

## 酶定向进化实现有机硅化合物转化

陈烨荣, 杨冰彬, 何星磊, 林雨琦\*, 叶克印\*

福州大学化学学院, 福州 350108

**摘要:** 有机硅化合物由于其特殊的物理化学性质, 在诸如电子、材料及医药等多个领域得到了广泛应用。然而, 由于生物系统在自然条件下通常难以合成与转化大多数有机硅化合物, 传统上这些化合物的合成与转化主要依赖于化学方法。2018年诺贝尔化学奖得主Frances H. Arnold教授及其课题组通过酶定向进化, 成功实现了对这些非天然合物的生物催化转化。本文详细回顾了该课题组在有机硅化合物的合成与转化方面的研究进展, 梳理其反应机制与相关应用, 旨在增进对该领域的理解, 并推动生物催化的进一步研究。

**关键词:** 有机硅化合物; 酶; 定向进化; 生物催化

**中图分类号:** G64; O6

## Enzyme-Directed Evolution Enables Bioconversion of Organosilicon Compounds

Yerong Chen, Bingbin Yang, Xinglei He, Yuqi Lin\*, Keyin Ye\*

College of Chemistry, Fuzhou University, Fuzhou 350108, China.

**Abstract:** Owing to their unique physicochemical properties, organosilicon compounds have found widespread applications in various fields such as electronics, materials science, and pharmaceuticals. However, biological systems typically cannot synthesize or convert most organosilicon compounds under natural conditions, making chemical methods the conventional approach for their synthesis and transformation. In a landmark achievement, Professor Frances H. Arnold, recipient of the 2018 Nobel Prize in Chemistry, and her research team successfully achieved biocatalytic conversion of these non-natural compounds through enzyme-directed evolution. This review systematically examines the team's research progress in organosilicon compound synthesis and transformation, analyzes the underlying reaction mechanisms, and discusses relevant applications. Our aim is to enhance understanding in this field and facilitate further research in biocatalysis.

**Key Words:** Organosilicon compounds; Enzyme; Directed evolution; Biocatalysis

### 1 前言

硅(Si)是自然界中一种储量丰富的类金属元素, 它是地壳中含量(28%)仅次于氧的第二大元素。在元素周期表中, 硅位于第三周期IV A族, 具有介于非金属和金属之间的特性。键能、键长数据(表1)表明: 硅和氧之间的结合力很强, 能够形成稳定的结构, 这也是硅氧聚合物在材料科学应用中广受欢迎的重要原因。

收稿: 2024-11-19; 录用: 2025-02-11; 网络发表: 2025-04-22

\*通讯作者, Emails: kyye@fzu.edu.cn (叶克印); Linyuqi@fzu.edu.cn (林雨琦)

基金资助: 教育部 2022 年度基础学科拔尖计划 2.0 研究课题(20222114); 福州大学研究生院本博贯通培养教改项目(0480/00489075)

表1 硅化合物的平均键能及平均键长

条目	化学键	平均键能/(kJ·mol <sup>-1</sup> )	平均键长/Å *
1	C—C 键	346	1.54
2	C—Si 键	318	1.85
3	C—O 键	358	1.43
4	Si—O 键	452	1.63
5	C—H 键	411	1.09
6	Si—H 键	318	1.48

\* 1 Å = 0.1 nm

有机硅化合物分子结构中的硅元素使这类化合物表现出许多与传统碳基有机化合物不同的物理化学性质，因此被广泛应用于众多领域(图1)<sup>[1]</sup>。例如，在药物研发领域，药物分子**1**作为四氢异喹啉的硅类似物，被应用于药理活性、药物毒性、抗缺氧能力等方面的研究中<sup>[2]</sup>；药物分子**2**是一种血管紧张素转化酶抑制剂<sup>[3]</sup>，它通过与酶蛋白分子结合，有效抑制酶活性，发挥降血压、减少心律失常的作用，进而改善血管内皮功能和心功能。在材料科学领域，以线性硅油**3**、环状硅油**4**为代表的硅氧烷类化合物因其优异的理化性质<sup>[4]</sup>，在建材生产、日用品制造、化工轻工等多个领域均得到了广泛的应用。

