



含氟化合物的生物合成研究进展

魏珑辰^{1,2}, 黄超群^{1,2}, 罗云孜^{1,2,3*}

1. 合成生物技术全国重点实验室, 教育部合成生物学前沿科学中心, 天津大学合成生物与生物制造学院, 天津 300072

2. 物质绿色创造与制造海河实验室, 天津 300192

3. 天津大学佐治亚理工深圳学院, 深圳 518071

* 联系人, E-mail: yunzi.luo@tju.edu.cn

收稿日期: 2025-06-30; 接受日期: 2025-08-22; 网络版发表日期: 2025-09-25

国家自然科学基金(批准号: 32471492)、物质绿色创造与制造海河实验室(批准号: 24HHWCSS00006)和广东省重点研发计划(批准号: 2020B0303070002)资助

摘要 氟原子的引入可显著改善分子的代谢稳定性、膜渗透性及靶标结合能力. 因此, 含氟化合物在药物研发和生物材料制备等领域具有重要地位, 并展现出广泛的应用前景. 然而, 传统化学合成方法在立体选择性和化学选择性控制方面存在局限性, 制约了含氟化合物的高效合成. 随着合成生物学的发展, 生物合成法为复杂含氟分子的高效合成提供了新的策略. 本文系统综述了含氟化合物生物合成领域的最新进展, 重点关注 C–F 键的构建以及含氟模块的碳链延伸过程, 涵盖了从生物合成路径解析到体外酶催化体系构建的研究进展, 分析了相关生物合成途径的发现过程、模块化重组策略及酶的催化机制. 同时, 对当前基于生物方法构建含氟化合物面临的底物受限等关键科学问题进行了探讨, 并对含氟化合物的生物合成未来发展方向进行展望.

关键词 含氟化合物, 生物合成, 酶催化, C–F 键构建, 碳链延伸

氟原子因其高电负性、较小原子半径及极高的 C–F 键键能, 在药物化学中具有独特且不可替代的作用^[1]. 在药物分子中引入氟原子或含氟基团不仅能够调控其理化性质, 还可提高药物的代谢稳定性、生物利用度以及靶向选择性, 显著增强药物的整体药效学和药代动力学特性^[2,3]. 因此, 氟原子在药物发现和开发中具有重要地位. 2024年, FDA 批准了50个新分子实体, 其中11个药物结构中含有氟原子^[4]. 在医学成像领域, 含氟化合物的应用也颇为广泛, 如氟代脱氧葡萄糖、5-氟尿嘧啶可作显影剂^[5,6]; 在材料科学及相关领

域, 氟元素的存在与应用亦占据重要地位^[7]. 鉴于含氟化合物的应用价值较高, 开发其相应的合成方法至关重要^[8].

传统的化学合成方法通常使用氟化试剂进行氟化^[9]. 2006年, Sanford团队^[10]利用Pd与氟化试剂实现了C–H键氟化, 这是一项金属介导C–F键构建的开创性工作; 随后, 2012年, Liu等人^[11]开发了利用金属卟啉、氟化银以及氟化试剂TBAF实现C–H键氟化的方法. 近年来, 氟化方法学研究持续取得突破, 2018年, Gouverneur团队^[12]开创性地利用相转移催化剂将碱金

引用格式: 魏珑辰, 黄超群, 罗云孜. 含氟化合物的生物合成研究进展. 中国科学: 生命科学, 2025, 55: 2124–2139

Wei L C, Huang C Q, Luo Y Z. Advances in the biosynthesis of fluorinated compounds (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2025, 55: 2124–2139, doi: [10.1360/SSV-2025-0207](https://doi.org/10.1360/SSV-2025-0207)

属氟化物转移至有机溶剂中, 成功实现了C-Br键到C-F键的转变. 2025年, 该团队^[13]使用相转移催化剂解决了烷基卤化物氟化的难题. 值得注意的是, 氟离子因强亲水性, 易与水分子形成氢键而被“溶剂化”, 被束缚于水相中, 亲核性降低, 难以参与有机反应^[14]; 其显著的溶剂化效应迫使绝大多数氟化反应需在有机溶剂中进行. 2024年, Niu团队^[15]在水中利用吡啶N-氧自由基成功实现了苜蓿C-H氟化, 为水介质中氟化反应提供了新思路. 尽管有机氟化方法学已取得进展, 开发条件温和、环境友好的新型氟化策略仍是当前氟化领域的重要研究方向.

生物合成相较于化学合成具有反应条件温和、立体选择性高、可进化性以及可持续性等优点^[16,17]. 目前, 利用生物催化已成功实现烷基化^[18,19]、卤化^[20,21]、环化^[22-24]等反应. 在合成含氟化合物方面, 生物方法也发挥着重要作用. 本文分别从C-F键的形成以及含氟模块碳链延伸两个方面来介绍含氟化合物生物合成的最新进展, 并对其目前的挑战进行了讨论与展望, 为开发绿色高效的含氟化合物生物合成策略提出新思路.

1 生物法形成C-F键

由于C-F键异常高的键解离能, 其形成过程需要克服热力学障碍, 且氟原子的电负性极强, 其吸电子效应会导致反应中间体的稳定性降低, 底物分子的电子云排布改变, 而氟离子较小的离子半径又导致其与酶活性中心的配位作用较弱, 难以形成稳定的酶-底物复合物, 进一步增加了生物催化过程的难度, 这使得生物催化C-F键的形成成为更具挑战性的科学问题. 目前, 基于生物体系实现C-F键形成的策略主要分为以下两类: 生物合成路径介导的氟化反应与酶促C-F键构建机制.

1.1 生物合成路径中C-F键的形成

天然产物是生物活性物质的重要来源之一^[25]. 在已鉴定的约400000种天然产物中, 含氟天然产物仅有9种(图1A)^[26,27]. 自然界中含量最丰富的有机氟是氟乙酸盐, 常见于一些植物的叶子和种子中^[28]. 然而, 这些植物中氟乙酸盐生产的生物合成机制尚未阐明. 多个含氟天然产物通过基因组挖掘技术被发现^[7], 典型代

表包括核杀菌素(nucleocidin)、 ω -氟油酸(ω -fluorooleic acid)、2-氟化柠檬酸(2-fluorocitrate)等. 然而, 这些含氟天然产物的生物合成路径至今尚未得到系统解析. 2002年, O'Hagan等人^[29]在*Streptomyces cattleya*中发现了一条可将无机氟转化为有机氟的代谢通路, 并鉴定出自然界生物体内首个氟化酶. 2012年, O'Hagan团队^[29-31]进一步完成了*S. cattleya*中氟乙酸和4-氟苏氨酸的体内生物合成解析, 明确了生成这两种含氟化合物所需的酶(图1B). 首先, S-腺苷甲基硫氨酸(SAM)在氟化酶催化下生成5'-氟-5'-脱氧腺苷(5'-FDA); 随后, 嘌呤核苷磷酸化酶催化5'-FDA成5-氟-5-脱氧-D-核糖-1-磷酸(5-FDRA); 在异构酶作用下, 5-FDRA经开环反应生成5-氟-5-脱氧-核酮糖-1-磷酸(5-FDRuP); 醛缩酶进一步催化5-FDRuP分解产生氟乙醛, 该中间产物分别在转醛酶和脱氢酶催化下生成4-氟苏氨酸与氟乙酸. 受该研究的启发, 研究人员运用基因挖掘技术, 在不同菌株中挖掘到多种同类氟化酶^[31-35]. 2022年, Nickel团队^[36]借助计算机模拟挖掘技术(*in silico* mining), 在古细菌体内筛选出对SAM转化为5'-FDA催化效率最高的氟化酶, 产量达到其他氟化酶的12倍. 然而, 当前在生物合成途径中已鉴定的能够利用无机氟的氟化酶, 其功能仍局限于催化SAM向5'-FDA的转化.

除氟乙酸和氟苏氨酸外, 2010年Moore团队^[37,38]开展了一项重要的生物合成研究: 其从*S. cattleya*中克隆氟化酶基因*fla*, 以此替换*Salinispora tropica*中的氯化酶基因*salL*, 并在*S. tropica*宿主细胞内成功实现了氟代盐孢菌素(fluorosalinopamide)的生物合成.

1.2 体外酶催化的C-F键形成

由于生物合成路径通常涉及复杂的代谢网络, 对新型含氟天然产物生物合成路径的从头解析仍面临挑战^[39]. 因此, 针对C-F键构建的体外酶催化策略得以发展. 2016年, Sun等人^[40]利用定向进化技术在体外实现了氟化酶的底物谱扩展, 突变体fah2114(F213Y/A279L)可催化非天然底物5'-氯-5'-脱氧腺苷(5'-CIDA)到5'-FDA的转化, 整体放射化学转化率(RCC)达到34%, 比野生型FIA1(8%)高4.3倍(图1C). 此外, 氟化酶除对氟化物有强烈的偏好外, 也能低水平地结合氯化物, 改造卤化酶使其具有氟化功能, 这也成为了许多研究者关注的重要方向. 自然界中已鉴定出多种卤化酶种类^[41], 包括黄素依赖型卤化酶^[40,42]、钒依赖的卤

