

基于指示剂置换法的大环荧光传感平台的构建及应用研究进展

谌泽亚 李诗瑶 杨留攀* 王力立* 姚欢*

(南华大学药学院 湖南衡阳 421001)

摘要 超分子荧光传感器可以解决与环境及人类健康相关的检测和成像问题。指示剂置换法(IDA)是一种能够将分子识别所引起的化学变化转化为易于观察的荧光信号的超分子荧光传感方法,为分析物的检测提供了独特且创新的传感策略。近年来,由于其灵敏度高、可调节、实时和无需复杂合成的优点,基于非共价结合的IDA得到了快速的发展。为了满足IDA发展的多样化需求,超分子科学家们引入了各种超分子大环主体,如杯[n]芳烃、葫芦[n]脲及柱[n]芳烃等。根据大环进行分类,对近些年该领域的研究进展进行简要综述,重点关注在生化传感方面的应用,为今后基于IDA的新型荧光生化传感平台的构建及应用提供参考。

关键词 指示剂置换法; 超分子化学; 主-客体相互作用; 大环主体

Research Progress on the Construction and Application of
Macrocyclic Fluorescent Sensing Platform Based on
Indicator Displacement Assay

Shen, Zeya Li, Shiyao Yang, Liupan* Wang, Lili* Yao, Huan*

(School of Pharmaceutical Science, University of South China, Hengyang, Hunan 421001)

Abstract Supramolecular fluorescent sensors can address various detection and bioimaging issues related to the environment and human health. Indicator displacement assay (IDA) is a supramolecular fluorescence sensing method that can convert the chemical changes caused by molecular recognition into easily observed fluorescence signals. It provides a unique and innovative sensing method for the detection of analytes. In recent years, IDA based on non-covalent binding has been developed rapidly due to its advantages of high sensitivity, adjustability, real-time, and low synthesis effort. In order to meet the diverse needs of IDA development, a variety of supramolecular macrocyclic hosts have been involved in the construction of IDA sensors, such as calix[n]arenes, cucurbit[n]uril, pillar[n]arenes, etc. The recent research progress in this field based on different classes of macrocycles is briefly reviewed, focusing on the application in biochemical sensing, and providing a reference for the construction and application of novel fluorescent biochemical sensing platforms based on IDA in the future.

Keywords indicator displacement assay; supramolecular chemistry; host-guest interaction; macrocyclic host

近年来,随着荧光传感器的兴起和快速发展,超分子荧光传感器吸引了越来越多的国内外科研工作者的兴趣。超分子荧光传感器可以通过荧光信号的变化来反映传感器和分析物之间的识别情况,以此检测特定的化学物质或周围环境的变化^[1-8]。目前,基于“荧光团-间隔基-主体”设计的荧光传感器已经被用来解决科学、医学、技术及工程等多个领域的难题^[1]。但是,这种荧光传感器通常需要比较复杂的合成工作。与之相比,指示剂

置换法(Indicator Displacement Assay, IDA)是一种基于指示剂、目标分析物以及主体之间的非共价相互作用的策略,具有低合成工作量、响应快速及灵敏度高等优点^[9-10],在生物传感领域具有广泛的应用前景。

1998年,Anslyn等^[11]首次利用IDA对柠檬酸盐进行了荧光检测。在该研究中,三足阴离子主体(1,3,5-取代-2,4,6-三乙基苯)具有三个带正电荷的胍基,通过静电相互作用与带负电荷的荧光团(5-羧基荧光素)形成主客

* Corresponding authors. E-mail: yanglp@usc.edu.cn; wangll@usc.edu.cn; yaoh@usc.edu.cn

Received October 20, 2023; revised November 15, 2023; published online November 30, 2023.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 22174059, 22201128), the Natural Science Foundation of Hunan Province (Nos. 2022JJ40363, 2022JJ40365), the Young Science and Technology Innovation Program of Hunan Province (No. 2022RC1230) and the China Postdoctoral Science Foundation (No. 2022M721542).

国家自然科学基金(Nos. 22174059, 22201128)、湖南省自然科学基金(Nos. 2022JJ40363, 2022JJ40365)、湖南青年科技创新计划(No. 2022RC1230)和中国博士后科学基金(No. 2022M721542)资助项目。

体复合物(图 1)。主客体复合物内发生的电荷转移可以导致荧光团的荧光淬灭。当目标分析物柠檬酸盐存在时,通过静电相互作用和氢键作用,以更强的结合亲和力与三足阴离子主体相结合,从而置换出荧光团,导致荧光恢复。因此可以通过荧光信号的变化来检测柠檬酸盐。

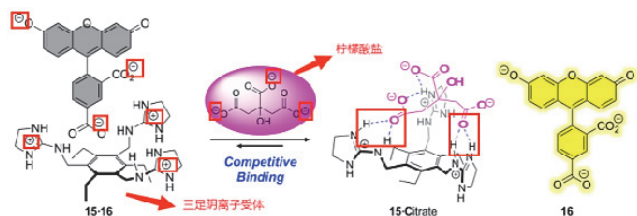


图 1 基于三足阴离子主体-荧光团复合物的柠檬酸盐的荧光传感^[1]

Figure 1 Fluorescent sensing for citrate based on atripodal anion host-fluorophore complex^[1]

自 IDA 首次阐述以来^[11],包括 Anslyn 等在内的许多团队在 IDA 领域进行了多次创新和尝试^[12-16]。由于主客体间的非共价作用受到盐等条件的强烈影响以及主体与染料在低浓度时易解离等缺点,在研究之初,IDA 被认为只适用于检测水溶液中适宜浓度的目标分析物^[17-19]。但随着 IDA 策略的不断发展与完善,目前已经实现了在生物流体(如尿液、血清和唾液等)中以及在活细胞中定性定量检测目标分析物^[20-24]。同时 IDA 在生物成像方面的阻碍(如干扰信号、背景噪声等)也已经得到解决^[25]。除此之外,科研工作者们还成功利用 IDA 构建了传感器阵列用于更好地分析混合物中的单个分析物,以及同时分析混合物中的多个分析物^[21,26]。本文将依据不同大环主体分类,综述近些年基于杯芳烃、葫芦脲、柱芳烃和其它大环主体构建的 IDA 及其在分析检测方面的发展历程,希望为今后 IDA 领域的应用提供参考。

1 基于杯芳烃的 IDA

20 世纪 70 年代末, Gutsche 等^[27]首次合成了第三代大环,并命名为杯[n]芳烃($n \geq 4$)。它是由亚甲基桥连的羟基取代芳环,具有可调的骨架和可控的构象,可以与阳离子以及中性客体结合^[19]。杯[n]芳烃与荧光团形成主客体复合物可以改变荧光团的光物理性质,将杯[n]芳烃与客体间的相互作用转换为可检测的光学信号,从而检测分析物的浓度。

