糖基聚集诱导发光材料的研究进展

刘广建, 冯改丽, 李夏芬, 刘怡晨, 周微, 及燕铭, 张媛, 邢国文*

北京师范大学化学学院, 北京 100875

*通讯作者, E-mail: gwxing@bnu.edu.cn

收稿日期: 2021-12-29; 接受日期: 2022-02-09; 网络版发表日期: 2022-02-17

国家自然科学基金(编号: 21907008, 21977014)资助项目

摘要 聚集诱导发光材料具有优异的光学性质, 在传感检测等领域具有广泛用途. 由于大部分聚集诱导发光类荧光基团具有很强的疏水性, 一定程度上限制了其应用范围. 近五年, 基于糖类分子结构多样和水溶性好的优势, 我们课题组将多种糖类物质和聚集诱导发光分子偶联, 制备出一系列糖基聚集诱导发光材料. 该类材料有很好的水溶性和生物相容性, 能够降低背景荧光和生物毒性. 通过和目标检测物结合或者反应, 实现了对多种生物活性分子的荧光检测和细胞成像. 本文综述了近年来糖基聚集诱导发光材料领域的重要研究进展, 以进一步拓展聚集诱导发光材料的应用领域, 为生物活性物质功能监测和糖化学生物学的研究等提供有效的研究工具.

关键词 糖类, 聚集诱导发光, 荧光检测, 细胞成像, 凝集素

1 引言

糖类化合物在自然界中含量丰富, 是重要的生命物质, 在遗传、代谢、免疫和疾病等方面的生物学功能受到越来越多的关注. 例如, 核糖和脱氧核糖是遗传物质核酸的构筑单元之一, 葡萄糖是活细胞的主要供能物质, 九碳糖唾液酸常存在于细胞表面糖蛋白和糖酯末端, 参与细胞间信号传导等, 纤维素是细胞壁等的主要成分等^[1,2]. 荧光探针的研究促进了生物成像等领域的快速发展, 开展糖类、糖相关的酶和蛋白等的检测和示踪, 对糖生物学研究具有重要意义^[2].

近年来, 发展具有高光学稳定性、强荧光信号、良好生物相容性和生物降解能力的荧光探针备受关注. 聚集诱导发光(aggregation-induced emission, AIE)材料不同于聚集诱导淬灭型材料, 具有光稳定性好、

高信噪比等优点, 在有机光电子器件、化学传感、生物检测和刺激响应性材料等领域有重要应用. 例如, AIE探针被应用于pH值、粘度、金属离子、挥发性气体、爆炸性物质、生物大分子等的检测, 对环境保护、生命科学、医学研究等多学科领域产生影响, 显示出优异的性能和广阔的应用前景^[3-5]. AIE材料的发光机理主要为分子内运动受限机制, 具有螺旋桨状或贝壳状结构的化合物, 在稀溶液中受光激发后, 相关分子内结构可以自由旋转或振动耗散能量, 分子不发光; 当因聚集或其他原因限制分子内运动时, 分子内运动受阻, 发射出强烈荧光^[6,7].

大部分聚集诱导发光类荧光团具有很强的疏水性, 在水环境中容易聚集, 某些情况下在生物体系中的应用受到一定限制. 而糖类物质为多羟基的醛或酮, 具有很好的水溶性. 若将糖类物质和聚集诱导发光分子

引用格式: Liu G, Feng G, Li X, Liu Y, Zhou W, Ji Y, Zhang Y, Xing G. Progress in glycosylated aggregation-induced emission materials. *Sci Sin Chim*, 2022, 52: 880–892, doi: 10.1360/SSC-2021-0268

偶联, 则形成的糖基聚集诱导发光材料具有一定的水溶性和生物相容性, 且生物毒性和背景荧光等均较低, 既可以拓展聚集诱导发光材料的应用, 也可以开发新的糖生物学的研究工具. 唐本忠院士团队^[2,8]等曾系统总结了肝素、透明质酸、淀粉、纤维素、环糊精等糖相关的聚集诱导发光材料及其应用. 近年来, 我们课题组将唾液酸、乳糖、氨基葡萄糖等与四苯乙烯进行偶联, 合成了系列糖基AIE化合物, 并将其应用于过氧化氢、次氯酸、半胱氨酸、氰根离子、肝素、人参皂苷、唾液酸酶、唾液酸凝集素等的检测, 显示出独特的荧光检测优势^[9-14]. 本文主要结合本课题组近期的研究工作和其他课题组的相关工作, 重点综述基于果糖、甘露糖、半乳糖、氨基葡萄糖、唾液酸、乳糖等糖类的糖基聚集诱导发光材料及其在检测和成像等领域中的研究进展.