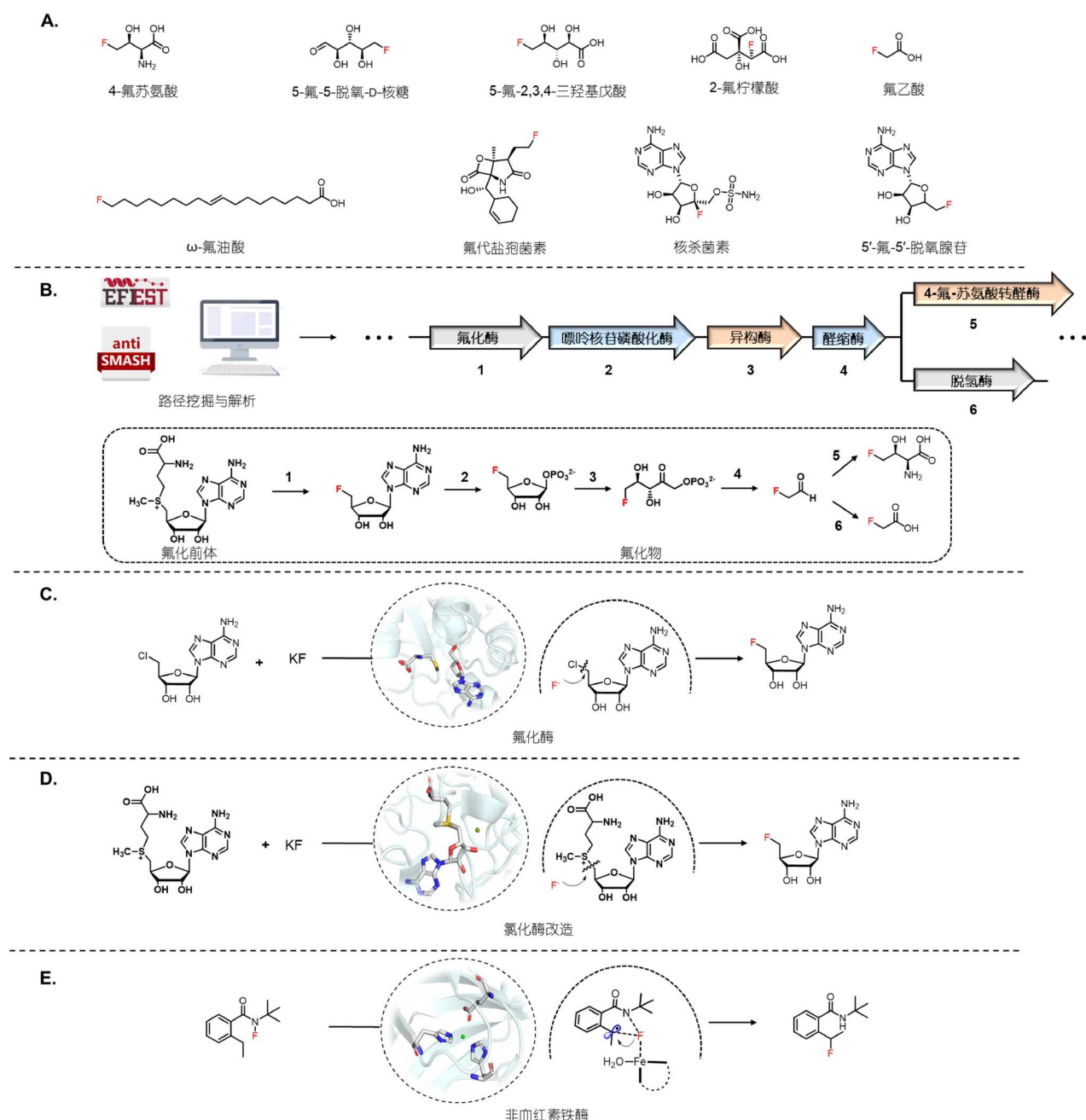


图 1 天然含氟化合物的生物合成与酶促C-F键构建: A: 含氟天然产物类别; B: *S. cattleya*中从5'-FDA到氟乙酸和4-氟苏氨酸的生物合成途径; C: 工程化氟化酶拓展底物谱; D: 工程化氯化酶实现C-F键构建; E: 非血红素铁酶介导的自由基氟转移

Figure 1 Biosynthesis of natural fluorinated compounds and the formation of enzymatic C-F bond. A: Categories of fluorinated natural products; B: biosynthetic pathway from 5'-FDA to fluoroacetate and 4-fluorothreonine in *S. cattleya*; C: engineering fluorinases for expanded substrate scope; D: engineering chlorinases enables the formation of C-F bond; E: radical fluorine transfer mediated by non-heme iron enzymes

素过氧化物酶^[43]等。然而, 这些卤化酶多数仅能实现C-Cl, C-Br键的构建, 无法实现C-F键的构建。2024年, 鉴于卤化酶在催化形成C-F键方面的局限性, Jiang等

人^[44]使用*S. tropica* CNB-440来源的SAM依赖氯化酶SalL, 通过丙氨酸扫描以及饱和突变, 得到具有氟化功能的突变体Y70T/W129F, 其反应活化能垒与野生型相

比降低26 kcal/mol, SAM亲核攻击距离缩短至2.51 Å, 成功将SAM转化为5'-FDA, 达到天然氟化酶活性水平的70%(图1D).

尽管氟化酶的研究已取得诸多进展, 但其研究范畴大多局限于SAM依赖型氟化酶. 直至2024年, Zhao等人^[45]报道了一种来自绿色链霉菌(*Streptomyces viridochromogenes*)的非血红素铁酶SvHppE, 通过酶工程技术提高其催化活性, 得到了一个三重突变体SvHppE-Fluor, 能够以30%的产率将*N*-氟酰胺类底物转化为目标氟化产物, 对映选择性可达97% *ee*. 这一案例首次将自由基氟原子转移机制引入到天然金属酶催化体系, 实现了高立体选择性的分子内自由基氟转移. 2024年同期, Zhao等人^[46]报道了一种同类型的非血红素铁酶(ACCO), 通过定向进化进一步提高该酶的催化活性和选择性, 得到六重突变体ACCO_{CHF}, 通过自由基机制实现了C-H键的高选择性氟化反应, 以97%的产率, 95% *ee*得到氟化反应产物(图1E). 这两种氟化酶的发现为合成手性有机氟化物提供了有价值的工具. 未来, 随着生物技术与人工智能技术的协同发展, 通过挖掘新酶或基于计算模型设计新型氟化酶将展现出重要的研究潜力与应用前景.

2 生物法介导含氟模块碳链延伸

随着合成生物学的快速发展, 绿色高效构建C-F键成为了新的发展方向. 但由于目前天然氟化酶来源较少, 且存在稳定性低、催化效率不高、底物谱较窄、产物多样性受限等问题, 制约了其在复杂含氟分子合成中的应用. 含氟模块的碳链延伸技术作为一种新兴策略, 在含氟化合物合成研究领域取得了快速发展与显著突破, 已成为近年来的研究焦点.

2.1 含氟化合物的生物合成路径重构

对天然产物的底物实施化学修饰或对其合成模块进行结构改造, 是构建多样化天然产物衍生分子的常用策略. 通过化学修饰策略将氟原子引入底物分子中, 进而借助生物合成途径合成含氟非天然化合物, 是拓展有机氟分子多样性的有效手段. 2009年, O'Connor课题组^[47]通过RNA干扰技术沉默长春花毛状根培养物中的色氨酸脱羧酶(TDC), 阻断了天然色胺的合成. 在此代谢背景下, 外源添加含有氟原子的色胺(5-氟色

胺), 通过下游酶的选择性利用, 高效合成氟化单萜吲哚生物碱, 其中氟代阿玛碱的产量较野生型提高5倍, 且无天然产物干扰. Chang团队^[48]以一种用于有机氟代谢的工程微生物宿主, 利用氟化二酮酸实现了含氟聚羟基脂肪酸酯(PHA)生物塑料的生产, 为活细胞内氟代谢工程及含氟生物塑料的开发提供了新策略.

然而, 参与天然产物生物合成的酶多数具有严格的底物特异性, 因此上述策略的应用往往伴随着酶的改造等工作. 例如, 在聚酮天然产物的生物合成机制中, 聚酮合酶(PKS)的天然酰基转移酶(AT)结构域对酰基辅酶A(Acyl-CoA)底物具有严格的特异性识别能力, 需通过对体内酰基辅酶A底物进行选择筛选后, 将其传递至酰基载体蛋白(ACP)进行生物合成. 这一特性导致单纯依赖含氟前体喂养策略往往难以实现含氟聚酮天然产物的有效合成, 因此对酰基转移酶进行工程改造, 使其位点选择性地将氟掺入复杂结构中是必要的.

Chang团队^[49]通过介导6-脱氧红霉内酯B合成酶(DEBS)聚酮合成途径中模块2, 3和6的AT结构域失活突变, 同时对模块3中的酮还原酶(KR)进行功能失活(图2A), 以氟代丙二酰-CoA(F-Mal-CoA)作为合成中间体, 成功实现了氟原子在聚酮骨架中的位点选择性嵌入. 此外, 研究人员观察到, 当在模块3和6中分别引入合成Disorazole的*trans*-AT结构域时, 含氟内酯的产量呈现显著提升(模块3约提升至30%, 模块6约提升至80%), 该研究为复杂含氟化合物的生物合成提供了新策略. 2017年, Chang团队^[50]进一步研究发现, 通过失活天然AT结构域以规避其对天然延伸单元的底物偏好的同时, 氟代延伸单元的链延伸会转为不依赖ACP的模式, 在此过程中聚酮链与酶的共价连接解离, 限制了链延伸效率. 而引入*trans*-AT互补催化缺陷模块后, 可实现F-Mal-CoA对酶的酰化, 通过形成ACP连接中间体, 使氟代延伸单元插入效率达野生型的43%, 实现多轮氟代链延伸. 2022年, Grininger团队^[51]通过前期的研究发现了另一种来自哺乳动物脂肪酸合成途径的酰基转移酶(MAT), 其与AT结构域功能相似, 且具备识别氟化延伸单元的底物宽泛性, 如F-Mal-CoA和氟代甲基丙二酰-CoA(F-MM-CoA). 因此研究者通过整合的方式, 将DEBS模块6中的AT结构域替换为MAT结构域(图2B). 研究人员观察到, 以F-Mal-CoA作为底物时, 反应体系中生成含氟六元碳环产物并无大环聚酮化合