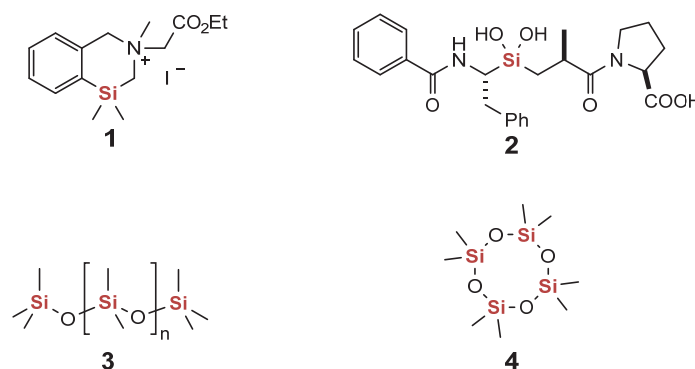


图1 含硅化合物相关的分子

在有机硅化合物的相关合成与转化研究中，对于可持续性方法的探索相对较少。传统方法主要依赖于过渡金属催化剂，如铜、铑、铱等，这些金属需要与特殊的手性配体配合以促进反应进行；或是通过氯硅烷的转化以及强氧化剂(如过氧化氢)进行氢硅键的氧化。然而，这些方法往往伴随着诸多副反应，产生大量废弃物，进而对环境造成负担。生物催化具有反应专一性高、条件温和、绿色环保等优势<sup>[5,6]</sup>。因此，人们设想能否借助生物催化实现有机硅化合物的转化。1970年，R. J. Fessenden和Ray A. Hartman研究了苯基三甲基硅烷和苯基二甲基硅烷在小鼠体内的代谢情况(图2)<sup>[7]</sup>，该工作虽然成功实现了有机硅化合物的部分转化，但遗憾的是，其存在底物转化单一、反应不可调控、产物纯度不可控等缺点。2009年，M. B. Frampton和P. M. Zelisko在研究中发现，自然界中已知的生命体几乎不具备在自然条件下形成Si—C键的能力<sup>[8]</sup>。由此可见，采用生物催化的方式实现非天然有机硅化合物的转化面临着极大的困难与挑战。

2016年，美国加州理工大学的Frances H. Arnold课题组对一系列细胞色素P450 (CYP450)及其他血红素蛋白进行定向进化，成功实现了酶催化Si—H键向Si—C键的转化。在后续工作中，该课题组通过酶的定向进化获得多种能高效催化有机硅化合物转化的酶。2018年，Arnold教授因其在定向进

化和生物催化领域作出的杰出贡献<sup>[9]</sup>, 荣获该年度的诺贝尔化学奖。本文主要基于Arnold课题组的相关研究, 对酶定向进化催化有机硅化合物转化的研究进行总结。

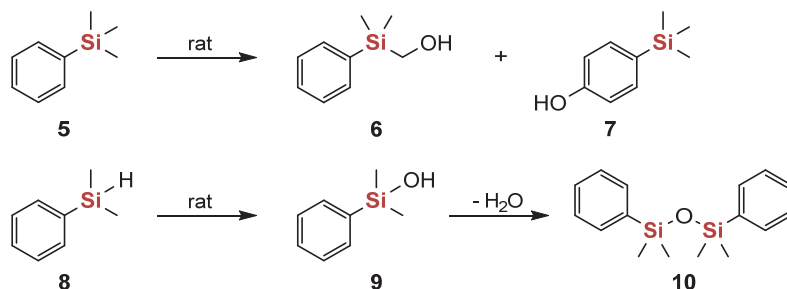


图2 PhSiMe<sub>3</sub>、PhSiH(Me)<sub>2</sub>在小鼠体内的代谢途径

## 2 酶定向进化催化有机硅化合物转化

### 2.1 酶定向进化简介

酶的定向进化受到自然界中除草剂阿特拉津降解现象的启发<sup>[10]</sup>。最初使用阿特拉津时, 这种物质几乎无法被自然界降解。然而, 数十年之后, 科学家发现该除草剂能被含有阿特拉津土壤中的微生物迅速降解。进一步研究表明, 生物体内原有的三聚氰胺脱氨酶(TriA)发生“进化”, 转变为具有催化阿特拉津降解功能的阿特拉津氯水解酶(AtzA)。总而言之, 酶的定向进化是一种模拟自然选择的过程, 通过对酶的基因库进行大量的突变和筛选, 以获得具有更高催化效率和选择性的酶。这一技术的应用使得研究者能够针对特定化合物设计酶的催化途径, 从而显著提升转化效率。

Arnold课题组所研究设计的酶的定向进化策略, 是在特定机制诱导和外部条件引导下, 促使作为“进化起点”的酶发生突变, 进而通过筛选流程获得具有预期功能的“进化后”的酶。诱导突变的过程通常遵循以下步骤: 首先, 进行数轮随机突变, 常见的突变方法包括易错聚合酶链反应(error-prone PCR, epPCR)、交错延伸过程(staggered extension process, StEP)重组以及定点饱和突变(site-saturation mutagenesis, SSM)等; 其次, 开展高效筛选, 可采用高效液相色谱-质谱(LC-MS)和气相色谱-火焰离子化检测器(GC-FID)等检测方式, 筛选出在全细胞反应中活性得到改善的酶变体。此外, 也可运用手性超临界流体色谱法(SFC)拆分对映体, 从而对高立体选择性的酶变体进行鉴定和表征<sup>[11]</sup>。

通过这种定向进化的方法, Arnold课题组在2014–2015年发表的多篇研究论文中<sup>[12]</sup>, 对一系列CYP450及其他血红素蛋白进行定向进化, 成功获得分别对C–H键<sup>[13]</sup>、N–H键<sup>[14]</sup>、S–H键<sup>[15]</sup>转化具有高催化活性的酶。基于这些研究成果, 该课题组设想是否能够同样利用定向进化, 获得能够催化有机硅化合物转化的酶变体。