2 糖基聚集诱导发光材料的设计原则和应用思路

糖基单元对聚集诱导发光材料有助溶作用, 不同种类和不同个数糖类分子对AIE分子的增溶效果不同. 一般而言, 带电性的糖基单元对AIE分子的增溶效果比不带电性的糖基单元对AIE分子的增溶效果好. 糖基单元数越多, 对AIE分子的增溶效果越好. 糖基聚集诱导发光材料具有一定的水溶性或双亲性, 本身背景荧光相对较弱, 或自组装后形成具有一定荧光强度的聚集体. 其在应用时, 聚集诱导发光团作为信号单元, 给出信号变化. 糖基部分可作为直接的“识别单元”、“靶向单元”或者“助溶基团”, 也可仅作为“添加物”或“桥梁(多糖)”连接多个聚集诱导发光单元^[2]. 一方面, 可以通过糖-糖相互作用或糖-蛋白相互作用等和被检测物质结合, 限制分子内运动, 分子荧光增强,

实现对检测物质以及特定细胞和细菌的“turn-on”型检测或成像; 另一方面, 可以通过和被检测物质等反应, 脱除糖基单元的助溶作用或改变荧光团的共轭结构, 进而导致荧光信号发生变化, 实现对检测物质的检测或成像(图1).

3 单糖取代的聚集诱导发光材料

当单糖个数较少时, 糖基对聚集诱导发光材料的助溶作用很小. 目前合成的糖基聚集诱导发光材料大都含有多个糖基单元, 主要基于糖-糖相互作用和糖-蛋白相互作用实现特定功能. 目前已有将果糖、甘露糖、半乳糖、氨基葡萄糖、唾液酸等与聚集诱导发光化合物结合的材料.

3.1 对果糖的检测及含果糖的聚集诱导发光材料的应用

相比于其他单糖而言, 果糖在水溶液中, 具有顺式二羟基结构的呋喃糖环异构体所占的比重较高(25%), 可与芳基硼酸结合形成硼酸酯. 在中性条件下, 硼酸和果糖的结合常数远高于其他糖类^[15]. 2016年, 我们课题组设计合成了双醛基双硼酸取代的四苯乙烯化合物(TPE-DABA). TPE-DABA在水溶液中溶解度很小, 在水中会发生聚集, 分子内运动受限, 在510 nm处发出强烈荧光(图2). 借助于硼酸和果糖在中性溶液中的强特异性结合作用, TPE-DABA可以和果糖结合形成双醛基双硼酸酯取代的四苯乙烯化合物(TPE-DABF). TPE-DABF中由于有果糖的助溶作用, 聚集程度和荧光强度下降, 实现了对果糖的“on-off”检测^[11]. 当将探针的储备液加入到果糖的溶液中时, 检测的线性区间为4~16 mM; 但若将果糖加入到探针的缓冲溶液中时, 由于探针在水环境中会发生一定程度的聚集, 检测效

图1 糖基聚集诱导发光衍生物的设计原则和应用思路(网络版彩图)

Figure 1 Design principle and applications of glycosylated aggregation-induced emission materials (color online).

图2 TPE-DABA、TPE-DABF、TPE-DAP的结构及对果糖、葡萄糖和 H_2O_2 的检测机理^[11] (网络版彩图)

Figure 2 Structures of TPE-DABA, TPE-DABF, TPE-DAP and the detection mechanism of fructose, glucose and H_2O_2 [11] (color online).

果则有所降低。

另外, 由于过氧化氢可以较快地氧化芳基硼酸酯成苯酚。加入 H_2O_2 后, TPE-DABF可以被氧化为TPE-DAP。同时, 该氧化过程消除了果糖对聚集诱导发光材料的助溶作用, TPE-DAP聚集程度增加, 荧光强度增强, 且新形成的D- π -A结构使TPE-DAP的荧光发射波长相对于TPE-DABA和TPE-DABF发生红移, 从而实现对过氧化氢的“off-on”检测(图2)。由于TPE-DABF体系中含有多个还原性单元, 包括醛基、碳碳双键、硼酸(酯)和果糖, 可实现对 H_2O_2 的高选择性检测。另外, 由于葡萄糖可以被葡萄糖氧化酶氧化产生葡萄糖酸内酯和 H_2O_2 , 因此, TPE-DABF也可应用于对葡萄糖的特异性检测^[11]。TPE-DABF对葡萄糖的检测范围为50~300 μM , 而人正常血糖浓度区间为4~8 mM, 说明将血液用PBS稀释40倍后, 该方法有对血糖中的葡萄糖浓度进行定量检测的潜力。

3.2 葡萄糖与聚集诱导发光材料的结合与检测

不同糖的结构具有高度相似性, 设计具有高选择性的糖类物质检测体系具有较大的挑战^[16]。聚集诱导发光材料对葡萄糖的检测多是基于对 H_2O_2 的检测而间接实现的^[17,18]。将聚集诱导发光材料直接应用于葡萄糖的检测的代表性工作为2011年唐本忠课题组发展的双硼酸取代的四苯乙烯化合物1。在碱性条件下, 硼酸可以和氢氧根结合形成 $1-(\text{OH})_2$ 而带负电荷, 分子水溶性增加且自身荧光较弱(图3)^[19]。由于葡萄糖分子中含有C-1/2和C-5/6两对顺式二醇结构, 在碱性条件下,

图3 硼酸取代的四苯乙烯化合物检测葡萄糖的原理图^[19]

Figure 3 The detection of glucose by compound 1 [19].