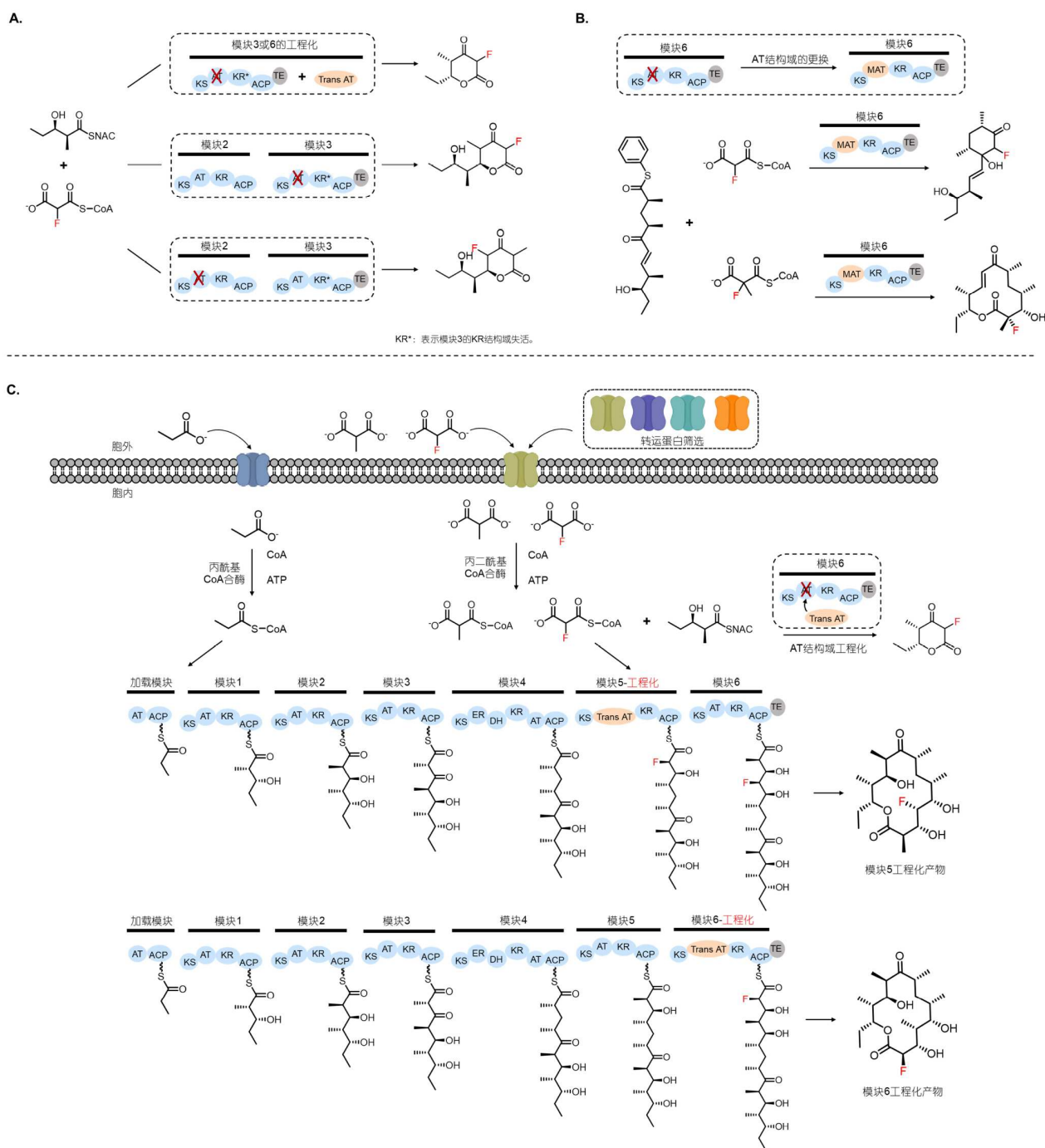


图 2 PKS途径位点选择性氟化策略. A: 工程化PKS不同模块利用F-Mal-CoA合成含氟内酯化合物; B: MAT结构域替换实现氟化聚酮的合成; C: 工程化trans-AT实现体内高效位点选择性氟化聚酮的合成. KR*: 模块3的KR结构域失活

Figure 2 Site-selective fluorination strategies in PKS pathways. A: Engineered PKS modules utilize F-Mal-CoA to synthesize fluorinated lactone compounds; B: MAT domain replacement enables the synthesis of fluorinated polyketide; C: engineered trans-AT mediates efficient *in vivo* site-selective polyketide fluorination. KR*: inactivated KR domain in module 3.

物的生成, 该现象可能归因于氟代亚甲基的结构不稳定性. 而当底物替换为F-MM-CoA时, 成功鉴定出含

氟十二元大环聚酮化合物的生成.

然而, 尽管对聚酮的生物合成路径进行了较多的

研究, 其体内合成仍具有较大的挑战^[49,50,52]。2022年, Chang团队^[53]首次利用模块化重组等技术在体内实现了将氟位点选择性地引入PKS中(图2C)。通过将DEBS生物合成基因簇不同模块中原有的AT结构域选择性失活, 然后用Disorazole生物合成基因簇中游离的*trans*-AT进行弥补, 可以位点选择性的引入氟原子到PKS中。值得注意的是, 由于微生物体内含有丰富的丙二酰辅酶A(Mal-CoA)和甲基丙二酰辅酶A(MeMal-CoA), 作者对*trans*-AT进行了突变以提高其对氟修饰的F-Mal-CoA特异性, 对Mal-CoA的催化效率降低6倍, 且同时维持F-Mal-CoA的活性, 更好地实现了含氟PKS的生物体内合成。

上述研究利用不同的策略通过生物合成途径在聚酮骨架中定向引入氟原子, 完成了复杂含氟聚酮天然产物的合成, 为复杂有机氟化化合物的生物合成提供了新途径, 有望扩展生物活性小分子的结构多样性和药物开发潜力。

2.2 酶介导的含氟模块碳链延伸

在生物体中引入非天然底物常面临跨膜转运障碍, 由于部分非天然底物无法通过内源性转运系统进入胞内, 通常需对转运蛋白进行工程化改造以实现非天然底物摄取^[48]。为克服这一缺陷, 体外酶催化体系规避了细胞内复杂的转运限制, 已被广泛用于含氟化化合物的合成^[7]。本节聚焦于含氟底物的酶法碳链延长策略, 重点总结2019~2025年酶促含氟化合物合成相关的研究进展, 结合多种催化体系和反应设计, 系统展示如何利用含氟底物进行有价值小分子的合成, 为复杂有机分子的构建提供新颖且高效的方法。该部分将按反应类型进行总结, 包括: 自由基反应、卡宾反应、醇醛缩合反应以及其他反应类型。

2.2.1 自由基反应

自由基反应作为有机化学领域的重要反应类型, 凭借其独特的化学选择性优势, 已成功实现多种高附加值小分子化合物的合成^[54]。然而, 自由基的高反应活性以及自由基中间体的瞬态特性, 使得调控该类反应的立体选择性成为极具挑战性的科学问题^[55,56]。酶催化体系在立体选择性控制方面具有天然优势, 部分酶能够有效介导自由基反应进程, 典型代表包括硫胺素/黄素依赖性酶^[57]、细胞色素P450酶^[58]等。研究人

员已通过依赖自由基形成机制的酶催化体系, 实现了含氟化合物的酶法合成(图3A)。

值得注意的是, 近年来, 随着光酶催化这一新兴领域的发展, 自由基反应酶的种类得以进一步拓展^[19,22,24,56,59~61]。目前, 光酶催化体系已成功应用于含氟化化合物的合成研究, 烯还原酶在蓝光作用下具有新的催化活性, 为复杂分子的精准构建提供了新策略。2024年, Zhao团队^[62]开发了一种光酶催化氢氟烷基化反应。作者借助光酶催化体系, 促使碘化氟代烷烃发生碘原子离去反应, 生成碳中心自由基; 该自由基继而与烯烃发生对映选择性加成反应, 成功合成了一系列具有 $\beta/\gamma/\delta$ 远端手性的含氟化合物(*ee*高达98%), 这一催化过程在有机化学领域中极具挑战性。与之类似, 2025年, Xu团队^[63]基于烯还原酶催化的自由基反应机制, 开发了一种以不同氟源供体为基础的不对称三氟甲基化策略。该研究以 $\text{TT-CF}_3^+\text{OTf}^-$ 作为三氟甲基自由基供体, 苯乙烯或硝基烷烃作为自由基受体, 通过烯还原酶催化体系成功构建了多种结构类型的具有手性的三氟甲基化合物(*ee*>99%)。此工作进一步拓展了烯还原酶催化技术在含氟有机化合物合成领域的应用边界。最近, Luo团队^[64]开发了一种基于可见光驱动的黄素依赖型烯还原酶催化系统。作者设计了溴代氟酰胺前体, 在蓝光照射下原位生成含氟碳自由基, 该自由基随即在酶活性口袋内与烯烃底物发生高立体选择性的C-C偶联, 以高达97% *ee*的对映选择性高效构筑氟化酰胺骨架。该策略兼容多种氟化试剂及烯烃底物, 为含氟分子的绿色合成开辟了新途径。

非血红素铁酶可实现多种不同类型的反应, 包括羟基化、环丙烷化、C-H键胺化、卤化、环氧化和去饱和^[65~67]。近年来也被开发利用自由基反应机制合成三氟甲基化合物。Huang课题组^[68]开发了一种酶催化自由基反应, 实现由非血红素铁酶AoHMS- CF_3 催化的对映选择性烯烃三氟甲基叠氮化反应, 且首次完成高价碘试剂在生物催化反应中的还原活化, 建立了一个全新的自由基酶催化反应平台, 立体选择性地合成多种三氟甲基叠氮化合物(*ee*>90%)。Jia团队^[69]通过工程化的非血红素铁酶BsQueD- CF_3 催化三氟甲基叠氮化烯烃, 并通过单电子转移机制激活三氟甲基试剂生成 CF_3 自由基和铁-叠氮中间体, 从而实现高效的手性三氟甲基化产物的合成(*ee*高达93%)。

