力。

未来,随着酶功能重塑、AI辅助从头设计与定向进化的协同发展,酶催化的反应空间有望同步扩展,使研究者能够围绕特定逆合成切断快速

获得所需的酶催化剂。届时,生物催化将不再局限于优化某一步反应的辅助工具,而有望成为与经典有机反应并列的逆合成工具箱,为复杂分子的路线设计提供新的反应逻辑和更广阔的合成空间。

参 考 文 献

- [1] XIA Q H, GE H Q, YE C P, et al. Advances in homogeneous and heterogeneous catalytic asymmetric epoxidation[J]. Chemical Reviews, 2005, 105(5): 1603-1662.
- [2] 曾涛, 张曙盛, 付建国, 等. 防风中亥茅酚及亥茅酚苷的不对称合成[J]. 有机化学, 2024, 44(9): 2862-2868.
ZENG T, ZHANG S S, FU J G, et al. Asymmetric Synthesis of Hamaudol and sec-O-Glucosylhamaudol in *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk[J]. Chin. J. Org. Chem. 2024, 44(9): 2862-2868.
- [3] ABE H, FUJIMAKI M, NAKAGAWA E, et al. Enantioselective total synthesis of sagittacin E and related natural products[J]. Chemical Communications, 2018, 54(49): 6165-6168.
- [4] KATSUKI T, SHARPLESS K B. The first practical method for asymmetric epoxidation[J]. Journal of the American Chemical Society, 1980, 102(18): 5974-5976.
- [5] TU Y, WANG Z X, SHI Y. An efficient asymmetric epoxidation method for trans-olefins mediated by a fructose-derived chiral ketone[J]. Journal of the American Chemical Society, 1996, 118(40): 9806-9807.
- [6] ZHANG W, LOEBACH J L, WILSON S R, et al. Enantioselective epoxidation of unfunctionalized olefins catalyzed by (salen)manganese complexes[J]. Journal of the American Chemical Society, 1990, 112(7): 2801-2803.
- [7] SNYDER S A, COREY E J. Concise total syntheses of palominol, dolabellatrienone, β -araneosene, and isoedunol via an enantioselective Diels-Alder macrobicyclization[J]. Journal of the American Chemical Society, 2006, 128(3): 740-742.
- [8] SURENDRA K, COREY E J. A short enantioselective total synthesis of the fundamental pentacyclic triterpene lupeol[J]. Journal of the American Chemical Society, 2009, 131(39): 13928-13929.
- [9] BARRETT A G M, MA T K, MIES T. Recent developments in polyene cyclizations and their applications in natural product synthesis[J]. Synthesis, 2019, 51(1): 67-82.
- [10] COREY E J, HA D C. Total synthesis of venustatriol[J]. Tetrahedron Letters, 1988, 29(26): 3171-3174.
- [11] CARRERAS J, LIVENDAHL M, MCGONIGAL P R, et al. Gold (I) as an artificial cyclase: short stereodivergent syntheses of (-)-epiglobulol and (-)-4 β ,7 α - and (-)-4 α ,7 α -aromadendranoids

- [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2014, 53(19): 4896-4899.
- [12] FOO K, USUI I, GOTZ D C G, et al. Scalable, enantioselective synthesis of germacrenes and related sesquiterpenes inspired by terpene cyclase phase logic[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2012, 51(46): 11491-11495.
- [13] VILOTIJEVIC I, JAMISON T F. Epoxide-opening cascades in the synthesis of polycyclic polyether natural products[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2009, 48(29): 5250-5281.
- [14] LICHTOR P A, MILLER S J. Combinatorial evolution of site- and enantioselective catalysts for polyene epoxidation[J]. *Nature Chemistry*, 2012, 4(12): 990-995.
- [15] ZWICK C R III, RENATA H. Harnessing the biocatalytic potential of iron- and α -ketoglutarate-dependent dioxygenases in natural product total synthesis[J]. *Natural Product Reports*, 2020, 37(8): 1065-1079.
- [16] LI J, AMATUNI A, RENATA H. Recent advances in the chemoenzymatic synthesis of bioactive natural products[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2020, 55: 111-118.
- [17] HONG B K, LUO T P, LEI X G. Late-stage diversification of natural products[J]. *ACS Central Science*, 2020, 6(5): 622-635.
- [18] WANG J X, YIN Y P, ZHANG Q, et al. Artificial farnesol epoxidase enables a concise synthesis of meroterpenoids[J]. *Science*, 2025, 389(6716): 732-735.
- [19] 张发光, 曲戈, 孙周通, 等. 从化学合成到生物合成—天然产物全合成新趋势[J]. *合成生物学*, 2021, 2(5): 674-696.
- ZHANG F G, QU G, SUN Z T, et al. From chemical synthesis to biosynthesis: trends toward total synthesis of natural products[J]. *Synthetic Biology Journal*, 2021, 2(5): 674-696.
- [20] SAVILE C K, JANEY J M, MUNDORFF E C, et al. Biocatalytic asymmetric synthesis of chiral amines from ketones applied to sitagliptin manufacture[J]. *Science*, 2010, 329(5989): 305-309.
- [21] PENG C, WU W L, YE Y X, et al. 16-step scalable chemoenzymatic synthesis of tetrodotoxin[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2026, 148(5): 4873-4879.
- [22] LI J, LI F Z, KING-SMITH E, et al. Merging chemoenzymatic and radical-based retrosynthetic logic for rapid and modular synthesis of oxidized meroterpenoids[J]. *Nature Chemistry*, 2020, 12(2): 173-179.
- [23] CUI H Y, SU Y F, DEAN T J, et al. Enzyme specificity prediction using cross-attention graph neural networks[J]. *Nature*, 2025, 647(8090): 639-647.
- [24] WANG H, GAO B, CHENG H L, et al. Unmasking the reverse catalytic activity of 'ene'-reductases for asymmetric carbonyl desaturation[J]. *Nature Chemistry*, 2024, 17(1): 74-82.
- [25] CAO S X, ZHU Y Y, LEI J C, et al. Biocatalytic site- and stereoselective carbonyl desaturation for late-stage functionalization of cyclic ketones[J]. *Nature Chemistry*, 2026, 18(4): 731-740.
- [26] YANG W, WANG S Z, LEE G R, et al. The past, present and future of de novo protein design[J]. *Nature*, 2026, 652(8112): 1139-1152.
- [27] KIM D, WOODBURY S M, AHERN W, et al. Computational design of metallohydrolases[J]. *Nature*, 2026, 649(8095): 246-253.



通讯作者: 叶宇轩(1991—), 男, 特聘研究员, 博士, 博士生导师。研究方向为新酶创制与应用。

E-mail: yeyuxuan@westlake.edu.cn



第一作者: 孙玉莉(1994—), 女, 助理研究员, 博士, 研究方向为新酶创制与应用。

E-mail: sunyuli@westlake.edu.cn

作者贡献声明:

孙玉莉: 文献调研与整理, 绘制图谱
叶宇轩, 孙玉莉: 起草论文、论文修订、论文最终版本修订
所有作者均已阅读并同意文章的已发布版本。

利益冲突:

没有利益冲突。