### 2.2 有机硅化合物的转化

#### 2.2.1 Si–H键转化为Si–C键

2016年, Arnold课题组发表在*Science*上的一篇文章中<sup>[16]</sup>, 研究了游离血红素和不同来源的血红素蛋白催化Si–C键形成的能力。他们使用苯基二甲基硅烷**8**和2-重氮丙酸乙酯**11**作为模型底物, 以游离血红素为对照, 对一系列的CYP450、肌红蛋白、细胞色素C进行筛选, 其中一种来自嗜热盐细菌*Rhodothermus marinus*的细胞色素C (*Rma cyt c*)能够有效催化Si–H键的卡宾插入反应, 形成新的Si–C键, 具有极佳的立体选择性(97% ee), 但总转化数(Total Turnover Number, TTN)较低, 因此研究人员将其选定为了定向进化的亲本酶。通过对*Rma cyt c*的蛋白质晶体结构进行分析, 研究人员发现酶活性中心的血红素铁分别与近端的组氨酸(H49)和远端的甲硫氨酸(M100)进行轴向配位, 他们推测M100的替换有助于为酶催化反应中铁-卡宾的形成提供足够的空间, 从而提升酶的催化性能。同时, 他们还发现缬氨酸(V75)和甲硫氨酸(M103)在酶活性位点中靠近血红素铁中心(7 Å以内)。因此,

研究团队对M100、V75和M103位点分别进行饱和突变，并将各突变体与野生型酶的活性进行比对。实验结果表明，当分别将75位的缬氨酸替换为苏氨酸(V75T)、100位的甲硫氨酸替换为天冬氨酸(M100D)、103位的甲硫氨酸替换为谷氨酸(M103E)时，TTN值均得到大幅度的提升，而当三个位点同时被替换(V75T M100D M103E)时，可以将TTN值提高到1500以上，并且ee值也进一步提高到> 99%。进一步对反应条件进行优化后，这种具有增强催化活性的酶变体(*Rma cyt c* V75T M100D M103E)可以以> 99% ee值以及2520 TTN催化Si—C键的形成(图3)。

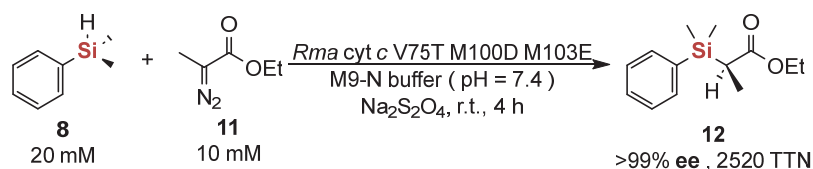


图3 *Rma cyt c*酶变体在优化条件下催化Si—C键的形成

2021年，该课题组通过计算机模拟和理论计算进一步研究了反应机理<sup>[17]</sup>。他们利用咪唑-铁卟啉截断模型进行了密度泛函理论(DFT)计算和量子力学/分子力学(QM/MM)计算，探究了反应的两个部分(图4a)：(1) 铁-卡宾的形成；(2) 卡宾对Si—H键的插入。这两个部分可以简单描述为：在(1)过程中，重氮底物**11**首先与酶结合，随后与酶活性中心血红素卟啉环上的 $\text{Fe}^{\text{II}}$ 反应，通过脱去一分子 $\text{N}_2$ ，形成活性铁卟啉卡宾结构(iron porphyrin carbene, IPC)；在(2)过程中，有机硅化合物底物**8**被酶捕获，卡宾碳与Si和H发生作用，形成一个能量较高的三元环中间体**TS1**，促使Si—H键断裂，以及Si—C键和C—H键的形成，完成卡宾对Si—H键的插入。最终，目标硅化合物**12**从铁卟啉上离去，而血红素卟啉环上的铁被还原为 $\text{Fe}^{\text{II}}$ ，从而完成催化循环。在文章中，作者深入考虑了反应路径上可能的三种电子态：三重态(triplet, T)、闭壳单重态(closed-shell singlet, CSS)以及开壳单重态(open-shell singlet, OSS)。在(1)过程中，三种电子态的反应路径相似，其中闭壳单电子态反应过渡态的中间体能量较低，而三重态和开壳单重态的中间体能量相对较高。在(2)过程中(图4b)，闭壳单重态中间体**TS1**能量最低，表明高能三元环中间体倾向于通过协同机制进行卡宾对Si—H键的插入，但该过程呈现高度异步性，包括从硅烷到卡宾的部分氢化物转移，然后形成Si—C键；而三重态和开壳单重态则倾向于通过自由基两步机制进行卡宾对Si—H键的插入，首先卡宾攫取氢原子形成双自由基中间体**INT1**，而后三重态的途径会经历一个新的能量较高的过渡态**TS2**以形成产物**12**，而开壳单重态则是直接由双自由基中间体生成产物**12**。