此外, 开发其他基于自由基机制的酶催化体系以

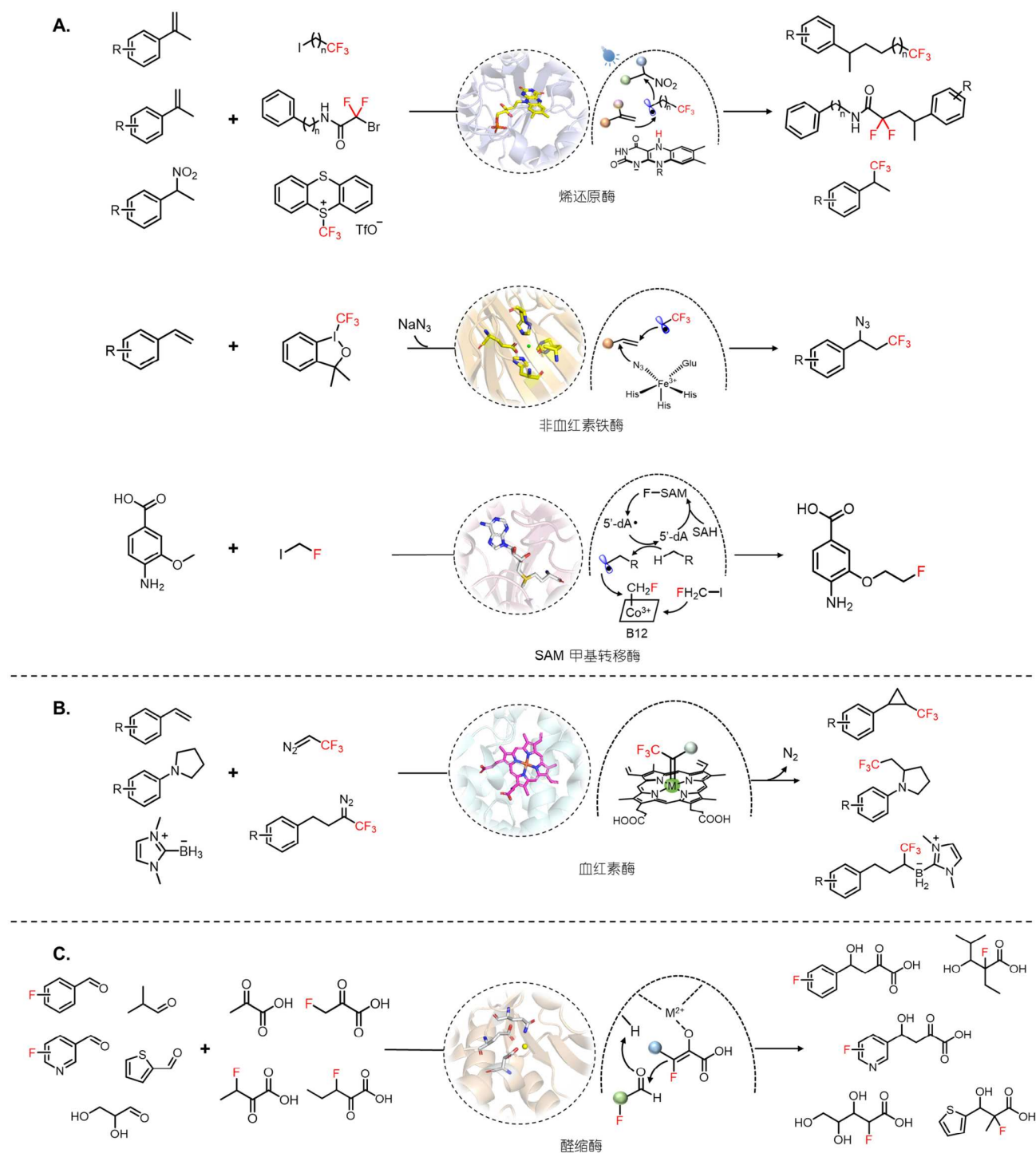


图 3 酶介导的含氟模块碳链延伸. A: 酶促自由基反应生成含氟化合物的代表性策略; B: 血红素酶催化卡宾插入实现高选择性氟烷基化; C: 酶促醇醛缩合构建含氟化合物

Figure 3 Enzyme-mediated carbon chain extension of fluorine-containing modules. A: Representative strategies for the generation of fluorine-containing compounds through enzymatic radical reactions; B: heme enzyme-catalyzed carbene insertion for highly selective fluoroalkylation; C: construction of fluorine-containing compounds via enzymatic aldol condensation

实现含氟化合物的多样性合成同样具有重要研究价值. 2025年, Dong课题组^[70]实现了B12依赖的SAM自由基甲基转移酶(B12-RSMTs)催化的自由基氟甲基化反应. 研究发现, 酶通过识别原位产生的非天然辅因子F-SAM, 生成5'-脱氧腺苷(5'-dA)自由基, 同时在一种全新的氟甲基B12中间体的参与下, 实现了不活泼碳氟甲基化修饰, 并成功应用于多肽、活性天然产物的特异性氟甲基化, 拓展了SAM自由基酶的应用范围, 为高选择性制备更多的氟烷基天然产物提供了创新方法.

2.2.2 卡宾反应

卡宾是一类高活性的二价碳中间体, 在有机化学领域其反应多依赖金属催化剂(如Rh, Cu)或光/热条件驱动其反应. 近年来, 酶催化卡宾反应实现含氟化合物的合成成为研究热点(图3B). 三氟甲基取代的环丙烷(CF₃-CPAs)是药物开发中一类重要的前体化合物^[71]. 然而, 立体选择性产生*cis*-CF₃-CPAs仍然是一个巨大的挑战^[72]. 2017年, Fasan团队^[73]报道了一种高效的不对称合成CF₃-CPAs的生物催化策略, 其反应体系采用双室装置设计, 外源产生的气态卡宾供体2-重氮-1,1,1-三氟乙烷(CF₃CHN₂)通过工程化肌红蛋白在原核细胞表达系统中进行转化. 该策略成功应用于多种*trans*-1-三氟甲基-2-芳基环丙烷类化合物的合成, 对映体纯度高达99%, 为利用气态或难处理的卡宾供体试剂的生物催化反应开发了普适性策略. 之后, Huang团队^[74]报道了一种来源于*Aeropyrum pernix*的原珠蛋白ApePgb, 进行工程化改造后的突变体可用于催化*cis*-CF₃-CPAs的非对映选择性和对映选择性合成(*ee*高达99%, *dr*>20:1). 除此之外, Yu课题组^[75]在P411-PFA突变体的基础上, 实现了单萜化合物非天然CF₃-CPAs衍生物的合成, 并将这种非天然环丙烷化反应与重组的L-香芹醇合成酶在大肠杆菌中整合, 实现了从前体物到三氟甲基化L-香芹醇衍生物的一锅法生物合成, 构建可持续生产有价值氟化萜类化合物的平台. 此外, 该研究为从廉价原料高效合成有价值的三氟甲基化萜类衍生物奠定了基础, 最终可能实现广泛的非天然环丙烷化合物的完全生物制造.

在卡宾介导的反应中, 以烯烃作为卡宾受体实现 sp^2 卡宾插入反应较为常见, 而实现 sp^3 卡宾插入反应则面临更大的挑战性. 此前, 研究人员设计了一种工程化

的P450酶P411-CH-C8, 用于催化重氮乙酸乙酯(EDA)的卡宾C-H插入反应^[76]. 研究发现, 也可将氟代烷基卡宾中间体插入 α -氨基C-H键中, 但对映选择性较差, *ee*仅为12%. 研究人员通过定向进化, 获得了一种变体P411-PFA, 获得的突变体TTN为4070, *ee*高达99%^[77], 成功实现了含氟代烷基分子的对映选择性合成, 并且可针对多种底物进行催化. 值得注意的是, 卡宾反应介导的含氟化合物合成中卡宾供体多数局限在2,2,2-三氟-1-偶氮乙烷. 2019年, Arnold团队^[78]开发了一种新的卡宾供体3-叠氮基-4,4,4-三氟丁基苯, 利用*Rhodothermus marinus*细胞色素*c*(*Rma cyt c*)的酶平台, 同时结合含硼化合物合成了多种手性 α -三氟甲基化有机硼化合物. 通过定向进化, 具有优化活性位点的*Rma cyt c*变体可以容纳结构多样化的三氟偶氮烷烃, 用于具有高对映选择性的卡宾B-H键插入(*ee*高达96%). 卡宾反应的高效引入为酶催化合成含氟化合物提供了新的方法学策略, 其独特的反应活性与酶分子的区域选择性催化特性相结合, 不仅拓展了含氟有机分子的构建路径, 还通过生物催化与卡宾化学的交叉融合为复杂氟化物的绿色合成提供了创新性解决方案.

2.2.3 醇醛缩合反应

醇醛缩合是一种最重要的有机反应, 能够催化C-C键的形成进而合成一些有价值的小分子^[79,80]. 醛缩酶是能够催化发生醇醛缩合的一类高效生物催化剂, 已成为生成复杂化合物的有吸引力的工具^[81]. 与之类似, 醛缩酶催化体系在含氟化合物合成中彰显重要方法学价值(图3C). Chang团队^[82]报道了一项使用II型醛缩酶合成手性有机氟化物的研究. II型HpcH醛缩酶能够利用氟丙酮酸作为非天然亲核底物, 形成高立体选择性的手性氟化物(*ee*>99%). 随后2022年, Chang课题组^[83]再次报道了使用HpcH及其工程化突变体催化不同的醛与 β -氟- α -酮酸(包括氟丙酮酸、 β -氟- α -酮丁酸和 β -氟- α -酮戊酸)的反应, 可催化不同氟供体获得对映体纯度高的二级或三级氟化物(*ee*>99%). 这是首次通过生物催化合成三级氟化物, 提高了氟化构建砌块的多样性, 并使氟化药物类似物的合成成为可能.