2006 年, Nau 课题组^[28]提出了一种用于检测胆碱和肉碱衍生物的水溶性超分子荧光传感器。他们观察到,对磺酸基杯[4]芳烃(CX4)与指示剂偶氮烷烃 2,3-二氮杂双环[2.2.2]辛-2-烯(DBO)组成超分子传感器时,会发生明显的荧光猝灭。当目标分析物胆碱和肉碱衍生物通过

疏水作用、静电和阳离子- π 相互作用将 DBO 从主体空腔中置换出来,荧光团和大环主体之间的荧光猝灭消失,导致荧光恢复。

由于主客体之间的非共价作用受到盐等其他条件的强烈影响,IDA 通常用于水溶液中目标分析物的检测,而不适用于生理盐水或生物流体中分析物的检测。近些年,通过国内外科研工作者的持续努力,这些问题得到了有效解决。2016 年,李灿鹏课题组^[29]成功将 IDA 应用于人血清样品中乌头碱的高灵敏性和选择性检测。他们选择对磺化杯[8]芳烃官能化的还原氧化石墨烯(SCX8-RGO)作为主体,番红 T (ST)、罗丹明 B (RhB)和丁基罗丹明 B (BRB)作为荧光指示剂。由于石墨烯具有良好的猝灭性能,指示剂进入主体空腔之后发生荧光共振能量转移(FRET),导致荧光猝灭。将乌头碱添加到指示剂-主体复合物中,乌头碱以更高的结合亲和力置换出指示剂,导致原本猝灭的荧光恢复,从而实现乌头碱的检测。

在指示剂置换法中,主体对分析物的低选择性可以广泛地靶向多种分析物,而不需要为每个分析物单独合成特异性主体。但是同时,低选择性也使得主体对具有互补电荷和尺寸的干扰物质的竞争性结合非常敏感。这种物质广泛存在于多种流体基质中,尤其是生物样品中,限制了 IDA 在体内外的应用。

2014 年, Nau 课题组^[20]利用 IDA 成功监测了活细胞中生物有机分析物的摄取和运输(图 2)。他们在研究中发现,荧光染料光泽素(LCG)和对磺酸基杯[4]芳烃(CX4)紧密结合时具有较低的初始荧光强度。当活细胞摄取生物有机分析物(鱼精蛋白、胆碱和乙酰胆碱)后,由于与主体更高的结合亲和力,分析物从主体空腔中置

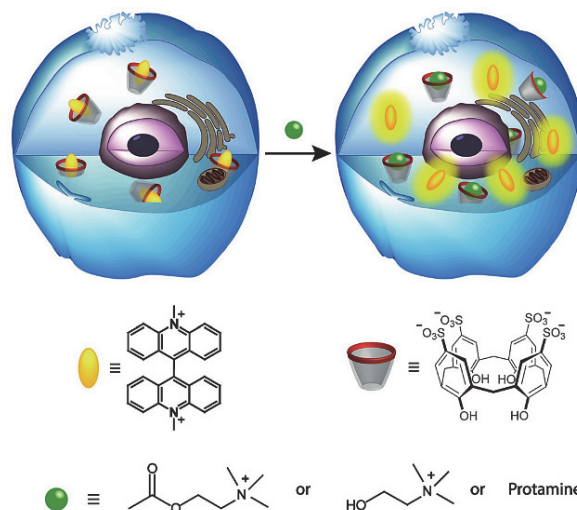


图 2 利用 IDA 监测活细胞中生物有机分析物的摄取和运输的示意图^[20]

Figure 2 Schematic illustration of monitoring the uptake and transport of organic analytes in living cells by using IDA^[20]

换出 LCG, 导致荧光恢复. 当 CX4/LCG 传感器与活成纤维细胞(V79)和中国仓鼠卵巢细胞(CHO)孵育后, 可以对活 V79 和 CHO 细胞中的细胞摄取进行生物成像. 这项研究成功构建了基于活细胞的 IDA 传感器. 随后在 2019 年, 郭东升课题组^[30]成功地用 IDA 监测了活细胞中的缺氧环境. 当荧光指示剂罗丹明 123 (Rho123)与主体偶氮杯[4]芳烃(CAC4A)结合形成主客体复合物时, 表现出荧光淬灭(图 3). 然而在低氧条件下, 由于生物还原酶过度表达, CAC4A 的偶氮基团被选择性还原并转化为氨基, 导致 Rho123 的释放和荧光恢复, 因此可以实现活细胞中缺氧环境的监测.

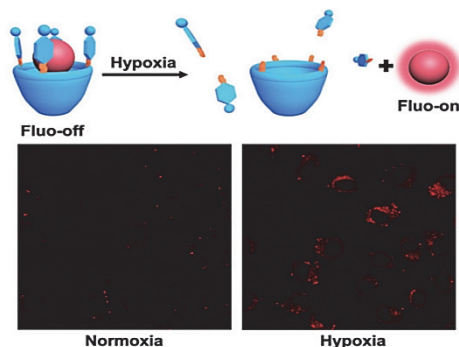


图 3 缺氧反应系统的构建策略^[30]

Figure 3 Strategies for creating hypoxia-responsive systems^[30]

2018 年, 郭东升课题组^[21]通过胍基修饰杯芳烃(GC5A)和染料荧光素(FI)主客体对实现了对癌症生物标志物溶血磷脂酸(LPA)的纳摩尔水平的超灵敏选择性检测(图 4). 当 FI 与 GC5A 结合形成荧光主客体对时, FI 显示出荧光淬灭. 然而, 当 LPA 借助盐桥相互作用、疏水相互作用、C—H $\cdots\pi$ 和 C—H $\cdots$ O 相互作用置换 FI 后, 荧光发射恢复. 这种基于 IDA 的传感策略有望用于卵巢癌和相关妇科癌的早期诊断, 但同时也面临着一个棘手的问题, 三磷酸腺苷(ATP)显示出比 LPA 更明显的荧光响应. 该课题组通过差分传感解决了这个问题. 差分传感依赖于分析物对整个主体阵列的复合响应, 具有更高的准确性和抗干扰性. 他们另外引入杯[4]芳烃(GC4A)作为主体, Al(III)酞菁氯化物四磺酸(AlPcS₄)作为指示剂. 染料 AlPcS₄ 与 GC5A 和 GC4A 的键合作用很强且具有明显的荧光猝灭. 而 LPA 只能与 GC5A 形成主客体复合物, 不能与 GC4A 结合. 因此, GC5A 作为主体时的荧光响应(I_{LPA}/I_{ATP})远大于 GC4A 作为主体时的荧光响应. 他们选用 GC5A•FI、GC5A•AlPcS₄ 和 GC4A•AlPcS₄ 作为差分传感的荧光主客体对, 通过不同的荧光响应模式将 LPA 与 ATP 明确区分开来, 成功实现了 LPA 的超灵敏和选择性检测.