葡萄糖可以和两个硼酸基团结合。在一定浓度范围内, 葡萄糖和探针形成环状或线状的寡聚物, 限制了四苯乙烯荧光团的分子内运动, 使得体系荧光最大增强5.4倍, 达到检测目的。而多数其他糖类只能和苯硼酸进行1:1结合或不结合。因此 $1-(\text{OH})_2$ 对葡萄糖的检测具有较好的选择性。该工作局限之处在于检测须在碱性环境下进行, 且当葡萄糖的浓度过低或过高时, 荧光强度均较弱。

3.3 甘露糖取代的聚集诱导发光材料的合成与应用

2010年, Sanji等^[20]报道了甘露糖取代的四苯乙烯化合物2a、2b和2c。2a为将甘露糖和四苯乙烯直接相连的化合物, 2b、2c为甘露糖单元通过乙二醇链和四苯乙烯相连的化合物, 该类化合物可用于选择性“turn-on”检测伴刀豆球蛋白A (Concanavalin A, Con A) (图4)。Con A在中性条件下是一个四聚物, 可选择性识别 α -甘露糖或葡萄糖。2a~2c与Con A混合后, 1分钟内即可发出蓝色荧光。聚甘露糖(抑制剂)添加实验证实了Con A可以和甘露糖取代的四苯乙烯化合物形成复合物; 而探针和半乳糖结合的花生凝集素(peanut agglutinin, PNA)混合后, 没有明显响应。2a、2b、2c与Con A的结合常数分别为 2.5×10^5 、 7.9×10^5 和 $5.3 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 。表明当甘露糖单元和四苯乙烯母核间通过柔性链连接或增加甘露糖个数时, 探针与Con A的结合强度更强, 检

图 4 2a~2d 的结构及检测 Con A 等凝集素蛋白、蛋白-蛋白相互作用的示意图^[20,21] (网络版彩图)

Figure 4 Chemical structures of 2a~2d and the detection mechanism of corresponding protein, protein-protein interactions ^[20,21] (color online).

测的灵敏性也更高。

2010年, Sanji等^[21]又基于“替代法”, 使用靶向蛋白质的糖基四苯乙烯分子实现蛋白-蛋白相互作用研究. 研究中使用了水溶性的糖基四苯乙烯分子2a、2b和2d, 其中2d为乳糖单元通过乙二醇链和四苯乙烯相连的化合物(图4). 糖基四苯乙烯分子和相关凝集素蛋白结合后, 发出强烈荧光. 再加入其他不同的蛋白质后, 如果新加入的蛋白质和体系原有的凝集素间存在部分蛋白-蛋白相互作用, 则糖基AIE分子和蛋白之间形成的聚集体会受到不同程度的干扰, 释放出一定数量的游离的糖基AIE化合物, 体系荧光发生减弱. 由于不同蛋白的尺寸、形状、疏水程度不同, 蛋白-蛋白相互作用也不同, 无需对蛋白进行额外修饰, 根据荧光减弱程度即可实现对蛋白-蛋白相互作用程度的检测.

荧光检测技术在细菌检测方面具有高灵敏性、快速响应、容易操作等优点. 2021年, Zhang等^[22]合成了包含甘露糖、四苯乙烯等不同基团修饰的阳离子聚合物P4VP-ManTPE等. 由于甘露糖的存在, P4VP-ManTPE可以和Con A有特异性结合, 具有较低的溶血率(hemolysis rate) (图5). 基于静电作用、疏水作用、糖-蛋白相互作用等, P4VP-ManTPE可在细菌表面聚集发光, 用于细菌的检测、成像和抑菌等.

对细胞进行长程成像和示踪有重要的科学价值, 可使相关生物过程、致病途径、治疗效果等可视化. 三苯胺-吡咯并吡咯二酮(DDP)衍生物, 具有较好的光稳定性和AIE性质. Hua课题组^[23]合成了含有不同数量

图 5 P4VP-ManTPE的结构及检测细菌的示意图^[22] (网络版彩图)

Figure 5 Chemical structure of P4VP-ManTPE and the detection mechanism of bacteria ^[22] (color online).

甘露糖取代的DPP衍生物用于凝集素检测和细胞成像研究, 探究了甘露糖单元个数对检测和作用效果的影响. 体外测试表明, 基于糖-蛋白相互作用, 3种探针(DPPM、DMMF-M、DPPS-M)均可识别Con A. 和ConA作用后, 荧光强度都略微增加. 动态光散射(dynamic light scattering, DLS)实验和扫描电子显微镜(scanning electronic microscope, SEM)分析表明, 糖基AIE和Con A结合后粒径有所增加. 通过等温量热滴定实验得到DPPM、DMMF-M、DPPS-M和Con A的解离常数分别为 6.25×10^5 、 3.47×10^6 和 $3.89 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$, 检测限分别为12、9和13 nM (图6). 其中DPPS-M和Con A结合后, 荧光也有所蓝移. 由于MDA-MB-231细胞和MCF-7细胞表面过表达甘露糖受体, DPPF-M和DPPS-M可用于对MDA-MB-231细胞和MCF-7细胞的成像研究.