基于上述研究, Luo团队^[84]提出了一种三步的化学-酶法级联反应, 用于不对称合成手性含氟非天然氨基酸. 研究人员使用成本较为低廉的含氟醛类作为起始材料, 通过醛缩酶NahE催化醇醛缩合反应实现含氟

模块碳链的延长。随后, 通过化学脱羧反应生成还原胺化的底物, 在苯丙氨酸氨裂解酶AvPAL的作用下, 最终生成多种含氟芳香L- α -氨基酸产物, 对映体纯度高达99%。进一步使用全细胞生物催化剂在制备规模合成了三种可被用作药物合成前体的含氟L- α -氨基酸, 扩展了该方法的普适性。

但上述方法由于醛缩酶NahE的脱水作用无法合成另一类重要的具有药用价值的非天然氨基酸—— γ -羟基- α -氨基酸。为进一步丰富含氟非天然氨基酸的种类, 2025年该团队^[85]通过深入探索链霉菌资源, 成功挖掘出一种对含氟芳杂环底物展现出高度活性的新的II型醛缩酶。在此基础上, 将醛缩酶与转氨酶进行联用, 开发了一锅法合成策略。这一策略不仅简化了合成步骤, 而且显著提高了合成效率, 成功实现了含有芳杂环结构的含氟非天然 γ -羟基- α -氨基酸的高效制备(图3C), 拓宽了酶促合成的范围, 为芳基和杂芳基含氟非天然氨基酸的合成提供了一种绿色环保的选择。

2.2.4 其他反应

在有机合成领域, 除上述反应类型对含氟化合物的合成至关重要外, 其他反应类型亦不可忽视。这一小节将介绍一些其他反应, 包括还原胺化反应、氧化还原反应、酯水解反应以及化学酶法偶联反应等, 这些反应在含氟化合物合成及相关领域同样展现出独特价值与应用潜力。

Dong课题组^[86]从甲基转移酶的天然辅因子SAM出发, 设计合成了一种稳定的氟代SAM类似物: 氟代脱羧SAM(F-dcSAM)。F-dcSAM可以被多种O, S和N-甲基转移酶识别, 可用于合成各种含杂原子的具有生物活性的氟甲基化合物。除此之外, Mei等人^[87]采用半理性CAST/ISM策略对羧基还原酶BgADH进化, 获得的四突变体M5在立体选择性、活性及热稳定性方面均显著提升, *ee*可达99%, *dr*>99:1, 催化效率提高6.3倍, 热稳定性提升至50℃, 较野生型(46℃)提高了4℃, 实现了氟代 β -内酰胺母核的立体发散合成。

近年来, 化学催化与生物催化的级联策略在含氟化合物合成领域取得显著进展, 通过整合化学转化的多样性和生物催化的选择性优势, 为含氟化合物的高效合成提供了创新路径。Jiang团队^[88]基于有机-酶脱羧氟化与双酶还原胺化反应模块, 构建水-油-固多相体系下的化学酶级联反应, 实现了从 β -酮酸酯到 α -单

氟和二氟甲基胺的对映选择性合成, 产率高达98%, *ee*为99%。通过酶固定化、双相体系及连续流技术优化, 反应在100 mmol/L底物浓度下近乎完全转化, 效率较游离酶批处理系统提升35倍, 展现出大规模制备手性分子的潜力。Zhang等人^[89]提出了一种“混合”化学酶途径合成氟Mycocyclosin。使用来自*Citrobacter freundii*的磷酸吡哆醛(PLP)依赖性的酪氨酸苯酚裂解酶(TPL), 将氟代苯酚转化为相应的氟代酪氨酸。再通过 N,N' -二环己基碳二亚胺(DCC)介导的酰胺化反应, 制备以Boc-酪氨酸和酪氨酸-OMe为前体的环二酪氨酸。最终, 通过工程化的MtCYP12催化双自由基偶联过程形成分子内C-C键, 构建了大环结构, 为合成具有潜在药物活性的氟化天然产物衍生物提供了新途径。最近, Tyagi团队^[90]整合电合成与生物催化, 开发了一种可持续的一锅法合成策略。使用硫酚和含氟 α,β -不饱和烯炔, 以水为溶剂, 利用电催化生成氟代硫醚中间体, 再通过来自*P. fluorescens* (PFL)的脂肪酶催化的立体选择性水解, 实现了2-氟-3-巯基丙酸衍生物的高效不对称合成。脂肪酶与电的相容性突出了酶电合成在推进环境友好型有机转化方面的巨大潜力。另外本文对近年来其他类型的酶介导的含氟化合物碳链延伸合成策略进行总结比较, 见表1。

3 总结与展望

含氟有机化合物在农用化学品、医药和功能性材料领域发挥着重要作用, 对有机氟化合物不断增长的需求刺激了有机氟化学的发展。鉴于含氟化合物合成的重要性, 本综述重点聚焦含氟化合物的生物合成策略, 详细阐述了两类核心方法: C-F键的构建以及含氟模块的碳链延伸, 其在解决氟原子引入难题上各有突破与局限: C-F键生物构建策略聚焦于解决氟原子引入的根本性科学难题, 其核心优势在于能够直接利用氟源构建新的C-F键。然而, 该策略仍受限于天然氟化酶稀缺、催化效率偏低、底物范围狭窄以及构建高度复杂氟化分子的能力有限等关键挑战。相比之下, 含氟模块碳链延伸策略则另辟蹊径, 利用生物手段将多种类型的含氟砌块高选择性地整合到碳链或复杂分子骨架中, 高效合成结构复杂、氟原子位置灵活的分子。但含氟前体的化学合成成本、跨膜转运效率以及生物合成酶对非天然含氟底物的识别与催化活性仍是亟待攻

表 1 不同酶介导含氟化合物碳链延伸的合成策略

Table 1 Synthetic strategies for enzyme-mediated carbon chain elongation of fluorinated compounds

酶种类	底物类型	氟化物	合成策略	产率(%)	ee (%)	局限性	参考文献
脂肪酶、酮还原酶	β -酮酸酯	邻位氟化醇	一锅法: 脂肪酶催化的水解、自发的脱羧氟化和酮还原酶催化的还原反应	92	99	第一步反应效率不均一, 部分底物转化率低, 影响最终收率; 放大应用限制, 难以满足工业化需求	[91]
醇脱氢酶	吡啶及其衍生物	吡啶基 α 氟化仲醇	化学合成前手性酮, 通过 <i>Lactobacillus kefir</i> 醇脱氢酶 ADH 催化不对称还原	98	>99	酶底物选择性限制, 含 CF ₃ 或 CClF ₂ 的 α -卤代酮中间体无法被 ADH 催化还原; 疏水性底物需依赖两相体系溶解, 增加操作复杂性	[92]
脂肪酶	氟化芳基羧酸乙酯衍生物	氟化芳基羧酸	Horner-Wittig 反应合成不饱和和芳基羧酸酯, Pd 催化氢化, 通过 Amano PS 脂肪酶催化动力学拆分	48	95	底物含 CF ₃ 等取代基时需微波辅助加速反应; 部分产物需二次酶促拆分或色谱柱进一步提纯	[93]
醇脱氢酶、胺转氨酶	含(杂)芳基的不对称二酮	氟化氨基醇	溴代苯乙酮衍生物与三氟乙酸乙酯反应合成前体二酮; 通过一锅法酶催化串联反应, 同时加入醇脱氢酶 ADH 和胺转氨酶 ATA, 选择性还原三氟乙酰基和胺化乙酰基	95	>99	邻位二酮因在水性介质中自发环化而无法反应; 异丙胺抑制 ADH 活性, 需延长反应时间并增加酶用量; 反应需严格控制底物和辅酶浓度, 易生成副产物	[94]
腈水解酶	腈类化合物	氟代芳烃、氟代脂环胺、三氟甲基化/五氟乙基化合物	通过腈水解酶(NIT)催化腈类化合物水解为羧酸中间体, 之后利用铱(Ir)光催化剂、氟化试剂及碱实现羧酸中间体的脱羧氟化、三氟甲基化或五氟乙基化反应	74	-	体系混浊可能导致光散射, 抑制光催化效率; 裂解液内源性羧酸竞争脱羧, 导致生成复杂副产物; 底物范围受光催化剂选择性制约	[95]
酮还原酶、醇脱氢酶	溴代苯乙酮	氟化羟基酮	化学法合成底物二酮, 再通过 KRED-112 等酮还原酶选择性还原三氟甲基羰基, 醇脱氢酶 ADH-CP 选择性还原甲基羰基, 而 ADH-RE 的动态动力学拆分可克服间位底物的选择性限制	94	98	邻位二酮因在水性介质中自发环化而无法反应, 且间位化学选择性普遍低于对位; 辅因子在反应条件下不稳定, 可能影响反应效率	[96]
丙氨酸脱氢酶、二氨基庚二酸脱氢酶	氟化丙酮酸衍生物	单氟和三氟丙氨酸	<i>Vibrio proteolyticus</i> 来源的丙氨酸脱氢酶 ALD 催化 3-氟丙酮酸还原胺化, 专一性生成 (R)-3-氟丙氨酸; 而 <i>Symbiobacterium thermophilum</i> 的二氨基庚二酸脱氢酶 DAPDH 可直接合成 (S)-3-氟丙氨酸	>90	>99	仅适用于丙氨酸骨架, 未验证其他氟化氨基酸; 三氟化底物转化率低; 部分酶催化反应中检测到含氟副产物, 影响目标产物纯度	[97]
脂肪酶、转氨酶	含氟吡啶衍生物	氟化吡啶手性胺	用 CAL-B 脂肪酶催化外消旋胺酰化进行动力学拆分; 利用不同选择性转氨酶催化前手性酮胺化	88	>99	6-F 底物因热力学和空间效应反应性差, 且动力学拆分收率受限; 体系需严格控制 pH、温度及辅因子浓度, 规模化生产时面临挑战	[98]
脂肪酶	3-苄氧基-1, 1-二氟丙-2-醇	偕二氟化醇	通过南极假丝酵母脂肪酶 B (CALB) 催化偕二氟化醇的对映体拆分, 利用手性毛细管电泳监测, 调控酶/底物比和浓度实现动力学或热力学控制	45	95	底物单一, 未验证该方法对其他化合物的适用性; 反应条件依赖性强, 受多种因素制约; 乙酰化产物可能发生水解和异构化	[99]

克的挑战. 这两种方法相辅相成, 通过持续的技术创新与策略融合, 可推动含氟化合物生物合成领域迅速发展.