2019 年, 郭东升等^[22]利用 FI@GC5A 传感器, 通过

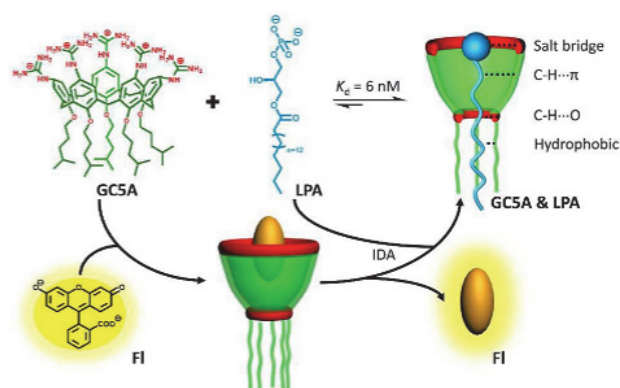


图 4 LPA 和 GC5A 之间的键合以及 LPA 荧光传感的 IDA 原理示意图^[21]

Figure 4 Schematic illustration of the binding between LPA and GC5A and the IDA principle of fluorescence sensing^[21]

IDA 对人工尿液中三甲胺 *N*-氧化物(TMAO)进行了荧光传感和定量检测(图 5). TMAO 是肠道微生物代谢产物, 跟踪其在尿液中的排泄对动脉粥样硬化、血栓形成等疾病的诊断具有重要意义. GC5A 与 TMAO 的键合常数(K_a)达到 $10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, 实现了 TMAO 的高灵敏度荧光传感. 在排除了人工尿液中各种物质的干扰之后, 该课题组成功建立了人工尿液中 TMAO 的校准曲线, 实现了生物相关的低微摩尔范围内 TMAO 的定量检测. 在另一个实例中, 由于黄素单加氧酶 3 (FMO3)可以促使三甲胺(TMA)转化为 TMAO, 故筛选 FMO3 抑制剂对 TMAO 衍生的血栓性疾病也具有重要意义. 由十一味草药组成的中药血府逐瘀汤具有抗血栓作用, 是绝佳的研究对象, 有助于揭示中医药治疗血栓性疾病的科学机理. 2021 年, 郭东升等^[24]利用对磺酸杯[4]芳烃和噻嗪 1 (SC4A•OX1)这一荧光主客体对来评价血府逐瘀汤中生物活性化合物对 FMO3 活性的影响. 当 OX1 与大环主体形成主客体复合物, 分子间电荷转移(ICT)导致荧光淬灭. TMA 可以通过静电相互作用和 C—H $\cdots\pi$ 相互作用, 以较高的结合亲和力将 OX1 从主体空腔中置换出来, 从而中断 ICT, 导致荧光恢复, 而 TMAO 没有足够的亲和力置换 OX1, 所以不能恢复荧光. 故当生物活性成分降低 FMO3 的活性时, 荧光发射增强. 在测试的几种化合物中, 柚皮苷、白花苷和柴胡皂苷等可以下调 FMO3 活性, 是良好的 FMO3 抑制剂. 这项研究为 FMO3 抑制剂的筛选提供了一种新的 IDA 策略.

尿酸(UA)水平过高是高尿酸血症的重要标志之一, 可对肾脏和心血管系统造成巨大损害, 其早期预警将有助于阻止疾病的恶化. 2022 年, 郭东升等^[23]通过 FI@GC5A 主客体对实现了真实尿液中 UA 浓度的可视化检测, 并具有高选择性和高灵敏度. UA 通过氢键、静电和阳离子 $\cdots\pi$ 相互作用与 GC5A 结合, 可从 GC5A•FI 复合

物中置换 FI, 导致 FI 的荧光恢复, 从而特异性地监测尿液中 UA 的浓度. 为了适应以家庭为中心的医疗保健方式, 该课题组通过配备具有颜色扫描功能的便携式智能手机实现了对 UA 的可视化检测.

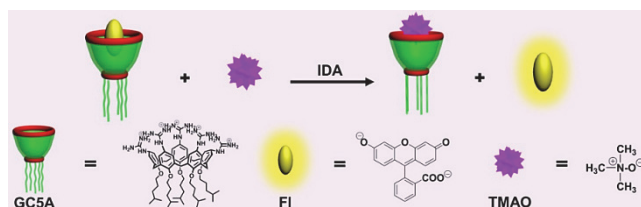


图5 通过 GC5A·FI 荧光主客体对对 TMAO 进行荧光传感的 IDA 操作原理示意图以及荧光主客体对的化学结构^[22]

Figure 5 Schematic illustration for IDA operating principle of TMAO fluorescence sensing by the GC5A·FI reporter pair and chemical structures of the tested reporter pairs^[22]

IDA 在生物成像方面的应用也面临了许多阻碍, 如指示剂和大环主体之间的亲和力不足导致游离指示剂产生干扰信号, 高亲和力的荧光主客体对荧光猝灭不完全产生的背景噪声, 指示剂被置换后的随机分布导致空间位置不一致等. 为克服 IDA 策略在生物成像上的不足, 2021 年郭东升课题组^[25]报道了荧光共振能量转移 (FRET) 辅助 IDA 的超分子生物成像策略 (图 6). 首先, 十二烷基修饰的胍基杯芳烃 (GC5A-12C) 在疏水效应下自组装形成两亲性组装体囊泡. 然后, 将疏水性指示剂 (FRET 供体) 包埋在该两亲性组装体的内部疏水部分, 从而避免被置换后的随机分布, 实现了分析物确切空间位置的指示. 接着加入 FRET 受体, 通过建立 FRET 供体和受体之间的长程偶极-偶极相互作用, 导致供体荧光显著淬灭. 这解决了荧光不完全淬灭的 IDA 局限, 从而使成像背景最小化. 最后, 目标分析物以更高的结合亲和力从大环空腔中置换 FRET 受体, 导致荧光恢复, 从而解决了主体与指示剂以及分析物之间的亲和力不足的问题. 为了证明该策略的可行性, 在活细胞中对 ATP 进行靶向成像. ATP 通过合适的尺寸大小和静电相互作用从空腔中置换出 FRET 受体, 成功使指示剂荧光恢复, 实现了 ATP 的生物成像.

单个 IDA 传感器难以区分低浓度和低亲和力的分析物, 而传感器阵列由于目标分析物和多个传感器单元的交叉反应性, 有着更高的区分指数, 所以通常需要建立传感器阵列来识别复杂体系. 2022 年, 郭东升课题组^[26]选择了 9 种不同的大环主体, 即胍基杯 $[n]$ 芳烃 (GCnAs, $n=4$ 或 5)、季铵杯 $[n]$ 芳烃 (QCnAs, $n=4$ 或 5)、磺化杯 $[n]$ 芳烃 (SCnAs, $n=4, 5, 6, 8$) 和两亲性 β -CD 作为共组装的结构单元. 选择铝 (III) 酞菁氯化物四磺酸 (AlPcS₄)、5,10,15,20-四(4-磺酸基苯基)卟啉 (TPPS)、8-苯胺基-1-萘磺酸钠 (1,8-ANS)、磷酸化四苯乙烯 (PTPE)、

2-(对甲苯胺基)萘-6-磺酸 (2,6-TNS) 和光泽精 (LCG) 作为荧光染料. 他们通过使用不同的荧光主客体对、改变共组装中主体的比率、替换染料、调整主体和染料的比例以及改变环境因素等建立了 10 个传感器阵列, 且无需复杂合成. 这些传感器阵列的辨别能力来自主体与分析物、主体与染料以及染料与分析物之间的亲和力或者荧光信号与分析物浓度之间的非线性关系. 该研究建立的传感器阵列可以对多种蛋白质加以区分. 最后使用蜂蜜 (一个具有代表性的复杂系统) 作为模型分析物, 发现可以区分来自不同花卉来源和品牌的蜂蜜样品, 以及使用糖浆或更便宜的蜂蜜掺假的蜂蜜, 证明了该传感器阵列对复杂分析物的实际适用性.