在定向进化实现Si—H键转化为Si—C键的相关研究中，Arnold课题组的工作价值不仅体现在首次通过定向进化的方式获得具有高催化活性和高立体选择性的酶变体，更在于这一成果标志着定向进化技术适用的目标中心原子范围得到了成功拓展。通过该生物催化转化合成的有机硅化合物，可被广泛应用于聚合物或半导体领域。此外，Arnold课题组通过理论计算和模拟深入研究了酶催化Si—H键转化为Si—C键的机制，进一步完善了对这类反应本质的认知，为后续其他类型的有机硅化合物转化提供了宝贵的思路。

### 2.2.2 Si—H键转化为Si—O键

2020年，Arnold课题组受自然界中细胞色素P450<sub>BM3</sub>在还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)和有氧条件下能催化烷烃发生羟基化反应的启发，通过定向进化实现了生物催化Si—H键向Si—O键的转化<sup>[18]</sup>。该课题组选用来自土壤中巨芽孢杆菌*Bacillus megaterium*的细胞色素P450<sub>BM3</sub>来研究Si—H键氧化活性。经测试发现，野生型P450<sub>BM3</sub>能够催化二甲基苯基硅烷**8**转化为硅醇产物**9**，但收率仅为2.1%，转化数(TTN)为210。于是，研究团队将野生型P450<sub>BM3</sub>作为进化亲本酶，总共进行了三次诱变。第一次诱变是对靠近活性中心血红素辅因子的氨基酸残基F78使用NNK简并密码子进

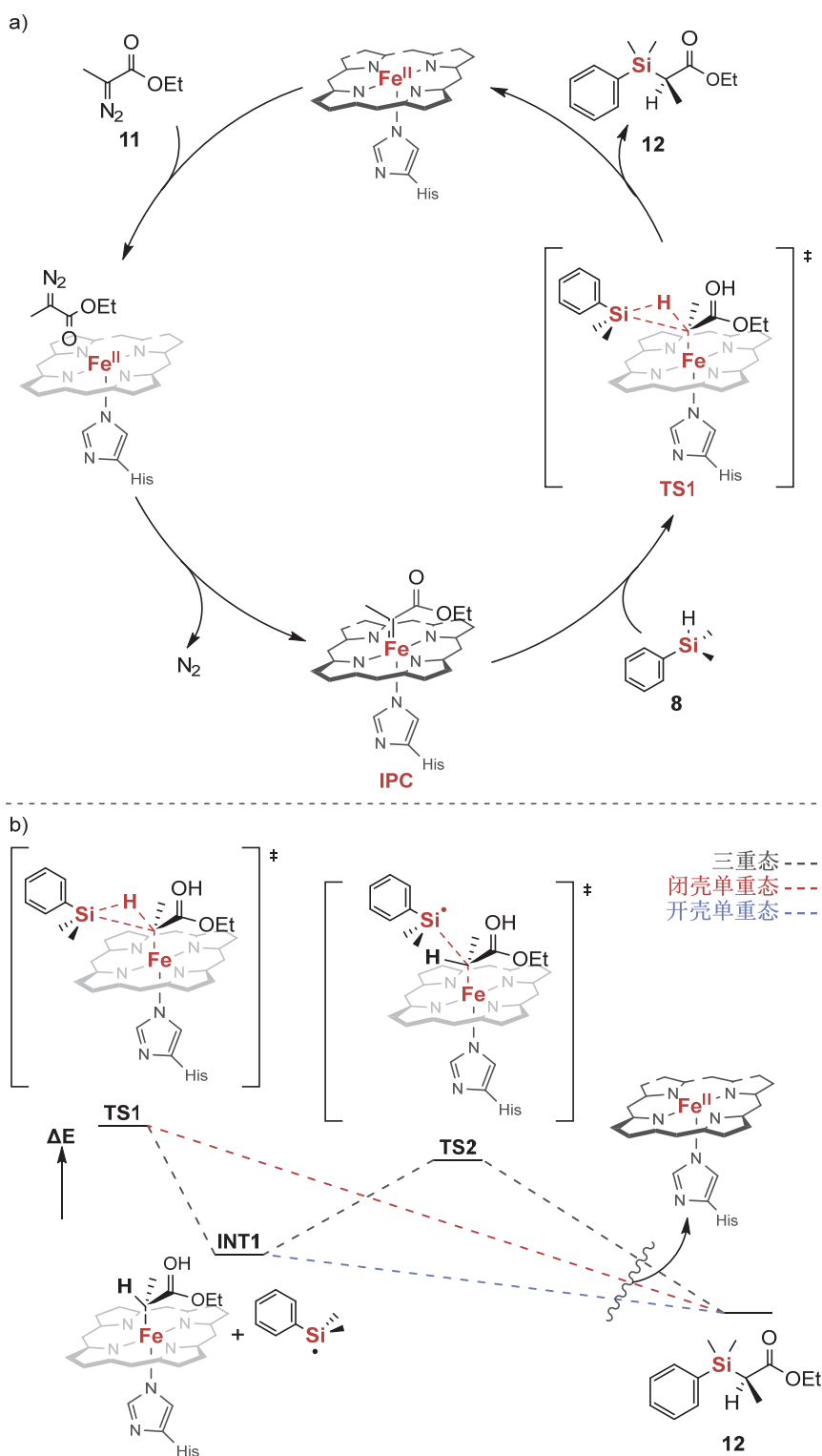


图4 a) *Rma cyt c*催化苯基二甲基硅烷和2-重氮丙酸乙酯反应的简化机理  
b) 卡宾插入Si-H键不同电子态模型下能级和反应过程

行定点饱和突变，得到了F78G突变的初代酶变体P450<sub>SiOx1</sub>，相较于野生型，其反应收率(3.1%±0.1%)和TTN值(310±10)均提高了1.5倍。第二次诱变是在P450<sub>SiOx1</sub>的基础上，对在远端血红素口袋中靠近