未来, 随着人工智能的发展, AI人工智能以及机器学习或许可用于氟化酶的挖掘及改造, 进一步丰富氟化酶的种类^[36,100–104]. 此外, 深入研究脱氟酶降解C–F键的机理, 也可作为氟化酶的设计提供一定启发与指导. 目前, 水解脱氟酶^[105–111]以及氧化脱氟酶^[112–117]已被证实可介导C–F键的断裂过程. 可借鉴脱氟酶研究中利用氢键网络稳定氟代中间体的策略, 逆向构建能够稳定氟离子进攻过渡态的活性口袋, 进而促使C–F键的形成^[118–120]. 值得注意的是, 酶催化体系中氟化反应的关键制约因素之一在于氟负离子解离后易被水分子通过氢键作用产生溶剂化效应. 因此, 设计开发能够有效破除氟负离子溶剂化屏障、促进其高效解离氟负离子

的催化体系具有重要科学意义. 此类催化剂的成功开发, 有望为酶催化C–F键的构建提供突破性解决方案. 除此之外, 新型含氟天然产物的鉴定及其生物合成途径的研究将进一步推动生物催化有机氟化学的发展.

然而, 将上述生物合成策略从实验室规模转化为具有经济效益和规模化的工业过程, 仍面临一系列关键挑战. 生物合成路径中的C–F键形成受限于工程菌株复杂的代谢网络、含氟非天然前体以及氟离子跨膜效率低等问题. 除此之外, 工程菌株的遗传稳定性与代谢负担也影响长期生产效益. 体外酶催化策略可避免工程菌株代谢复杂等问题, 但仍需面对酶稳定性差、难以重复使用及昂贵辅因子循环再生等成本难题, 发展酶的固定化技术有望实现酶的规模化应用. 因此, 攻克上述技术瓶颈是推动含氟化合物生物合成体系突破现有应用边界, 释放其潜在产业化价值的核心前提.

参考文献

- O'Hagan D. Understanding organofluorine chemistry. An introduction to the C–F bond. *Chem Soc Rev*, 2008, 37: 308–319
- Gillis E P, Eastman K J, Hill M D, et al. Applications of fluorine in medicinal chemistry. *J Med Chem*, 2015, 58: 8315–8359
- Müller K, Faeh C, Diederich F. Fluorine in pharmaceuticals: looking beyond intuition. *Science*, 2007, 317: 1881–1886
- Ali S, Tian X, Meccia S A, et al. Highlights on U.S. FDA-approved halogen-containing drugs in 2024. *Eur J Med Chem*, 2025, 287: 117380
- Thompson S, Onega M, Ashworth S, et al. A two-step fluorinase enzyme mediated ¹⁸F labelling of an RGD peptide for positron emission tomography. *Chem Commun*, 2015, 51: 13542–13545
- Zhang C, Yan K, Fu C, et al. Biological utility of fluorinated compounds: from materials design to molecular imaging, therapeutics and environmental remediation. *Chem Rev*, 2022, 122: 167–208
- Cheng X, Ma L. Enzymatic synthesis of fluorinated compounds. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2021, 105: 8033–8058
- Furuya T, Kamlet A S, Ritter T. Catalysis for fluorination and trifluoromethylation. *Nature*, 2011, 473: 470–477
- Campbell M G, Ritter T. Modern carbon-fluorine bond forming reactions for aryl fluoride synthesis. *Chem Rev*, 2015, 115: 612–633
- Hull K L, Anani W Q, Sanford M S. Palladium-catalyzed fluorination of carbon-hydrogen bonds. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 7134–7135
- Liu W, Huang X, Cheng M J, et al. Oxidative aliphatic C–H fluorination with fluoride ion catalyzed by a manganese porphyrin. *Science*, 2012, 337: 1322–1325
- Pupo G, Ibba F, Ascough D M H, et al. Asymmetric nucleophilic fluorination under hydrogen bonding phase-transfer catalysis. *Science*, 2018, 360: 638–642
- Dooley C, Ibba F, Botlik B B, et al. Enantioconvergent nucleophilic substitution via synergistic phase-transfer catalysis. *Nat Catal*, 2025, 8: 107–115
- Lee J W, Oliveira M T, Jang H B, et al. Hydrogen-bond promoted nucleophilic fluorination: Concept, mechanism and applications in positron emission tomography. *Chem Soc Rev*, 2016, 45: 4638–4650
- Zeng T Y, Huang C Q, Zhang Y, et al. C–H fluorination promoted by pyridine *N*-oxyl radicals. *Green Chem*, 2024, 26: 8701–8705
- Hönig M, Sondermann P, Turner N J, et al. Enantioselective chemo- and biocatalysis: partners in retrosynthesis. *Angew Chem Int Ed*, 2017, 56: 8942–8973
- Li Y Y, Yuan B, Sun Z T, et al. C–H bond functionalization reactions enabled by photobiocatalytic cascades. *Green Synthesis Catal*, 2021, 2: 267–274
- Huang X, Wang B, Wang Y, et al. Photoenzymatic enantioselective intermolecular radical hydroalkylation. *Nature*, 2020, 584: 69–74

- 19 Li M L, Harrison W, Zhang Z Y, et al. Remote stereocontrol with azaarenes via enzymatic hydrogen atom transfer. *Nat Chem*, 2023, 16: 277–284
- 20 Chiang C Y, Ohashi M, Le J S, et al. Copper-dependent halogenase catalyses unactivated C–H bond functionalization. *Nature*, 2025, 638: 126–132
- 21 Neugebauer M E, Kissman E N, Marchand J A, et al. Reaction pathway engineering converts a radical hydroxylase into a halogenase. *Nat Chem Biol*, 2022, 18: 171–179
- 22 Biegasiewicz K F, Cooper S J, Gao X, et al. Photoexcitation of flavoenzymes enables a stereoselective radical cyclization. *Science*, 2019, 364: 1166–1169
- 23 Trimble J S, Crawshaw R, Hardy F J, et al. A designed photoenzyme for enantioselective [2+2] cycloadditions. *Nature*, 2022, 611: 709–714
- 24 Sun N, Huang J, Qian J, et al. Enantioselective [2+2]-cycloadditions with triplet photoenzymes. *Nature*, 2022, 611: 715–720
- 25 Rosén J, Gottfries J, Muresan S, et al. Novel chemical space exploration via natural products. *J Med Chem*, 2009, 52: 1953–1962
- 26 Tay D W P, Yeo N Z X, Adaikkappan K, et al. 67 million natural product-like compound database generated via molecular language processing. *Sci Data*, 2023, 10: 296
- 27 O'Hagan D, Deng H. Enzymatic fluorination and biotechnological developments of the fluorinase. *Chem Rev*, 2015, 115: 634–649
- 28 Murphy C D, Schaffrath C, O'Hagan D. Fluorinated natural products: the biosynthesis of fluoroacetate and 4-fluorothreonine in *Streptomyces cattleya*. *Chemosphere*, 2003, 52: 455–461
- 29 O'Hagan D, Schaffrath C, Cobb S L, et al. Biochemistry: biosynthesis of an organofluorine molecule. *Nature*, 2002, 416: 279
- 30 Zhao C, Li P, Deng Z, et al. Insights into fluorometabolite biosynthesis in *Streptomyces cattleya* DSM46488 through genome sequence and knockout mutants. *Bioorg Chem*, 2012, 44: 1–7
- 31 Deng H, Ma L, Bandaranayaka N, et al. Identification of fluorinases from *Streptomyces* sp MA37, *Norcardia brasiliensis*, and *Actinoplanes* sp N902-109 by genome mining. *ChemBioChem*, 2014, 15: 364–368
- 32 Ma L, Bartholome A, Tong M H, et al. Identification of a fluorometabolite from *Streptomyces* sp. MA37: (2R3S4S)-5-fluoro-2,3,4-trihydroxypentanoic acid. *Chem Sci*, 2015, 6: 1414–1419
- 33 Ma L, Li Y F, Meng L P, et al. Biological fluorination from the sea: discovery of a SAM-dependent nucleophilic fluorinating enzyme from the marine-derived bacterium *Streptomyces xinghaiensis* NRRL B24674. *RSC Adv*, 2016, 6: 27047–27051
- 34 Huang S, Ma L, Tong M H, et al. Fluoroacetate biosynthesis from the marine-derived bacterium *Streptomyces xinghaiensis* NRRL B-24674. *Org Biomol Chem*, 2014, 12: 4828–4831
- 35 Sooklal S A, De Koning C, Brady D, et al. Identification and characterisation of a fluorinase from *Actinopolyspora mزابensis*. *Protein Expr Purif*, 2020, 166: 105508
- 36 Pardo I, Bednar D, Calero P, et al. A nonconventional archaeal fluorinase identified by *in silico* mining for enhanced fluorine biocatalysis. *ACS Catal*, 2022, 12: 6570–6577
- 37 Eustáquio A S, O'Hagan D, Moore B S. Engineering fluorometabolite production: fluorinase expression in *Salinispora tropica* yields fluorosalinosporamide. *J Nat Prod*, 2010, 73: 378–382
- 38 Eustáquio A S, Moore B S. Mutasynthesis of fluorosalinosporamide, a potent and reversible inhibitor of the proteasome. *Angew Chem Int Ed*, 2008, 47: 3936–3938
- 39 Shao Z Y, Rao G D, Li C, et al. Refactoring the silent spectinabilin gene cluster using a plug-and-play scaffold. *ACS Synth Biol*, 2013, 2: 662–669
- 40 Sun H H, Yeo W L, Lim Y H, et al. Directed evolution of a fluorinase for improved fluorination efficiency with a non-native substrate. *Angew Chem Int Ed*, 2016, 55: 14277–14280
- 41 Festa A A, Storozhenko O A, Voskressensky L G, et al. Visible light-mediated halogenation of organic compounds. *Chem Soc Rev*, 2023, 52: 8678–8698
- 42 Gkotsi D S, Ludewig H, Sharma S V, et al. A marine viral halogenase that iodates diverse substrates. *Nat Chem*, 2019, 11: 1091–1097
- 43 Butler A, Carter-Franklin J N. The role of vanadium bromoperoxidase in the biosynthesis of halogenated marine natural products. *Nat Prod Rep*, 2004, 21: 180–188
- 44 Jiang Y, Yao M, Niu H, et al. Enzyme engineering renders chlorinase the activity of fluorinase. *J Agric Food Chem*, 2024, 72: 1203–1212
- 45 Zhao Q, Chen Z, Soler J, et al. Engineering non-haem iron enzymes for enantioselective C(sp³)-F bond formation via radical fluorine transfer.