3.4 半乳糖取代的聚集诱导发光材料的合成与应用

DDP用供电子基团修饰后, 通常会发出红色的荧光, 并且有较大的Stokes位移, 适合生物成像^[24,25]. Liu课题组^[26]合成了含有2个、4个和6个半乳糖单元的三苯胺-吡咯并吡咯二酮衍生物(DPPG, DPPF-G, DPPS-G). 基于聚集诱导发光效应, 3个化合物均可用于花生凝集素(PNA)的检测. 通过DLS和SEM实验, 初步证实了糖-PNA之间的相互作用(图6). 由于HepG2细胞表面表达大量的半乳糖受体(asialoglycoprotein, ASGP-Rs), 通过糖基和细胞表面ASGP-R的作用, DPPG、DPPF-G和DPPS-G可应用于对HepG2细胞的成像. 其中, 由于多半乳糖单元的存在, 含6个半乳糖单元的DPPS-G

水溶性最好, 对细胞的成像效果最好, 对细胞的毒性最低, 其紫外吸收峰在519 nm处, 荧光发射峰在721 nm处. 对比实验显示, 3个探针分子不能对HeLa细胞进行染色, 显示出该类糖基AIE探针的细胞选择性.

2016年He课题组^[27]通过疏水相互作用将绿色硅氧烷DES荧光分子分别与半乳糖或甘露糖取代的荧光分子DK1和DK2自组装形成纳米颗粒AIE-GNP, DES和DKs间可发生荧光共振能量转移效应(FRET) (图7). 当在AIE-GNP中加入A β 肽后, 由于DKs与DES均能与A β 作用, 竞争作用导致AIE-GNP复合颗粒分解; 当

图6 系列sugar-DPPs的结构及检测凝集素的示意图^[23,26] (网络版彩图)

Figure 6 Chemical structures of several sugar-DPPs and the detection mechanism of Con A and PNA ^[23,26] (color online).

图7 DES、DK1、DK2的结构及检测蛋白的示意图^[27]

Figure 7 Chemical structures of DES, DK1, and DK2 and the detection mechanism of A β and lectins ^[27].

加入凝集素(PNA 或Con A)后, 由于糖-蛋白相互作用, 凝集素只能与DKs作用, 而不能与DES作用. 这种差异使得能够通过AIE-GNP的不同比率响应来识别A β 肽与凝集素.

2018年, Jana等^[28]报道了一种半乳糖化的胶状颗粒, 用于癌细胞的标记. 多巴胺在碱性条件下可以氧化自聚合, 该工作首先用聚多巴胺包裹在四苯乙烯或四苯乙烯-壳聚糖周围, 并通过红外光谱等表征手段进行了验证. 然后表层的多巴胺可和硫酸化的半乳糖通过Michael加成反应进行偶联, 得到目标颗粒物. 该颗粒的水合半径为50~200 nm, 有6%~12%的量子产率, 能选择性标记过表达半乳糖受体的细胞, 如HepG2细胞.

3.5 氨基葡萄糖取代的聚集诱导发光材料的合成与应用

糖-糖相互作用主要包括分子内或分子间的氢键作用和糖链之间的相互作用等, 在细胞识别和黏附等生物过程中具有关键作用^[29,30]. 肝素是临床上常用的凝血剂, 是一种结构复杂的多糖. 基于静电相互作用和糖-糖相互作用, 我们课题组设计合成了TPE3G和TPE4G两种糖基AIE分子, 实现了对肝素的选择性检测(图8)^[12]. TPE3G和TPE4G都有较好的水溶性, 临界胶束浓度分别为3.33和2.82 μ M. 在临界胶束浓度之上, 分子在水溶液中自组装形成有机荧光纳米颗粒. 使用1 μ M的探针开展实验研究, 结果显示TPE3G的灵敏度和选择性优于TPE4G. TPE3G对肝素的检测限为0.22 μ M, 检测线性区间为0~7.2 μ M, 且能够区分肝素和其干扰物硫酸软骨素(Chs)和透明质酸(HA), 检测效果优于大多数其他四苯乙烯类肝素检测探针. 将糖糖相互作用引入肝素检测机理, 也丰富了检测理论体系. 透射电镜(transmission electron microscopy, TEM)和DLS实验显示, TPE3G能和肝素自组装形成复合物, 复合物的粒径大于TPE3G和肝素本身的粒径大小. 对复合物纳米粒子的元素分布分析表明, TPE3G和肝素结合后, 形成肝素包裹TPE3G的结合体. 其中, TPE3G的四苯乙烯部分在最里面, 糖基部分在外部, 糖基部分通过糖-糖相互作用和静电作用与肝素结合.

3.6 唾液酸取代的聚集诱导发光材料的合成与应用

唾液酸酶常存在于细菌、病毒和哺乳动物细胞

图 8 TPE3G、TPE4G 的结构及 TPE3G 检测肝素的示意图^[12] (网络版彩图)

Figure 8 Chemical structures of TPE3G, TPE4G and the detection mechanism of heparin^[12] (color online).