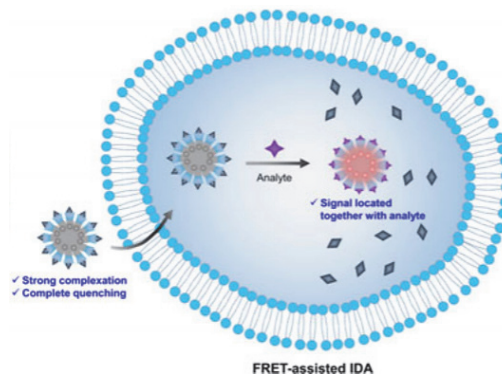


图6 FRET 辅助的 IDA 超分子生物成像策略^[25]

Figure 6 FRET assisted IDA supramolecular bioimaging strategies^[25]

2 基于葫芦脲的 IDA

葫芦脲 (Cucurbit $[n]$ uril, CB $[n]$) 是第四代大环化合物. CB $[n]$ 由 n 个甘脲单元组成, $2n$ 个亚甲基桥连. CB $[n]$ 具有疏水空腔, 两端分别分布着 n 个电负性的羰基单元, 可以结合中性和阳离子有机客体^[19,31-34].

2007 年, Nau 课题组^[35]将 IDA 与酶促反应结合, 提出了一个新的传感策略——超分子串联测定法 (无标记连续酶测定法). 该策略通过荧光指示剂和大环主体形成的自组装传感器实现对酶促反应的监测. 在产物选择性超分子串联测定法中, 由于大环主体与酶促反应底物的结合亲和力较弱, 与反应产物的结合较强, 因此, 底物不能从传感器中置换染料, 在溶液中显现出其未复合的形式. 当其被酶转化为产物 (强竞争者) 后, 产物逐渐从大环主体中置换荧光染料. 由于荧光指示剂与底物/产物之间的置换平衡, 可以直接通过荧光淬灭或开启对酶促反应进程进行实时监测. 在该研究中, 他们利用这一策略成功实现了氨基酸脱羧酶活性的连续监测. 随后, 该课题组^[36]又报道了底物选择性超分子串联测定 (图 7). 他们使用两种酶促反应模型进行研究. 第一种酶促反应模型是二胺氧化酶催化尸胺氧化成 5-氨基戊醛.

他们选择葫芦[7]脲(CB[7])作为大环主体, 吖啶橙(AO)作为指示剂. CB[7]与尸胺的结合常数为 $4.5 \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, 与 5-氨基戊烷的结合常数为 $1.1 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, 与 AO 的结合常数为 $2.9 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$. 在反应初始阶段, 尸胺以更高的结合亲和力占据主体空腔, AO 显示荧光淬灭. 随着酶促反应的进行, 由于 AO 与主体的结合亲和力大于产物, AO 逐渐占据空腔, 从而发射荧光. 以此监测尸胺向 5-氨基戊醛的转化进程. 第二个酶促反应模型是精氨酸酶催化精氨酸水解成鸟氨酸. 他们选择对磺基杯[4]芳烃(CX4)作为大环主体, 1-氨基甲基-2,3-二氮杂双环[2.2.2]辛-2-烯(DBO)作为荧光染料. CX4 与精氨酸的结合常数为 $6400 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, 与鸟氨酸的结合常数为 $550 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, 与 DBO 的结合常数为 $6000 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$. 在酶促反应的初始阶段, 底物精氨酸占据主体空腔, DBO 显示荧光发射. 随着酶促反应的进行, DBO 以更高的结合亲和力置换产物鸟氨酸, 从而导致荧光淬灭. 因此在精氨酸酶催化反应的过程中, DBO 在主体空腔中逐渐络合导致荧光强度逐渐降低. 该策略可以用于评价酶促反应抑制剂, 也可以监测多步生化反应.

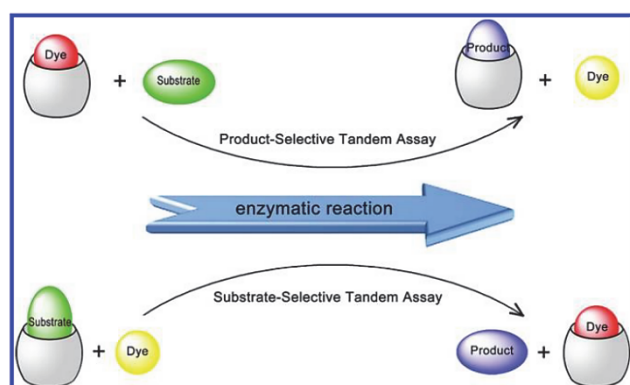


图 7 用于监测酶活性的产物与底物选择性串联测定^[36]

Figure 7 Product versus substrate-selective tandem assays for monitoring enzymatic activity^[36]

2019 年, 倪新龙课题组^[37]用吖啶染料(AC)和葫芦脲[8] (AC·CB[8])荧光主客体对成功地检测了水溶液中的肽类药物奥曲肽(Qct). 这项研究开发了一种涉及超分子 pK_a 变化的荧光传感器. 荧光指示剂 AC 在主体空腔中可以发生自聚集形成二聚体, 从而导致荧光淬灭. 当目标分析物 Qct 通过氢键作用、静电相互作用和 $\pi \cdots \pi$ 堆积作用以更高的结合亲和力置换 AC 时, AC 的荧光恢复. 值得注意的是, 这种主客体相互作用引起的超分子 pK_a 变化可以通过不同 pH 环境下的多种独特荧光信号进行目标分析.

上述两个实例是在均质溶液或水溶液中利用 CB[n] 对目标分析物进行的检测. 由于 CB[n] 的低选择性和结合金属阳离子的倾向(主客体络合物在盐水介质中易分

解), 导致 CB[n] 在生物流体中检测目标分析物存在困难.

2019 年, Biedermann 课题组^[38]报道了葫芦[8]脲(CB[8])和染料甲基吡啶对环蕃(MCP)的荧光主客体对用于检测血清中的阿尔茨海默病药物盐酸美金刚(Mem). 这是第一个血清中基于葫芦[n]脲传感测定的工作的报道. 这个荧光主客体对具有超高亲和力, 因此即使在亚摩尔至低微摩尔浓度范围内也能检测分析物美金刚.