铁辅因子的两个氨基酸残基T327和A328,采用“22密码子策略”进行双位点饱和突变,在筛选过程中发现,只有A328L这一种突变体是正向有益的,获得二代酶变体P450<sub>SiOx2</sub>(F78G, A328L)可将反应收率提高至8.5%±1.3%,TTN值提高至850±130。第三次诱变是对P450<sub>SiOx2</sub>上的两个氨基酸残基L181和A184,同样采用“22密码子策略”进行双位点饱和突变,得到的三代酶变体P450<sub>SiOx3</sub>(F78G, A328L, L181D, A184H)进一步提高了反应收率(12%±2.4%)和TTN值(1200±240)。在后续优化的反应条件下(图5),P450<sub>SiOx3</sub>变体能以大于99%的收率和550 TTN值催化二甲基苯基硅烷**8**转化为硅醇产物**9**。在较低的酶蛋白负载(0.1 μmol·L<sup>-1</sup>)条件下反应48 h, TTN值甚至可以达到19100。

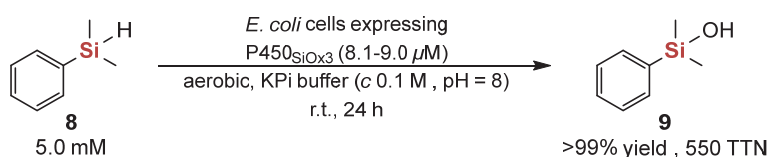


图5 P450<sub>SiOx3</sub>在优化条件下催化硅烷合成硅醇

此外,Arnold课题组利用以铁卟啉吡咯为核心、甲硫醇为轴向配体的截断结构模型,通过DFT计算推断出可能的反应机理(图6a)。该机理可分为以下几个步骤:1)卟啉环上的Fe<sup>III</sup>被NADPH还原后与O<sub>2</sub>作用,形成Fe<sup>IV</sup>=O中间体;2)Fe<sup>IV</sup>=O中间体与硅烷底物**8**的Si-H键上的H发生作用,随后Si-H键发生断裂,氢原子从硅烷底物转移到Fe<sup>IV</sup>=O中间体,形成硅基自由基和与Fe<sup>IV</sup>-OH结构;3)Fe<sup>IV</sup>-OH中的一OH与硅基自由基结合,生成目标产物硅醇**9**,同时Fe<sup>IV</sup>被还原为Fe<sup>III</sup>,参与下一轮催化循环。此外,研究人员也曾考虑过步骤3)中硅正离子途径的可能性(图6b),该过程中硅自由基通过将电子转移至卟啉-Fe<sup>IV</sup>-OH,形成硅正离子和Fe<sup>III</sup>-OH结构,而后Fe<sup>III</sup>-OH上的羟基从Fe<sup>III</sup>上脱离进攻硅正离子,生成硅醇产物。然而,理论计算表明这种硅正离子途径实际上是热力学不利的。

在过渡金属催化中,可以通过硅醇分子间脱水缩合得到对应二硅氧烷产物<sup>[19,20]</sup>。因此,Arnold课题组设想,定向进化后的酶变体是否也能催化生成二硅氧烷产物。然而,遗憾的是,实验过程中并未得到任何二硅氧烷产物。但从另一个角度来看,由于反应只会停留在生成硅醇产物这一步,而不会因过度反应生成二硅氧烷产物,这对于完全以硅醇为目标产物的催化合成而言,P450<sub>SiOx3</sub>酶变体催化硅烷转化表现出的这种催化特性成为了一个显著的优势。而在2023年,Frank Hollmann课题组<sup>[21]</sup>利用来自*Agrocybe aegerita*的过氧化酶AaeUPO催化硅烷转化为硅醇的实验中,观察到一些底物在反应后生成二硅氧烷产物(图7)。其中,底物**13a**经酶催化反应后,气相色谱仅检测到硅醇产物,经纯化后得到了硅醇与二聚产物摩尔比为1.3:1的混合物;底物**13b**经酶催化反应后,气相色谱同样仅检测到硅醇产物,不过在处理后,硅醇全部转化为二聚产物。