中,可以选择性切断唾液酸糖苷键.多数情况下,唾液酸酶的活性与致病菌的致病性和非致病菌的新陈代谢相关.例如,霍乱弧菌唾液酸酶能切断肠粘膜细胞表面聚糖中的唾液酸糖苷键,使之裸露出霍乱毒素的受体,导致疾病发生^[31,32].2018年,我们课题组合成了一个四唾液酸“包裹”的四苯乙烯化合物(TPE4S),由于唾液酸具有很好的水溶性,TPE4S在水溶液中分散较好,荧光背景很弱(图9)^[33].另外,TPE4S亲水的、带弱负电荷的多唾液酸“外壳”可以降低分子自身与细菌的非特异性结合作用,包括疏水作用和静电作用等.当TPE4S和唾液酸酶共孵育后,质谱显示,唾液酸酶可以选择性切断TPE4S中的糖苷键,使唾液酸单元对聚集诱导发光材料的助溶作用消失,形成疏水性的水解产物TPE4A.动态光散射实验显示TPE4S和唾液酸酶作用后,探针的粒径大幅增加,聚集程度和荧光强度增大,荧光最大可增强40多倍,实现了对唾液酸酶的选择性“turn-on”检测.量热滴定实验显示,TPE4S对产气荚膜梭菌产唾液酸酶的米氏常数约为24.8 μM .TPE4S可用于唾液酸酶抑制剂的筛选、细胞中唾液酸酶的检测和以唾液酸酶活性为标志物的疾病的诊断等.例如,

图 9 TPE4S 的结构及检测唾液酸酶的示意图^[33] (网络版彩图)

Figure 9 Chemical structure of TPE4S and the detection mechanism of sialidase^[33] (color online).

TPE4S在细菌性阴道炎诊断方面的结果和用BVBlue方法的诊断结果相当.虽然TPE4S对唾液酸酶有较好的检测效果,但目前其合成和分离方法较为繁琐.

唾液酸结合性免疫球蛋白样凝集素(Sialic acid-binding immunoglobulin-like lectins: Siglecs),也称涎凝素,常存在于细胞表面,是肿瘤治疗的新靶标,基于Siglecs特异性抗体的药物有望用于临床治疗淋巴瘤和白血病等^[34-36].发展Siglecs高特异性配体的策略之一是制备含多唾液酸的聚糖或“糖簇”.2019年,我们课题组合成了一个含三个唾液酸单元糖簇的四苯乙烯化合物TPE3S.基于“簇效应”,TPE3S中的多唾液酸可以和多种Siglecs蛋白相互作用(图10)^[14].基于微量热涌动技术,测得TPE3S与Siglec-2蛋白、Siglec-3蛋白和Siglec-5蛋白的解离常数分别约为14.2、96.2和10.6 μM ,而天然唾液酸配体和Siglecs的解离常数为0.1~0.3 mM,显示了TPE3S和Siglecs蛋白间较好的亲和力.以Con A和牛血清白蛋白为对照组的实验显示,TPE3S和Siglecs蛋白间的结合为特异性结合;以TPE4S和含1个唾液酸单元的TPE1S为对照组的实验说明,由于“糖簇效应”,以柔性链为连接单元的“三糖糖簇”(TPE3S)在特异性结合中起到了重要作用.当唾液酸个数较少(TPE1S)或以刚性连接单元连接(TPE4S)时,由于结合单元数较少或者由于刚性连接单元不能使分子中的多个唾液酸单元同时协同结合到蛋白上去,探针和Siglecs蛋白的结合作用均下降.另外,TPE3S和含唾液酸三糖的菁染料一样,可用于对PC-12细胞表面Siglecs蛋白的成像;而TPE4S和Siglecs蛋白

图 10 TPE3S的结构及检测涎免凝素的示意图^[14] (网络版彩图)

Figure 10 Chemical structure of TPE3S and the detection mechanism of Siglecs^[14] (color online).

间的结合作用力较弱, 不能用于细胞表面Siglecs蛋白的成像^[14,37]. 该工作局限之处在于TPE3S对不同Siglecs蛋白没有选择性, 且结合强度较其他报道的很多Siglecs的结合配体低.