2018 年, 黄英课题组^[39]设计了一种基于葫芦脲大环与氧杂蒽类染料派洛宁(Pyronine Y, PyY)的超分子荧光探针(2PyY@CB[8]). 该探针成功地在生物细胞内或水溶液中对抗癌药物拉帕替尼(LD)进行了识别和检测. 指示剂 PyY 在水溶液中具有强荧光, 当其与 CB[8]形成三元主客体复合物后荧光降低. 在 365 nm 紫外灯照射下显示蓝色荧光. 当加入 LD 后, LD 以更强的结合亲和力从主体空腔中置换一分子 PyY, 导致荧光强度增强, 呈现黄色荧光. 由于该探针细胞毒性低且具有良好的细胞渗透性, 可用于活细胞中 LD 的细胞成像.

2019 年, Nau 等^[40]报道了第一个通过指示剂置换法监测细胞穿透肽(CPP)在大单层囊泡(LUV)和巨单层囊泡(GUV)中膜转运的研究(图 8). 他们选择了三种不同的主体和染料来构建超分子荧光传感器, 以此来实现对各种 CPP 的差异性选择. 第一个荧光主客体对具有阳离子选择性, 由带负电荷的 CX4 和染料光泽精(LCG)组成, 可以广泛地对聚阳离子肽产生响应. 第二个主体-染料荧光主客体对由葫芦[7]脲(CB[7])和小檗碱(BE)组成, 可选择性响应 N 端芳香族氨基酸. 第三个荧光主客体对与前两个荧光主客体对不同, 不是通过指示剂置换法作用, 因此在这里不加以介绍. 该策略首先将荧光主客体对封装在囊泡内. 当 CPP 转运入囊泡时, 可以从主体空腔中置换染料, 从而导致荧光强度的变化, 为 CPP 的膜转运提供证据. 相比染料外排法, 该方法不会出现“假阳性”或者“假阴性”的情况, 因此具有更高的准确性.

由于基于 IDA 的超分子传感器的结合选择性不足, 无法对部分生物相关代谢物进行区分, 通常选用基于阵列的化学传感方法来克服这个限制, 但传感阵列的构建需要复杂的合成过程. 2022 年, Biedermann 课题组^[41]构建了葫芦[7]脲(CB[7])-染料偶联物, 通过盐诱导的荧光响应, 成功地实现了复杂介质(如血清、尿液或唾液等)中生物有机小分子的识别和区分(图 9). 他们将染料分子硝基苯并噻二唑(NBD)与 CB[7]共价连接并发生自包结, 然后采用金属阳离子-主体共络合的策略构建了盐响应性化学传感器. 这种盐响应性葫芦脲体系避免了葫芦脲结合选择性低的限制, 且不需要

合成具有差异选择性的主体库. 通过改变盐浓度或者使用不同盐类型就可以调节该传感器的分析物结合性质和光谱特征. 通过不同分析物在特定盐浓度下荧光强度变化的信息, 该传感器已经成功地实现了对 14 个生物有机小分子的差分传感.

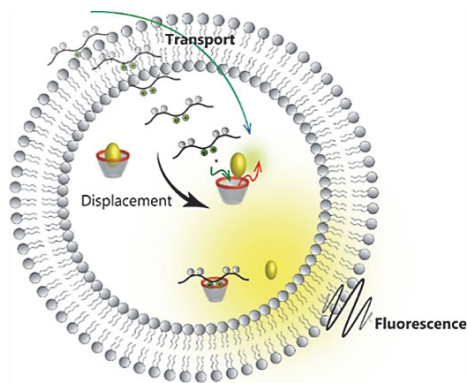


图 8 利用超分子膜转运法检测肽转运的策略^[40]

Figure 8 Strategy for supramolecular membrane transport assays to detect peptide transport^[40]

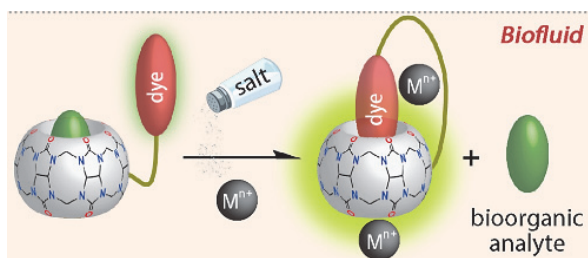


图 9 基于单分子 CB[n] 的化学传感器的示意图^[41]

Figure 9 Schematic representation of the unimolecular CB[n]-based chemosensor^[41]

3 基于柱芳烃的 IDA

第五代大环化合物柱[n]芳烃由 Ogoshi 等^[42]首次研究. 它由二烷氧基苯单元组成, 具有富电子腔和阴离子外缘, 是含铵和缺电子客体的理想主体^[43-46]. 由于其柱状三维结构和广泛的主客体结合性质, 柱芳烃常用于 IDA 传感器的构建.

2017 年, Bitter 课题组^[47]报道了使用阳离子水溶性铵盐柱[6]芳烃(AP6)的 IDA 策略, 实现了 ATP 的高选择性和灵敏度水相检测. 当 AP6 部分包裹染料达泊基磺酸钠(DSS)时, DSS 发生解聚, 从而观察到强烈的荧光发射. 当目标分析物 ATP 存在时, DSS 被置换导致其重新聚合, 发生荧光淬灭. 该 IDA 传感器显现出 ATP 相对于 ADP/GTP 的选择性响应, 被成功地用于水溶液中 ATP 的检测.

2018 年, 孙继福等^[48]报道了一种基于 AO 染料和阴离子水溶性柱[6]芳烃(WP6)的 IDA 传感器. 由于 AO@-WP6 主客体复合物分子间的电荷转移, 可以观察到 AO

发生荧光猝灭以及溶液颜色变化. 当目标分析物胆碱置换出空腔中的 AO, AO 的荧光恢复, 由此成功地实现了胆碱类化合物的双模式检测. 除此之外, 由于 WP6 与酶促反应底物胆碱和产物甜菜碱之间明显的亲和力差异, 该课题组还通过超分子串联法成功地监测了胆碱氧化酶促反应的进程.

2022 年, Kubinyi 课题组^[49]报道了以 IDA 为基础检测阳离子生物分子维生素 B1 的荧光传感器. 他们使用 WP6 和阳离子染料噻嗪 1 (OX1)组成的传感器在水溶液中对维生素 B1 进行了检测. 当 WP6 包裹 OX1 时, 由于分子间电荷转移导致荧光淬灭. 加入目标分析物后, 维生素 B1 以更高的结合亲和力置换 OX1, 从而恢复 OX1 的荧光发射. 但是, 由于 Ca^{2+} 可以与 WP6 的多个羧酸根基团结合, 故不能在维生素片中含有维生素 B5(半钙盐形式)的情况下进行维生素 B1 的检测, 但在含有维生素 B1、B2、B3 和 B6 而不含 B5 的多种维生素产品中, 测定的维 B1 含量接近声明值. 研究表明, 该 IDA 传感器提供了一种简单的策略来测定维生素片中的维生素 B1 的含量.

4 基于其他大环主体的 IDA

除了上文中提到的三种常用的大环主体外, 还有许多其他的大环化合物也可以应用于 IDA 领域, 在此进行简单的介绍.