Arnold课题组在通过定向进化实现Si-H键转化为Si-O键的研究中得到的P450<sub>SiOx3</sub>酶变体,与早期R. J. Fessenden和Ray A. Hartman在小鼠体内实现相关转化的工作相比,不仅催化性能得到提高,而且反应的可调控性大大提升,底物适用范围也得到相应扩大。相较于传统的金属催化合成硅醇,这种可再生的铁基生物催化剂比铜、铈、铈等金属催化剂对环境资源的负担更小,在形成硅醇而非二硅氧烷方面也表现出高选择性;若与传统的以氯硅烷合成硅醇的方法相比,这种催化剂表现出高度反应专一性,不产生环境有害废弃物等优势。此外,该工作有效实现了在细胞内外对含硅化合物进行生物催化转化,扩展了在生命系统中调控硅元素的能力。利用P450<sub>SiOx3</sub>生物催化转化得到的硅醇化合物,可广泛用于制造有机硅聚合物,也可用作有机合成的中间体和催化剂,以及生物活性分子的电子等排体。

### 2.2.3 Si-C键转化为Si-O键

2024年,Arnold课题组利用定向进化证明酶促硅氧烷C-H键羟基化可促进Si-C键的断裂<sup>[22]</sup>。细胞色素P450<sub>BM3</sub>经过工程化改造后,可以催化许多非天然的羟基化反应。为了验证酶促C-H键羟

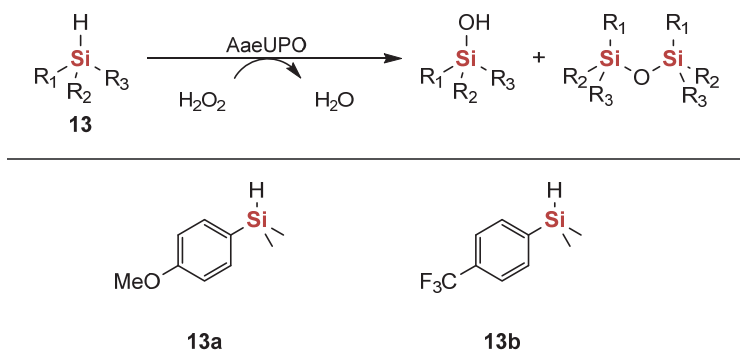
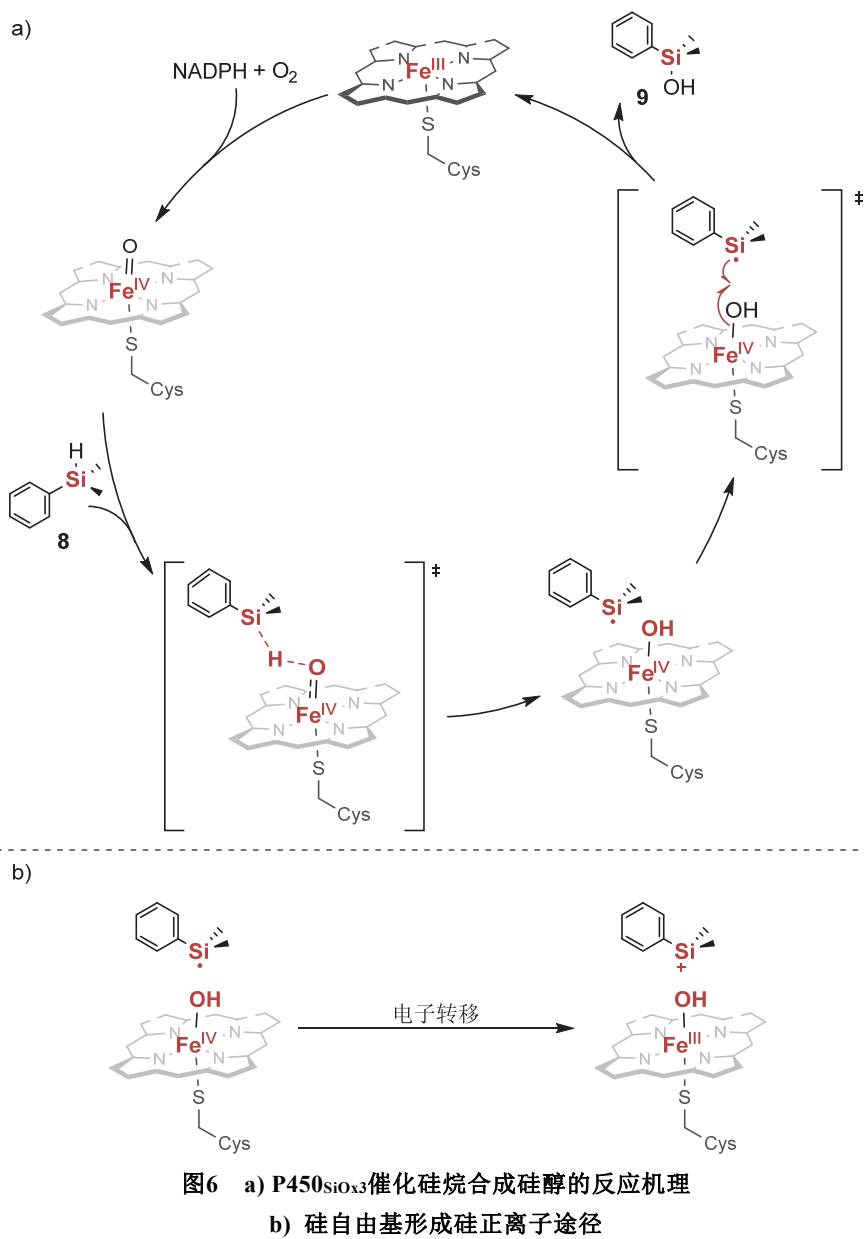