- [Nat Synth](#), 2024, 3: 958–966
- 46 Zhao L P, Mai B K, Cheng L, et al. Biocatalytic enantioselective C(*sp*³)-H fluorination enabled by directed evolution of non-haem iron enzymes. [Nat Synth](#), 2024, 3: 967–975
- 47 Runguphan W, Maresh J J, O'Connor S E. Silencing of tryptamine biosynthesis for production of nonnatural alkaloids in plant culture. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2009, 106: 13673–13678
- 48 Thuronyi B W, Privalsky T M, Chang M C Y. Engineered fluorine metabolism and fluoropolymer production in living cells. [Angew Chem Int Ed](#), 2017, 56: 13637–13640
- 49 Walker M C, Thuronyi B W, Charkoudian L K, et al. Expanding the fluorine chemistry of living systems using engineered polyketide synthase pathways. [Science](#), 2013, 341: 1089–1094
- 50 Ad O, Thuronyi B W, Chang M C Y. Elucidating the mechanism of fluorinated extender unit loading for improved production of fluorine-containing polyketides. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2017, 114: E660–E668
- 51 Rittner A, Joppe M, Schmidt J J, et al. Chemoenzymatic synthesis of fluorinated polyketides. [Nat Chem](#), 2022, 14: 1000–1006
- 52 Thuronyi B W, Chang M C Y. Synthetic biology approaches to fluorinated polyketides. [Acc Chem Res](#), 2015, 48: 584–592
- 53 Sirirungruang S, Ad O, Privalsky T M, et al. Engineering site-selective incorporation of fluorine into polyketides. [Nat Chem Biol](#), 2022, 18: 886–893
- 54 Huang H M, Garduño-Castro M H, Morrill C, et al. Catalytic cascade reactions by radical relay. [Chem Soc Rev](#), 2019, 48: 4626–4638
- 55 Sibi M P, Manyem S, Zimmerman J. Enantioselective radical processes. [Chem Rev](#), 2003, 103: 3263–3296
- 56 Guo R, Chen H, Yang Y. Photoenzymes for radical C–C coupling. [Nat Catal](#), 2022, 5: 582–583
- 57 Kato S, Fujisawa S, Adachi Y, et al. NHC-mediated radical acylation catalyzed by thiamine- and flavin-dependent enzymes. [J Am Chem Soc](#), 2025, 147: 14837–14844
- 58 Fu Y, Chen H, Fu W, et al. Engineered P450 atom-transfer radical cyclases are bifunctional biocatalysts: reaction mechanism and origin of enantioselectivity. [J Am Chem Soc](#), 2022, 144: 13344–13355
- 59 Zhao B B, Feng J Q, Yu L, et al. Direct visible-light-excited flavoproteins for redox-neutral asymmetric radical hydroarylation. [Nat Catal](#), 2023, 6: 996–1004
- 60 Liu Y, Bender S G, Sorigue D, et al. Asymmetric synthesis of α -chloroamides via photoenzymatic hydroalkylation of olefins. [J Am Chem Soc](#), 2024, 146: 7191–7197
- 61 Harrison W, Jiang G, Zhang Z, et al. Photoenzymatic asymmetric hydroamination for chiral alkyl amine synthesis. [J Am Chem Soc](#), 2024, 146: 10716–10722
- 62 Li M L, Yuan Y J, Harrison W, et al. Asymmetric photoenzymatic incorporation of fluorinated motifs into olefins. [Science](#), 2024, 385: 416–421
- 63 Duan X Y, Cui D, Wang M D, et al. Ground-state flavin-dependent enzymes catalyzed enantioselective radical trifluoromethylation. [Nat Commun](#), 2025, 16: 1225
- 64 Huang C Q, Jin X R, Liu Z Y, et al. Photoenzymatic enantioselective synthesis of fluorinated amides with remote stereocenter. [Nat Commun](#), 2025, 16: 5753
- 65 Ushimaru R, Cha L, Shimo S, et al. Mechanistic analysis of stereodivergent nitroalkane cyclopropanation catalyzed by nonheme iron enzymes. [J Am Chem Soc](#), 2023, 145: 24210–24217
- 66 Vila M A, Steck V, Rodriguez Giordano S, et al. C–H amination via nitrene transfer catalyzed by mononuclear non-heme iron-dependent enzymes. [ChemBioChem](#), 2020, 21: 1981–1987
- 67 Yu C P, Tang Y J, Cha L D, et al. Elucidating the reaction pathway of decarboxylation-assisted olefination catalyzed by a mononuclear non-heme iron enzyme. [J Am Chem Soc](#), 2018, 140: 15190–15193
- 68 Zhang J G, Huls A J, Palacios P M, et al. Biocatalytic generation of trifluoromethyl radicals by nonheme iron enzymes for enantioselective alkene difunctionalization. [J Am Chem Soc](#), 2024, 146: 34878–34886
- 69 He H, Yan J X, Zhu J X, et al. Enantioselective trifluoromethylazidation of styrenyl olefins catalyzed by an engineered nonheme iron enzyme. [Angew Chem Int Ed](#), 2025, 64: e202423507
- 70 Kong L, Zhang J, Wang H, et al. B12-dependent radical SAM enzymes catalyze C-fluoromethylation via a CH₂F-cobalamin intermediate. [Angew Chem Int Ed](#), 2025, 64: e202419815
- 71 Bos M, Poisson T, Pannecoucke X, et al. Recent progress toward the synthesis of trifluoromethyl- and difluoromethyl-substituted

- cyclopropanes. *Chemistry*, 2017, 23: 4950–4961
- 72 Costantini M, Mendoza A. Modular enantioselective synthesis of *cis*-cyclopropanes through self-sensitized stereoselective photodecarboxylation with benzothiazolines. *ACS Catal*, 2021, 11: 13312–13319
- 73 Tinoco A, Steck V, Tyagi V, et al. Highly diastereo- and enantioselective synthesis of trifluoromethyl-substituted cyclopropanes via myoglobin-catalyzed transfer of trifluoromethylcarbene. *J Am Chem Soc*, 2017, 139: 5293–5296
- 74 Schaus L, Das A, Knight A M, et al. Protoglobin-catalyzed formation of *cis*-trifluoromethyl-substituted cyclopropanes by carbene transfer. *Angew Chem Int Ed*, 2023, 62: e202208936
- 75 Yuan F, Ding J, Sun Y, et al. Synthesis of trifluoromethylated monoterpenes by an engineered cytochrome P450. *Chemistry*, 2024, 30: e202302936
- 76 Zhang R K, Chen K, Huang X, et al. Enzymatic assembly of carbon-carbon bonds via iron-catalysed sp^3 C–H functionalization. *Nature*, 2019, 565: 67–72
- 77 Zhang J, Huang X, Zhang R K, et al. Enantiodivergent α -amino C–H fluoroalkylation catalyzed by engineered cytochrome P450s. *J Am Chem Soc*, 2019, 141: 9798–9802
- 78 Huang X, Garcia-Borràs M, Miao K, et al. A biocatalytic platform for synthesis of chiral α -trifluoromethylated organoborons. *ACS Cent Sci*, 2019, 5: 270–276
- 79 Perrin C L, Chang K L. The complete mechanism of an aldol condensation. *J Org Chem*, 2016, 81: 5631–5635
- 80 Yamashita Y, Yasukawa T, Yoo W J, et al. Catalytic enantioselective aldol reactions. *Chem Soc Rev*, 2018, 47: 4388–4480
- 81 Windle C L, Berry A, Nelson A. Aldolase-catalysed stereoselective synthesis of fluorinated small molecules. *Curr Opin Chem Biol*, 2017, 37: 33–38
- 82 Fang J, Hait D, Head-Gordon M, et al. Chemoenzymatic platform for synthesis of chiral organofluorines based on type II aldolases. *Angew Chem Int Ed*, 2019, 58: 11841–11845
- 83 Fang J, Turner L E, Chang M C Y. Biocatalytic asymmetric construction of secondary and tertiary fluorides from β -fluoro- α -ketoacids. *Angew Chem Int Ed*, 2022, 61: e202201602
- 84 Jin X, Huang C, Cui C, et al. Chemoenzymatic synthesis of fluorinated L- α -amino acids. *ACS Sustain Chem Eng*, 2024, 12: 13645–13653
- 85 Huang C Q, Jin X R, Kan Y Y, et al. Biocatalytic synthesis of aryl and heteroaryl γ -hydroxy- α -amino acids via an aldolase–transaminase one-pot reaction. *ACS Sustain Chem Eng*, 2025, 13: 1637–1647
- 86 Wang W R, Zhao H M, Yu N H, et al. Stable *S*-adenosylmethionine analogue for enzymatic fluoromethylation. *ACS Catal*, 2023, 13: 13729–13734
- 87 Mei Z L, Li C C, Han X, et al. Enzymatic stereodivergent access to fluorinated β -lactam pharmacophores via triple-parameter engineered ketoreductases. *ACS Catal*, 2024, 14: 6358–6368
- 88 Huang C, Liu Y T, Kong W X, et al. Continuous-flow chemoenzymatic enantioselective synthesis of chiral α -mono- and difluoromethyl amines. *ACS Catal*, 2023, 13: 12960–12969
- 89 Li S H, Zhang X, Mei Z L, et al. Chemoenzymatic synthesis of fluorinated mycrocyclosin enabled by the engineered cytochrome P450-catalyzed biaryl coupling reaction. *J Am Chem Soc*, 2024, 146: 19962–19973
- 90 Kaur P, Tyagi V. Merging electrosynthesis and biocatalysis to access sulfur-based chiral α -fluorinated carboxylic acids. *J Org Chem*, 2025, 90: 5378–5392
- 91 Fan J J, Peng Y Z, Xu W H, et al. Double enzyme-catalyzed one-pot synthesis of enantiocomplementary vicinal fluoro alcohols. *Org Lett*, 2020, 22: 5446–5450
- 92 Broese T, Ehlers P, Langer P, et al. Chemoenzymatic asymmetric synthesis of pyridine-based α -fluorinated secondary alcohols. *ChemBioChem*, 2021, 22: 3314–3318
- 93 Kolodiaznyy O I, Kolodiazna A O, Faiziiev O, et al. Enzymatic deracemization of fluorinated arylcarboxylic acids: chiral enzymatic analysis and absolute stereochemistry using chiral HPLC. *Symmetry*, 2024, 16: 1150
- 94 González-Martínez D, Gotor V, Gotor-Fernández V. Chemo- and stereoselective synthesis of fluorinated amino alcohols through one-pot reactions using alcohol dehydrogenases and amine transaminases. *Adv Synth Catal*, 2020, 362: 5398–5410
- 95 Angiolini S, Bruton I, Bering L, et al. Integrating enzymes with photoredox catalysis for conversion of nitriles into fluorinated products. *ChemCatChem*, 2025