2017 年, 李灿鹏课题组^[50]通过 IDA 策略实现了烯酰吗啉(DIME)的高灵敏度和选择性传感. 他们选择番红 T (ST)作为指示剂, 以二硫键桥联的 β -环糊精功能化的还原氧化石墨烯(SS- β -CD-RGO)作为主体来检测蔬菜(甘蓝、菠菜等)和环境样品(水、土壤)中的 DIME 残留. 他们选择二硫键连接 β -CD 以稳定 β -CD 的构象并促进主客体复合物的形成. 当 ST 与 SS- β -CD-RGO 形成主客体复合物时显示荧光淬灭. 由于 DIME@SS- β -CD-RGO 的结合常数比 ST@SS- β -CD-RGO 的结合常数大 5 倍以上, 当目标分析物 DIME 存在时, 染料 ST 被置换, 从而导致荧光恢复. 由于 ST 的荧光发射强度与 DIME 浓度之间存在线性关系, 该荧光传感器对 DIME 的检测显示出优异的分析性能.

2020 年, Park 课题组^[51]开发了一种能够对特定分析物产生独特光谱特征的 IDA 策略, 用于检测和鉴别硝基芳香族炸药(NACs). 他们选择大环苯并四硫富瓦烯-杯[4]吡咯作为主体, 萘二酰亚胺(NDI)和茈二酰亚胺(PDI)作为荧光指示剂. 在大环主体中添加 NDI 观察到荧光淬灭, 而添加 PDI 导致荧光发射. 随后将 NACs 添加于荧光团-主体复合物中, 由于 NACs 与主体更高的结合亲和力, 可以有效地置换荧光团, 根据荧光团的性质和抗

衡阴离子的性质, 可以产生相应的荧光发射强度, 在添加不同的 NACs 时观察到不同的荧光信号变化。

2019 年, 贺晓鹏课题组^[52]修饰了 7 个二氧基亚甲基-4H-吡喃的 β -环糊精(DCM₇- β -CD), 并将其作为 1-溴萘修饰肽的递送增强主体(图 10)。DCM₇- β -CD 可以与肽探针的 1-溴萘单元相互作用形成主客体复合物, 由于染料荧光素(FRET 供体)和 DCM₇- β -CD (FRET 受体)之间的荧光共振能量转移导致荧光素的荧光淬灭。该两性性主客体复合物可以进一步自组装形成超分子肽点 Spds。肽 P1 (Spd-1)和 P2 (Spd-2)中含有的 Pal-DbhLeu-F-D 和 Asp-Glu-Val-Asp (DEVD)序列是半胱天冬酶(细胞凋亡的生物标志物)的底物。因此半胱天冬酶可以对 Spd-1 和 Spd-2 中的每个肽进行切割, 从而释放荧光团, 抑制 FRET 过程并恢复荧光发射。因此实现了对细胞凋亡生物标志物的时空成像。肽 P3 (Spd-3)含有微管蛋白结合基序, 可以结合微管蛋白并从 DCM₇- β -CD 主体中释放。由于微管蛋白是细胞有丝分裂所必需的结构蛋白, Spd-3 可以对细胞整个有丝分裂过程中的微管形态变化进行成像。最后研究发现抗微生物肽(Spd-4)与单独的 P4 相比, 显示出增强的抗革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌的功效。这篇文章报道的 Spd 平台可以提高治疗肽细胞内递送的能力, 为增强肽治疗的疗效和细胞内成像提供了有效手段。

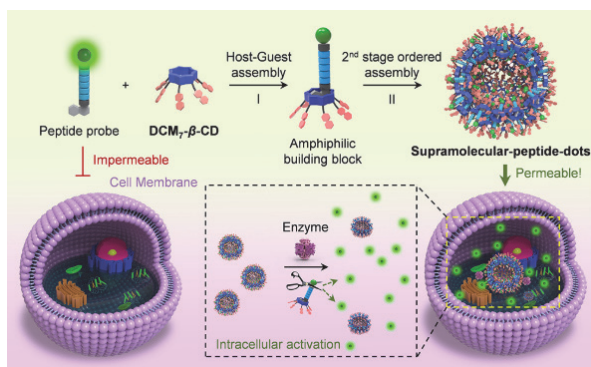


图 10 探针 P1~P3 和 DCM₇- β -CD 之间的顺序主-客体和第二阶段有序自组装的示意图^[52]

Figure 10 Schematic illustration of the sequential host-guest and second-stage ordered self-assembly between probes P1~P3 and DCM₇- β -CD^[52]

2020 年, Ballester 等^[53]以杯[4]吡咯磷酸酯-穴状配体为主体, 设计了检测肌酸酐及其亲脂性衍生物己基肌酸酐的超分子荧光传感器。在这项工作中, 他们采用了两种基于 IDA 的策略。第一种策略采用荧光苾乙烷基吡啶 N-氧化物作为指示剂, 其通过 N-H 氢键与主体相结合形成主客体复合物, 发生荧光淬灭。在目标分析物存在下, 指示剂被竞争性置换, 荧光发射恢复。第二种策略是基于 FRET 的 IDA, 将荧光团丹磺酰基(FRET 供体)

与主体共价连接。加入苯基偶氮吡啶 N-氧化物(FRET 受体)后, 荧光团发生荧光淬灭。随后加入目标分析物, 由于分析物与主体之间的氢键相互作用, 可以通过更高的结合亲和力置换荧光团, 从而抑制供体与受体之间的 FRET 过程, 导致荧光恢复。该策略具有高灵敏度, 检出限达到微摩尔级, 可兼容健康人群和患者体内观察到的肌酸酐的浓度。

2023 年, 我们课题组^[54]报道了一种以 IDA 为基础的双模式传感器, 通过指示剂颜色和荧光的变化来检测尿酸。选择的水溶性萘基四内酰胺大环主体(H1)与试卤灵(RF)染料可以通过疏水作用和氢键作用相结合(图 11)。形成的 RF@H1 主客体复合物之间存在强电荷转移(CT), RF 表现出明显的荧光淬灭现象。当目标分析物 UA 存在时, 由于 UA@H1 之间的氢键比 RF@H1 之间的氢键更强, UA 可以通过更强的结合亲和力将 RF 从主体空腔中置换。此时指示剂 RF 表现出明显的颜色变化(从粉红色到蓝色)以及荧光恢复。我们^[55]将该传感器应用于纸基传感检测, 实现了尿酸水平的双模式检测。随后, 我们课题组用羧基取代了 H1 萘上的四个乙基, 在大环空腔入口处引入了带电链, 合成了一种新的水溶性四内酰胺大环 H2, 从而实现了生物分子的高结合亲和力和高选择性。通过产物选择性指示剂置换法实现了对胞外-5'-核苷酸酶(CD73)活性的测定。CD73 可以控制核苷酸的去磷酸化, 将核苷酸水解为核苷。鸟苷(G)的羰基氧原子与 H2 的 NH 质子之间的氢键作用和 $\pi\cdots\pi$ 相互作用使得 G 与 H2 紧密结合, 而鸟苷酸(GMP)的磷酸基团与 H2 的羧基链之间的强静电排斥降低了 GMP@H2 的稳定性。选择甲苯胺蓝(TC)染料作为指示剂, TC 可以以更强的结合亲和力从 H2 空腔中置换 GMP。TC 与 H2 形成主客体复合物后, 与游离 TC 相比显示出荧光淬灭。产物 G 是更强的竞争者, 可以从大环空腔中置换 TC 并导致荧光恢复。通过 TC 的荧光反应可以监测 CD73 活性, 成功地构建了用于 CD73 酶活性检测的超分子串联测定。