图7 AaeUPO催化合成硅醇中出现二硅氧烷的部分底物

基化是否会促进Si—C键的裂解，研究团队评估了一组实验室已有的细胞色素P450<sub>BM3</sub>变体氧化六甲基二硅氧烷**14**中C—H键的能力。气相色谱-质谱(GC-MS)分析表明，在P450<sub>BM3</sub>变体LSilOx1催化的产物中可同时检测到C—H键羟基化产物**16**和Si—C键裂解水解产物**15**。因此，他们选择了LSilOx1作为定向进化的起点，以增强Si—C键裂解活性。相对于野生型P450<sub>BM3</sub>，LSilOx1 (V78A, A82V, F87G, P142S, T175I, A184V, S226R, H236Q, E252G, A290V, L353V, I366V, E442K)有13个氨基酸残基突变。基于LSilOx1的定向进化面临着巨大挑战，其主要原因在于底物六甲基二硅氧烷**14**具有挥发性、低水溶性，且与通常用于生物催化反应的96孔聚丙烯板不相容。因此，研究人员采用了玻璃材质且与离心机兼容的96孔板进行后续的定向进化。通过多种突变策略的组合(包括随机突变、饱和突变、交错延伸过程重组等)以及对LSilOx1的多轮突变，研究团队得到LSilOx4变体(G252E)和CSilOx3变体(G252E F328S R47G)，能够分别催化线性硅氧烷**14**和环状硅氧烷**4**的Si—C键发生断裂，转化生成对应的线性硅醇产物**15**和环状硅醇产物**17**(图8)。

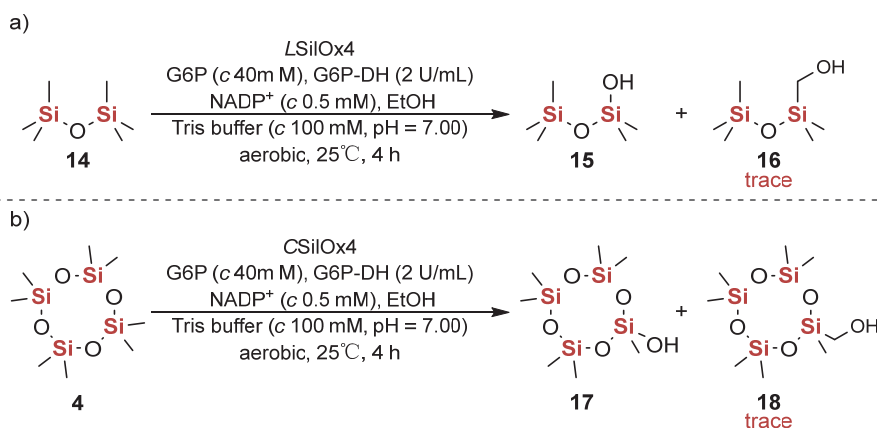


图8 a) LSilOx4催化线性硅氧烷的Si—C键断裂；b) CSilOx3催化环状硅氧烷的Si—C键断裂

接着，该课题组对酶催化Si—C键裂解的机制展开了进一步的研究。在酶催化C—H键羟基化产物**16**向硅醇产物**15**转化的过程中，通过GC-MS等多种表征方法，检测到了**16**的氧化中间体甲酰基硅氧烷**19**以及副产物甲醛**21**。因此，推测出可能的反应机理为(图9)：1) 酶在NADPH和有氧条件下催化六甲基二硅氧烷**14**的C—H键发生羟基化，其过程类似于2.2.2节所提及自然界中P450<sub>BM3</sub>催化烷烃羟基化过程，即通过Fe<sup>IV</sup>=O中间体促使C—H键断裂，生成对应碳自由基，并进一步得到羟基化产物**16**；2) 在酶的进一步催化氧化下，**16**的羟基被氧化成醛生成甲酰基硅氧烷**19**中间体；3) 中间体**19**的醛基与中心硅原子发生分子内的[1,2]-Brook重排反应，引发Si—C键发生断裂，得到半缩醛产物**20**；4) 半缩醛产物**20**经水解得到对应硅醇产物**15**和副产物甲醛**21**。