人参皂苷具有重要的生物活性. 2020年, 基于糖-糖相互作用、疏水相互作用和聚集诱导发光效应, 我们探究了TPE4S、TPE3S、TPE4L、TPE4G四种糖基聚集诱导发光化合物对人参皂苷的检测效果. 其中TPE4G为四个氨基葡萄糖单元“包裹”的四苯乙烯, TPE4L为四个乳糖单元“包裹”的四苯乙烯(图11)^[13]. 经测试, 我们发现由于TPE4S、TPE3S、TPE4G本身具有较好的水溶性, 自身背景荧光较低, 能够从14种人参皂苷中选择性地实现对糖基单元较多(≥ 3)的原人参二醇(Rb1、Rb2、Rb3、Rc、Rd)的识别. 其中, TPE4S的检测效果最好, 以TPE4S和TPE3S的比较为例, 一方面, TPE4S中的糖基单元分布在四苯乙烯周围, 该种结构与原人参二醇的结构更为相似, “疏水作用”和“糖-糖相互作用”结合更好; 另一方面, TPE4S周围的唾液酸略带负电性, 自身组装能力差, 而TPE3S是一个双亲型分子, 自身可以发生一定程度的自组装. 综上对比, TPE4S自身结合差, 与原人参二醇结合好; TPE3S自身组装好, 与原人参二醇结合差, 所以TPE4S的检测效果更好. TPE4S和糖基原人参二醇孵育1小时后, TPE4S可以和Rb1等形成复合物, 荧光最大可增强32倍, 通过肉眼即可清晰地观测到荧光响应变化, 比已经报道的其他的人参皂苷类检测探针的响应效果更好^[38-40].

4 双糖取代的聚集诱导发光材料的合成与应用

相比于单糖取代的聚集诱导发光材料, 双糖除作

图 11 TPE4S, TPE3S, TPE4G, TPE4L对不同的人参皂苷的检测情况. I 和 I_0 分别是相应探针和人参皂苷作用后的荧光强度和相应探针本身的荧光强度^[13] (网络版彩图)

Figure 11 Fluorescence response (I/I_0) of 5 μ M TPE4S, TPE3S, TPE4G, TPE4L to different ginsenosides (1 mM) in PBS buffer (67 mM, pH 7.1). I and I_0 are the corresponding fluorescence intensities of probes in the presence and absence of ginsenosides, respectively^[13] (color online).

为功能单元外, 仅起助溶作用的情况也较为常见. 乳糖是一种常见的双糖, 在双糖取代的聚集诱导发光材料中应用较多.

4.1 含乳糖单元的“turn-on”型聚集诱导发光探针合成和应用

霍乱毒素是一个五聚体, 每个单体都有一个GM1神经节苷脂的结合位点^[41]. 2011年, Han课题组^[42]基于click反应, 在一价铜催化下, 将炔丙基修饰的四苯乙烯

和叠氮基取代的糖进行偶联, 合成了乳糖基四苯乙烯化合物(Lac-TPE). 由于乳糖单元和霍乱毒素B亚基间特异的糖-蛋白相互作用, 在pH 7.3条件下, Lac-TPE可用于在较短波长下检测霍乱毒素, 而同样方法合成的含纤维二糖的四苯乙烯化合物和霍乱毒素则没有响应(图12).

4.2 含乳糖单元的比率型聚集诱导发光探针平台的设计和应用

半胱氨酸(Cys)、同型半胱氨酸(Hcy)和谷胱甘肽(GSH)具有结构相似性, 不容易实现对其中某一物种的特异性检测^[43]. 2019年我们课题组合成了水溶性较好的含乳糖单元的四苯乙烯探针2OA和疏水性的不含乳糖单元的四苯乙烯探针^[10]. 对于糖基AIE探针, 烯基醛部分作为识别基团, 四苯乙烯部分作为荧光团. 相比于无糖基单元分子, 由于乳糖单元的助溶作用, 2OA在水溶液中的聚集程度明显减小. 在pH 6~10范围内, 可用于对Cys的检测(图13). Cys可以和2OA中的烯醛

图12 Lac-TPE的结构及检测霍乱毒素的示意图^[42] (网络版彩图)

Figure 12 Chemical structure of Lac-TPE and the detection mechanism of cholera toxin ^[42] (color online).

图13 2OA的结构及检测半胱氨酸的机理图^[10] (网络版彩图)

Figure 13 Chemical structure of 2OA and the detection mechanism of cysteine ^[10] (color online).

部分发生反应, 改变荧光团的共轭体系大小, 随着Cys浓度的增加, 2OA在575 nm处的荧光减弱, 在500 nm处的荧光增强, 显示出比率型响应. 固定作用时间为60分钟时, 在Cys浓度为150~450 μM 区间内, 荧光在500和575 nm处的荧光比值随Cys浓度的增加呈线性增加, 且2OA对Cys的响应具有选择性, 能实现对Cys、Hcy和GSH的明显区分. 2OA孵育HepG2细胞60分钟后, 用荧光共聚焦显微镜观察, 通过比较绿光和蓝光通道的发光强度, 2OA可实现对细胞中半胱氨酸的检测, 但探针的最佳激发波长较短, 限制了其实际应用.