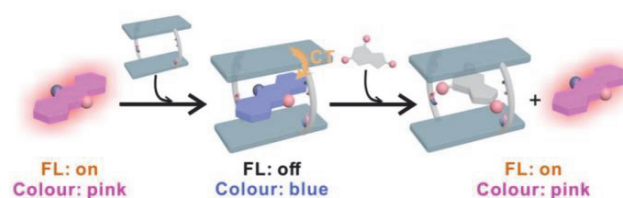


图 11 基于四内酰胺大环的指示剂置换法用于 UA 的双模式比色和荧光检测示意图^[54]

Figure 11 Schematic illustration of the tetralactam macrocycle based dual-mode colorimetric and fluorescence indicator displacement assay for UA^[54]

5 总结

超分子化学是一门研究分子间非共价作用的学科。IDA 作为一种独特和创新的超分子荧光传感方法, 可以将主客体结合事件转化为易于观察的荧光信号。目前, IDA 已经成功应用于生物流体和活细胞中目标分析物的检测, 也成功实现了在生物成像方面的应用和传感器阵列的构建。人工合成的大环主体奠定了 IDA 的基础并推动了该领域的快速发展。葫芦脲、柱芳烃及杯芳烃等大环独特的主客体识别性能及其理化性能赋予了 IDA 独特的优势。自 Anslyn 等首次报道 IDA 以来, 已经建立了大量的 IDA 传感器用于各种离子、生物分子、环境污染物及其他分析对象的检测。科研工作者对 IDA 的不断探索也证实了其灵敏度高、操作简单、响应快速及价格便宜等优势。但是该策略仍然存在一些问题和挑战, 我们只有克服这些局限, 才能激发出 IDA 的全部潜能。比如, 由于主体和染料之间的非共价结合, 在低浓度下主体和染料发生解离, 限制了传感器检测的适用范围, 且易受各种干扰物质的影响。近年来, 针对这一问题, 科研工作者将大环和染料通过共价键连接形成单分子传感器, 增加了稳定性和拓宽了检测浓度范围^[56-58]。随着对生物和环境分析标准的提高, 我们迫切需要对 IDA 策略进行不断地优化, 或者定制新的大环主体来应对这些挑战。总之, 我们期望 IDA 领域的研究得到进一步的扩大和发展, 为实际应用提供更多的可能性。