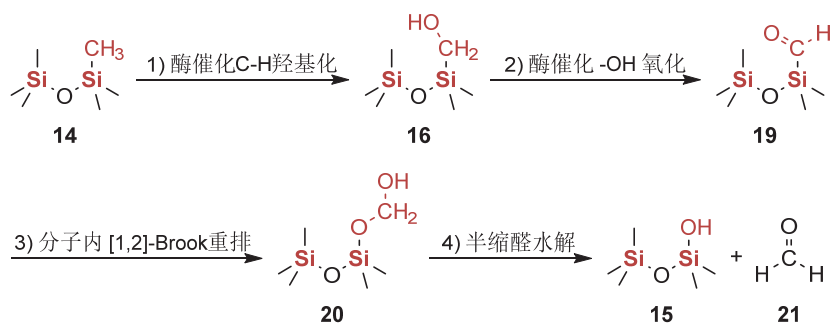


图9 SiO<sub>x</sub>变体催化硅氧烷合成硅醇的反应机理

在定向进化实现Si—C键转化为Si—O键的工作中, Arnold课题组成功证明了“酶促C—H键羟基化可促进Si—C键的断裂”这一结论, 这一发现为未来相关的酶促Si—C键断裂研究提供了新思路。线性和环状挥发性甲基硅氧烷(Volatile Methylsiloxanes, VMS)是人造的、不可生物降解的化学品, 每年以百万吨的规模生产, 具有环境持久性和生物累积特性。通过Si—C键裂解来降解VMS具有重大意义。利用定向进化技术对细菌细胞色素P450<sub>BM3</sub>进行改造而获得的变体酶, 能够断裂线性VMS和环状VMS中的Si—C键, 这为VMS的生物降解提供了新的前景。或许在未来, 受此启发研究得到的酶变体, 能够像PET降解酶降解PET一样, 最终实现以生物降解方式解决VMS环境污染的目标。

### 3 结语

Arnold课题组通过酶的定向进化技术, 成功实现了一系列自然界中不存在的生物催化有机硅化合物的反应。这些研究不仅为未来有机硅化合物的转化提供了新的方法, 还对新型生物催化体系的构建具有重要推动作用。其出色的工作展现了生物催化转化有机硅化合物的潜力, 为环境友好和可持续有机硅化合物合成与转化开辟了新的途径。

### 参 考 文 献

- [1] Franz, A. K.; Wilson, S. O. *J. Med. Chem.* **2013**, *56* (2), 388.
- [2] Lukevics, E.; Germane, S.; Segal, I.; Zablotskaya, A. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1997**, *33* (2), 234.
- [3] Sieburth, S. M.; Nittoli, T.; Mutahi, A. M.; Guo, L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37* (6), 812.
- [4] Rucker, C.; Kümmerer, K. *Chem. Rev.* **2015**, *115* (1), 466.
- [5] Lin, Y.; Yu, J.; Ye, K.-Y. *Org. Chem. Front.* **2024**, *11* (24), 7243.
- [6] Lin, Y.; Xue, W.; Li, H.; Su, B.; Lin, J.; Ye, K.-Y. *Eur. J. Org. Chem.* **2024**, *27* (17), e202400003.
- [7] Fessenden, R. J.; Hartman, R. A. *J. Med. Chem.* **1970**, *13* (1), 52.
- [8] Frampton, M. B.; Zelisko, P. M. *Silicon* **2009**, *1* (3), 147.
- [9] 周颖, 朱理源, 邹鹏. *大学化学* **2019**, *34* (1), 1.
- [10] Renata, H.; Wang, Z. J.; Arnold, F. H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54* (11), 3351.
- [11] Das, A.; Long, Y.; Maar, R. R.; Roberts, J. M.; Arnold, F. H. *ACS Catal.* **2024**, *14* (1), 148.
- [12] Hyster, T. K.; Ward, T. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55* (26), 7344.
- [13] McIntosh, J. A.; Farwell, C. C.; Arnold, F. H. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2014**, *19*, 126.
- [14] Wang, Z. J.; Peck, N. E.; Renata, H.; Arnold, F. H. *Chem. Sci.* **2014**, *5* (2), 598.
- [15] Tyagi, V.; Bonn, R. B.; Fasan, R. *Chem. Sci.* **2015**, *6* (4), 2488.
- [16] Kan, S. B. J.; Lewis, R. D.; Chen, K.; Arnold, F. H. *Science* **2016**, *354* (6315), 1048.
- [17] Garcia-Borràs, M.; Kan, S. B. J.; Lewis, R. D.; Tang, A.; Jimenez-Osés, G.; Arnold, F. H.; Houk, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143* (18), 7114.
- [18] Bähr, S.; Brinkmann-Chen, S.; Garcia-Borràs, M.; Roberts, J. M.; Katsoulis, D. E.; Houk, K. N.; Arnold, F. H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59* (36), 15507.
- [19] Guo, P.; Cheng, L.-C.; He, X.-L.; Ye, K.-Y. *Org. Chem. Front.* **2022**, *9* (21), 5802.
- [20] Yang, B.-B.; Guo, P.; He, X.-L.; Ye, K.-Y. *Org. Chem. Front.* **2024**, *11* (15), 4125.
- [21] Xu, X.; van Hengst, J. M. A.; Mao, Y.; Martinez, M.; Roda, S.; Floor, M.; Guallar, V.; Paul, C. E.; Alcalde, M.; Hollmann, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62* (24), e202302844.
- [22] Sarai, N. S.; Fulton, T. J.; O'Meara, R. L.; Johnston, K. E.; Brinkmann-Chen, S.; Maar, R. R.; Tecklenburg, R. E.; Roberts, J. M.; Reddel, J. C. T.; Katsoulis, D. E.; *et al.* *Science* **2024**, *383* (6681), 438.