次氯酸具有重要的生理活性, 广泛用作漂白剂、除臭剂和杀菌剂等. 2021年, 我们课题组合成了含脒官能团的乳糖修饰的四苯乙烯化合物THG-1, 基于次氯酸和脒之间的水解反应, THG-1可实现对次氯酸的比率型检测^[9]. THG-1有两个吸收峰, 并在554 nm发出荧光, 随着HOCl的加入, 两个吸收峰和在554 nm处的荧光峰减弱, 在467 nm处的荧光峰增强, 在HOCl浓度为4~12 μM 区间内, THG-1在467和554 nm处的荧光强度的比值与HOCl的浓度呈线性关系, 检测可在10 min左右快速完成, 且具有很好的选择性. 通过质谱和SEM测试, 发现HOCl可以水解THG-1为双醛基双甲氧基四苯乙烯化合物. 对照实验显示, 乳糖单元个数对THG-1检测次氯酸起重要作用. MTT实验显示, 10 μM THG-1和HepG2细胞孵育24 h后, 细胞活度超过80%, 具有较低的毒性. THG-1可用于对HepG2细胞和LO2细胞外源性和内源性HOCl的比率型检测, 且具有很好的抗光漂白特性(图14). 由于正常肝细胞和肿瘤肝细胞表面去唾液酸糖蛋白受体含量的不同, THG-1对肝癌细胞具有一定的选择性, 将乳糖单元作为助溶基团和实现特定细胞选择的一种方式, 本工作提供了一个广泛的探针设计策略.

CN^- 能够破坏线粒体中的电子转移链, 对人体有

图14 THG-1的结构及有无脂多糖刺激时对HepG2细胞的成像图^[9] (网络版彩图)

Figure 14 Chemical structure of THG-1 and confocal fluorescence images of HepG2 cells incubated with THG-1 and lipopolysaccharide ^[9] (color online).

较高的毒性. 世界卫生组织(WHO)提出, 饮用水中 CN^- 最大允许浓度为 $1.9 \mu\text{M}$ ^[44]. 2009年和2012年, 张德清课题组^[45,46]基于聚集诱导发光效应设计了两个 CN^- 检测探针3和4. 2014年, 基于三氟乙酰胺(TFAA)基团对 CN^- 的识别作用, Bhalla等^[47]设计了一个比率型的 CN^- 检测探针5, 在乙醇和水的混合溶剂($v/v=1/4$)中实现了对 CN^- 的检测. 2021年, 我们课题组合成了一个双乳糖单元双乙烯基丙二腈单元的四苯乙烯化合物(TPELC). TPELC具有AIE特性, 临界胶束浓度为 $1.83 \mu\text{M}$, 在595 nm处有一个荧光发射峰(图15)^[48]. 质谱实验显示, TPELC结构中的乙烯基丙二腈单元可选择性与 CN^- 发生亲核加成反应, 产生TPELC- CN^- , 使探针的共轭体系快速发生变化, 荧光发射波长蓝移至515 nm, 实现对 CN^- 的比率型检测. 与其他同类型探针相比, 由于乳糖单元的助溶作用, TPELC在检测 CN^- 时, 无需添加表面活性剂或有机溶剂进行助溶, 且在 CN^- 浓度范围为0~250 μM 时, 探针在515和595 nm处的荧光强度比值线性增加, 溶液在紫外灯照射下的颜色变化肉眼可见. TPELC可用于木薯、杏仁等食物中生氰糖苷的检测, 还可以负载到试纸条上用于氰根离子的检测.

5 含寡糖或多糖的聚集诱导发光材料的合成与应用

寡糖和多糖种类繁多, 大量天然多糖本身就具有很多应用价值^[8]. 不同于单糖或双糖, 还可以将多个聚集诱导发光单元或其他功能单元作为分支连接到寡糖或多糖结构上.

5.1 含寡糖的聚集诱导发光材料在流感检测中的应用

流感是一种常见的感染性疾病, 血球凝集素是流感病毒表面的蛋白质. 人流感病毒一般和唾液酸2,6半乳糖序列的糖结合, 马和禽流感病毒一般和唾液酸2,3半乳糖序列的糖结合, 猪流感和上述两种糖都结合. 2010年, Kato等人^[49]通过click反应合成了乳糖单元修饰的四苯乙烯化合物(L-TPE)和6'-唾液酸乳糖单元修饰的四苯乙烯化合物($\alpha 2, 6\text{SL-TPE}$), 可分别用于RCA120和SSAlectins的检测(图16). 由于每个流感病毒表面大约含有1000个分子的可以和唾液酸寡糖特异性结合的血球凝集素, 含6'-唾液酸乳糖单元修饰的四苯乙烯化合物 $\alpha 2, 6\text{SL-TPE}$ 可用于“turn-on”检测流感病毒.

5.2 含多糖的聚集诱导发光材料在生物成像中的应用

长程细胞成像在监测生物过程、致病路径、治疗效果等方面有重要应用, 基于生物正交反应, 如click反应, 可将荧光团固定到细胞的特定成分上, 但这种方法有可能导致所连接到的生物分子构象发生变化, 导致一些非常态的生物功能和代谢过程. 另外click反应中所用的铜催化剂对细胞等也有一定的毒性^[50,51]. 荧光纳米颗粒相比于分子单体有很多优势, 比如强的细胞渗透性和滞留效应等. 唐本忠课题组^[52]将多个四苯乙烯单元连接到壳聚糖(chitosan, CS)链上, 合成了TPE-CS聚合物. TPE-CS在四氢呋喃(THF)的稀溶液中不发荧光, 分子内苯环的旋转可以耗散激发态的能量. 由于

图15 化合物3 (a)、4 (b)、5 (c)、TPELC (d)的结构及检测 CN^- 的机理图^[48] (网络版彩图)

Figure 15 Chemical structures of 3 (a), 4 (b), 5 (c), TPELC (d) and the detection mechanism of cyanide ^[48] (color online).