References

- [1] Guo, C.; Sedgwick, A. C.; Hirao, T.; Sessler, J. L. *Coord. Chem. Rev.* **2021**, 427, 213560.
- [2] Wu, D.; Sedgwick, A. C.; Gunnlaugsson, T.; Akkaya, E. U.; Yoon, J.; James, T. D. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, 46, 7105.
- [3] Mako, T. L.; Racicot, J. M.; Levine, M. *Chem. Rev.* **2018**, 119, 322.
- [4] Brzechwa-Chodzyńska, A.; Drożdż, W.; Harrowfield, J.; Stefanekiewicz, A. R. *Coord. Chem. Rev.* **2021**, 434, 213820.
- [5] He, Y.; Chen, L.; He, R.; Zhong, K.; Tang, L. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, 42, 785 (in Chinese). (何雨晴, 陈琳, 贺瑞丽, 钟克利, 汤立军, 有机化学, **2022**, 42, 785.)
- [6] Tian, X.; Zuo, M.; Niu, P.; Wang, K.; Hu, X. *Chin. J. Org. Chem.*, **2020**, 40, 1823 (in Chinese). (田雪琪, 左旻瓚, 牛蓬勃, 王开亚, 胡晓玉, 有机化学, **2020**, 40, 1823.)
- [7] Liu, L.; Hao, T.; Wu, W.; Yang, C. *Chin. J. Org. Chem.* **2023**, 43, 2189 (in Chinese). (刘铃, 浩涛涛, 伍晚花, 杨成, 有机化学, **2023**, 43, 2189.)
- [8] Cao, X.; Gao, A.; Hou, J.; Yi, T. *Coord. Chem. Rev.* **2021**, 434, 213792.
- [9] Rather, I. A.; Ali, R. *Org. Biomol. Chem.* **2021**, 19, 5926.
- [10] Sedgwick, A. C.; Brewster, J. T.; Wu, T.; Feng, X.; Bull, S. D.; Qian, X.; Sessler, J. L.; James, T. D.; Anslyn, E. V.; Sun, X. *Chem. Soc. Rev.* **2021**, 50, 9.
- [11] Inouye, M.; Hashimoto, K.-I.; Isagawa, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 5517.
- [12] Pilicer, S. L.; Bakhshi, P. R.; Bentley, K. W.; Wolf, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 1758.
- [13] Beatty, M. A.; Borges-González, J.; Sinclair, N. J.; Pye, A. T.; Hof, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, 140, 3500.
- [14] Minami, T.; Liu, Y.; Akdeniz, A.; Koutnik, P.; Esipenko, N. A.; Nishiyabu, R.; Kubo, Y.; Anzenbacher, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 11396.
- [15] Minaker, S. A.; Daze, K. D.; Ma, M. C. F.; Hof, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 11674.
- [16] Liu, Y.; Perez, L.; Mettry, M.; Easley, C. J.; Hooley, R. J.; Zhong, W. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, 138, 10746.
- [17] Wiskur, S.-L. H.; Lavigne, J.-J.; Anslyn, E.-V. *Acc. Chem. Res.* **2001**, 34, 963.
- [18] Ghale, G.; Nau, W. M. *Acc. Chem. Res.* **2014**, 47, 2150.
- [19] Dsouza, R. N.; Pischel, U.; Nau, W. M. *Chem. Rev.* **2011**, 111, 7941.
- [20] Norouzy, A.; Azizi, Z.; Nau, W. M. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2015**, 54, 792.
- [21] Zheng, Z.; Geng, W.-C.; Gao, J.; Wang, Y.-Y.; Sun, H.; Guo, D.-S. *Chem. Sci.* **2018**, 9, 2087.
- [22] Yu, H.; Geng, W.-C.; Zheng, Z.; Gao, J.; Guo, D.-S.; Wang, Y. *Theranostics* **2019**, 9, 4624.
- [23] Zhang, Y.; Yu, H.; Chai, S.; Chai, X.; Wang, L.; Geng, W. C.; Li, J. J.; Yue, Y. X.; Guo, D. S.; Wang, Y. *Adv. Sci.* **2022**, 9, 2104463.
- [24] Yu, H.; Chai, X.; Geng, W.-C.; Zhang, L.; Ding, F.; Guo, D.-S.; Wang, Y. *Biosens. Bioelectron.* **2021**, 192, 113488.
- [25] Geng, W. C.; Ye, Z.; Zheng, Z.; Gao, J.; Li, J. J.; Shah, M. R.; Xiao, L.; Guo, D. S. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2021**, 60, 19614.
- [26] Tian, J.-H.; Hu, X.-Y.; Hu, Z.-Y.; Tian, H.-W.; Li, J.-J.; Pan, Y.-C.; Li, H.-B.; Guo, D.-S. *Nat. Commun.* **2022**, 13, 4293.
- [27] Gutsche, C. D.; Muthukrishnan, R. *J. Org. Chem.* **1978**, 43, 4905.
- [28] Bakirci, H.; Nau, W. M. *Adv. Funct. Mater.* **2006**, 16, 237.
- [29] Yang, L.; Xie, X.; Cai, L.; Ran, X.; Li, Y.; Yin, T.; Zhao, H.; Li, C.-P. *Biosens. Bioelectron.* **2016**, 82, 146.
- [30] Geng, W. C.; Jia, S.; Zheng, Z.; Li, Z.; Ding, D.; Guo, D. S. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2019**, 58, 2377.
- [31] Duan, Q.; Chen, R.; Deng, S.; Yang, C.; Ji, X.; Qi, G.; Li, H.; Li, X.; Chen, S.; Lou, M.; Lu, K. *Front. Chem.* **2023**, 11, 1124705.
- [32] Liu, S. R.; C.; Mukhopadhyay, P.; Chakrabarti, S.; Zavali, P. Y.; Isaacs, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 15959.
- [33] Liu, M.; Zhou, Y.; Chen, L.; Bian, B.; Xiao, X.; Tao, Z. *Chin. Chem. Lett.* **2021**, 32, 375.
- [34] Lin, R.-L.; Liu, J.-X.; Chen, K.; Redshaw, C. *Inorg. Chem. Front.* **2020**, 7, 3217.
- [35] Hennig, A.; Bakirci, H.; Nau, W. M. *Nat. Methods* **2007**, 4, 629.
- [36] Nau, W. M. G.; Hennig, A.; Bakirci, H.; Bailey, D. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 11558.
- [37] Yin, T.; Zhang, S.; Li, M.; Redshaw, C.; Ni, X.-L. *Sens. Actuators, B* **2019**, 281, 568.
- [38] Sinn, S.; Spuling, E.; Bräse, S.; Biedermann, F. *Chem. Sci.* **2019**, 10, 6584.
- [39] Wang, C.; Tang, Q.; Xi, Y.; Yang, M.; Li, T.; Huang, Y.; Tao, Z. *Chin. J. Org. Chem.*, **2018**, 38, 1394 (in Chinese). (王成会, 唐青, 席芸芸, 杨梅, 李涛, 黄英, 陶朱, 有机化学, **2018**, 38, 1394.)
- [40] Barba-Bon, A.; Pan, Y.-C.; Biedermann, F.; Guo, D.-S.; Nau, W. M.; Hennig, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, 141, 20137.
- [41] Hu, C.; Jochmann, T.; Chakraborty, P.; Neumaier, M.; Levkin, P. A.; Kappes, M. M.; Biedermann, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2022**, 144, 13084.
- [42] Ogoshi, T. K.; S.; Fujinami, S.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 5022.
- [43] Xu, X.; Jerca, V. V.; Hoogenboom, R. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2020**, 59, 6314.
- [44] Murray, J.; Kim, K.; Ogoshi, T.; Yao, W.; Gibb, B. C. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, 46, 2479.
- [45] Ogoshi, T.; Yamagishi, T.-a.; Nakamoto, Y. *Chem. Rev.* **2016**, 116, 7937.
- [46] Strutt, N. L.; Zhang, H.; Schneebeli, S. T.; Stoddart, J. F. *Acc. Chem. Res.* **2014**, 47, 2631.
- [47] Bojtár, M.; Kozma, J.; Szakács, Z.; Hessz, D.; Kubinyi, M.; Bitter,

- I. *Sens. Actuators, B* **2017**, *248*, 305.
- [48] Hua, B.; Shao, L.; Zhang, Z.; Sun, J.; Yang, J. *Sens. Actuators, B* **2018**, *255*, 1430.
- [49] Paudics, A.; Hessz, D.; Bojtár, M.; Bitter, I.; Horváth, V.; Kállay, M.; Kubinyi, M. *Sens. Actuators, B* **2022**, *369*, 132364.
- [50] Yang, L.; Zhao, H.; Li, Y.; Zhang, Y.; Ye, H.; Zhao, G.; Ran, X.; Liu, F.; Li, C.-P. *Biosens. Bioelectron.* **2017**, *87*, 737.
- [51] Lee, J. Y.; Root, H. D.; Ali, R.; An, W.; Lynch, V. M.; Bähring, S.; Kim, I. S.; Sessler, J. L.; Park, J. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 19579.
- [52] Jiao, J.-B.; Wang, G.-Z.; Hu, X.-L.; Zang, Y.; Maisonneuve, S.; Sedgwick, A. C.; Sessler, J. L.; Xie, J.; Li, J.; He, X.-P.; Tian, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *142*, 1925.
- [53] Sierra, A. F.; Hernández-Alonso, D.; Romero, M. A.; González-Delgado, J. A.; Pischel, U.; Ballester, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 4276.
- [54] Yao, H.; Li, S.-Y.; Zhang, H.; Pang, X.-Y.; Lu, J.-L.; Chen, C.; Jiang, W.; Yang, L.-P.; Wang, L.-L. *Chem. Commun.* **2023**, 59, 5411.
- [55] Yao, H.; Qin, J.; Wang, Y.-F.; Wang, S.-M.; Yi, L.-H.; Li, S.-Y.; Du, F.; Yang, L.-P.; Wang, L.-L. *Chin. Chem. Lett.* **2023**, doi: 10.1016/j.ccl.2023.109154.
- [56] Hu, C.; Grimm, L.; Prabodh, A.; Baksi, A.; Siennicka, A.; Levkin, P. A.; Kappes, M. M.; Biedermann, F. *Chem. Sci.* **2020**, *11*, 11142.
- [57] Bockus, A.-T. S., L.; Grice, A.-G.; Ali, O.-A.; Young, C.-C.; Mobley, W.; Leek, A.; Roberts, J.-L.; Vinciguerra, B.; Isaacs, L.; Urbach, A.-R. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 16549.
- [58] Das Saha, N.; Pradhan, S.; Sasmal, R.; Sarkar, A.; Berač, C. M.; Kölsch, J. C.; Pahwa, M.; Show, S.; Rozenholc, Y.; Topçu, Z.; Alessandrini, V.; Guibourdenche, J.; Tsatsaris, V.; Gagey-Eilstein, N.; Agasti, S. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2022**, *144*, 14363.

(Zhao, C.)