- 96 Grau B T, Devine P N, DiMichele L N, et al. Chemo- and enantioselective routes to chiral fluorinated hydroxyketones using ketoreductases. [Org Lett](#), 2007, 9: 4951–4954
- 97 Nieto-Domínguez M, Sako A, Enemark-Rasmussen K, et al. Enzymatic synthesis of mono- and trifluorinated alanine enantiomers expands the scope of fluorine biocatalysis. [Commun Chem](#), 2024, 7: 104
- 98 López-Iglesias M, González-Martínez D, Rodríguez-Mata M, et al. Asymmetric biocatalytic synthesis of fluorinated pyridines through transesterification or transamination: computational insights into the reactivity of transaminases. [Adv Synth Catal](#), 2017, 359: 279–291
- 99 Pomeisl K, Lamatová N, Šolínová V, et al. Enantioselective resolution of side-chain modified *gem*-difluorinated alcohols catalysed by *Candida antarctica* lipase B and monitored by capillary electrophoresis. [Bioorg Med Chem](#), 2019, 27: 1246–1253
- 100 Abramson J, Adler J, Dunger J, et al. Accurate structure prediction of biomolecular interactions with AlphaFold 3. [Nature](#), 2024, 630: 493–500
- 101 Lauko A, Pellock S J, Sumida K H, et al. Computational design of serine hydrolases. [Science](#), 2025, 388: eadu2454
- 102 Johnson S R, Fu X, Viknander S, et al. Computational scoring and experimental evaluation of enzymes generated by neural networks. [Nat Biotechnol](#), 2025, 43: 396–405
- 103 Qian H, Wang Y X, Zhou X B, et al. ESM-Ezy: a deep learning strategy for the mining of novel multicopper oxidases with superior properties. [Nat Commun](#), 2025, 16: 3274
- 104 Tripp A, Braun M, Wieser F, et al. Click, compute, create: a review of web-based tools for enzyme engineering. [ChemBioChem](#), 2024, 25: e202400092
- 105 Zhang H, Tian S, Yue Y, et al. Semirational design of fluoroacetate dehalogenase RPA1163 for kinetic resolution of α -fluorocarboxylic acids on a gram scale. [ACS Catal](#), 2020, 10: 3143–3151
- 106 Li Y, Yue Y, Zhang H, et al. Harnessing fluoroacetate dehalogenase for defluorination of fluorocarboxylic acids: *in silico* and *in vitro* approach. [Environ Int](#), 2019, 131: 104999
- 107 Chen K W, Chen J N, Zhang J, et al. Understanding the cooperative effects in the catalysis of homodimeric fluoroacetate dehalogenase. [Sci China Chem](#), 2024, 67: 2382–2391
- 108 Farajollahi S, Lombardo N V, Crenshaw M D, et al. Defluorination of organofluorine compounds using dehalogenase enzymes from *Delftia acidovorans* (D4B). [ACS Omega](#), 2024, 9: 28546–28555
- 109 Cuetos A, García-Ramos M, Fischereder E M, et al. Catalytic promiscuity of transaminases: preparation of enantioenriched β -fluoroamines by formal tandem hydrodefluorination/deamination. [Angew Chem Int Ed](#), 2016, 55: 3144–3147
- 110 Wackett L P. Confronting PFAS persistence: enzymes catalyzing C–F bond cleavage. [Trends Biochem Sci](#), 2025, 50: 71–83
- 111 Tong W, Huang Q, Li M, et al. Enzyme-catalyzed C–F bond formation and cleavage. [Bioresour Bioprocess](#), 2019, 6: 46
- 112 Tiedt O, Mergelsberg M, Boll K, et al. ATP-dependent C–F bond cleavage allows the complete degradation of 4-fluoroaromatics without oxygen. [mBio](#), 2016, 7: e00990
- 113 Li J, Griffith W P, Davis I, et al. Cleavage of a carbon-fluorine bond by an engineered cysteine dioxygenase. [Nat Chem Biol](#), 2018, 14: 853–860
- 114 Wang Y, Davis I, Shin I, et al. Biocatalytic carbon-hydrogen and carbon-fluorine bond cleavage through hydroxylation promoted by a histidyl-ligated heme enzyme. [ACS Catal](#), 2019, 9: 4764–4776
- 115 Huang Q, Zhang X, Chen Q Q, et al. Discovery of a P450-catalyzed oxidative defluorination mechanism toward chiral organofluorines: uncovering a hidden pathway. [ACS Catal](#), 2022, 12: 265–272
- 116 Zhang Y, Morkawes T, de Visser S P. Insights into cytochrome P450 enzyme catalyzed defluorination of aromatic fluorides. [Angew Chem Int Ed](#), 2023, 62: e202310785
- 117 Ye D Y, Wang Z Y, Qian X F, et al. Biodegradation of per- and polyfluoroalkyl substances: microbes, enzymes and their interactions. [Rev Environ Sci Biotechnol](#), 2025, 24: 43–62
- 118 Yue Y, Fan J, Xin G, et al. Comprehensive understanding of fluoroacetate dehalogenase-catalyzed degradation of fluorocarboxylic acids: a QM/MM approach. [Environ Sci Technol](#), 2021, 55: 9817–9825
- 119 Zhang Y, Cao Y X, Sastri C V, et al. Defluorination of fluorophenols by a heme dehaloperoxidase: insights into the defluorination mechanism. [ACS Catal](#), 2025, 15: 3898–3912
- 120 Probst S I, Felder F D, Poltorak V, et al. Enzymatic carbon-fluorine bond cleavage by human gut microbes. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2025, 122: e2504122122

Advances in the biosynthesis of fluorinated compounds

WEI LongChen^{1,2}, HUANG ChaoQun^{1,2} & LUO YunZi^{1,2,3*}

¹ State Key Laboratory of Synthetic Biology, Frontiers Science Center for Synthetic Biology (Ministry of Education), School of Synthetic Biology and Biomanufacturing, Tianjin University, Tianjin 300072, China

² Haihe Laboratory of Sustainable Chemical Transformations, Tianjin 300192, China

³ Georgia Tech Shenzhen Institute, Tianjin University, Shenzhen 518071, China

* Corresponding author, E-mail: yunzi.luo@tju.edu.cn

The introduction of fluorine atoms can significantly enhance a molecule's metabolic stability, membrane permeability, and target-binding affinity. As such, fluorinated compounds hold a prominent position in pharmaceutical development and biomaterial preparation, demonstrating broad application prospects. However, traditional chemical synthesis methods face limitations in controlling stereoselectivity and chemoselectivity, hindering the efficient synthesis of fluorine-containing compounds. With the advancement of synthetic biology, biosynthetic approaches offer a novel strategy for the efficient production of complex fluorinated molecules. This article provides a systematic review of the latest advances in the biosynthesis of fluorinated compounds, with a focus on C–F bond formation and the carbon chain extension processes of fluorinated building blocks. It covers research progress ranging from the elucidation of biosynthetic pathways to the construction of *in vitro* enzymatic catalytic systems, while analyzing the discovery of relevant biosynthetic routes, modular recombination strategies, and enzymatic catalytic mechanisms. Meanwhile, it discusses key scientific challenges in the biosynthesis of fluorinated compounds such as substrate limitations, and it provides insights into future research directions in this field.

fluorine-containing compounds, biosynthesis, enzyme catalysis, C–F bond construction, carbon chain extension

doi: [10.1360/SSV-2025-0207](https://doi.org/10.1360/SSV-2025-0207)