聚集诱导发光效应, 壳聚糖上连接的四苯乙烯单元越多, 材料的发光强度越强; 相反, 壳聚糖上连接的异硫氰酸荧光素单元越多, 材料的发光强度越弱, 显示了聚集诱导发光材料的优越性. 用标记了不同数量四苯乙烯单元的CS孵育HeLa细胞, 可发现TPE-CS能够进入HeLa细胞. 由于CS是天然大分子, TPE-CS的毒性很低, 且成像效果好, 能在细胞中持续染色15代(图17).

Li和Wang等^[53]报道壳聚糖在某些情况下也显示出AIE性质. 壳聚糖的固态粉末在365 nm激发下发浅蓝色的光. 壳聚糖的溶液中, 随着壳聚糖浓度的增加, 荧光强度不断增强. 这可能由于壳聚糖宽的分子量分布, 在不同激发波长激发下, 壳聚糖发光波长也不完全一样. 其发光机制可用簇诱导发光(clustering-triggered emission, CTE)机理来解释. 壳聚糖化的AIE化合物主要应用于细胞成像等领域. 当四苯乙烯和三苯基膦(TPP)与壳聚糖进行偶联后, 形成50~200 nm的

图 16 L-TPE和 $\alpha 2, 6$ SL-TPE的结构^[49]

Figure 16 Chemical structures of L-TPE and $\alpha 2, 6$ SL-TPE [49].

图 17 TPE-CS的结构及对HeLa细胞的成像图^[52] (网络版彩图)

Figure 17 Chemical structure of TPE-CS and fluorescent images of the HeLa cells stained by the aggregates of the TPE-CS bioconjugate [52] (color online).

纳米颗粒, 通过脂筏内吞作用也可进入HeLa细胞, 并呈现“off-on”的响应(图18)^[54]. 每个壳聚糖上连接的四苯乙烯单元数和TPP单元数, 对探针进入细胞的亚细胞器和光学信号响应应有影响.

5.3 聚集诱导发光化合物对聚糖或多糖的检测

脂多糖(LPS)常存在于细菌表面, 含有磷酸化的氨基葡萄糖单元和羧基等负电荷基团. 2016年, Wang等人^[55]基于静电作用, 设计了吡啶盐取代的四苯乙烯探针TPEPyE, 实现了对脂多糖的特异性检测(图19). 在溶液pH值为5~9的范围内, 当LPS和TPEPyE在PBS溶液中作用后, TPEPyE的荧光可增强22倍, 检测限为370 pM (3.7 ng mL^{-1}). Zeta电势测试实验表明, 细菌表面由于含有LPS呈负电性, 当加入探针TPEPyE后, 细菌悬浊液的电势逐渐增加. 基于静电作用, TPEPyE可以应用于对革兰氏阴性菌大肠杆菌的成像检测和医院实际样品中尿道感染的诊断. 由于TPEPyE的最佳激发波长和发射波长均较短, 一定程度上会受到实际样

图 18 四苯乙烯和三苯基膦单元取代的壳聚糖的结构^[54] (网络版彩图)

Figure 18 Chemical structure of chitosan decorated by tetraphenylethene and TPP units [54] (color online).

图 19 TPEPyE检测LPS的示意图^[55] (网络版彩图)

Figure 19 Schematic illustration of TPEPyE for LPS detection [55] (color online).

品中一些物质的干扰。

2021年, Ding 课题组^[56]报道了多肽多粘菌素B (polymyxinB)取代的聚集诱导发光探针(AIE-DCM-2polymyxinB), AIE-DCM-2polymyxinB由于具有D- π -A的结构单元, 在439 nm处有一个吸收峰, 发射波长也较长。其中, 多粘菌素B也有一定的助溶作用, 探针的背景荧光较弱。由于多粘菌素B与革兰氏阴性菌细胞壁上的脂多糖间的强结合作用, 探针可用于快速地选择性“turn-on”检测革兰氏阴性菌(图20)。并且探针具有高的活性氧产生效率, 可用于光动力杀灭革兰氏阴性菌。

图 20 化合物AIE-DCM-2polymyxinB的结构^[56]

Figure 20 Chemical structure of AIE-DCM-2polymyxinB [56].

6 总结与展望

聚集诱导发光材料是一类性质独特的光学材料, 对其进行糖基化的修饰, 凭借糖基单元的助溶、靶向、识别、代谢等作用, 可赋予聚集诱导发光材料实现生物活性相关物质的检测、功能的调控、疾病的诊断等功能。例如, 将甘露糖、半乳糖、氨基葡萄糖、乳糖、多糖等糖类物质与聚集诱导发光材料偶联, 基于静电相互作用、糖-糖相互作用、糖-蛋白相互作用, 或特定的反应, 糖基聚集诱导发光材料实现了对果糖、葡萄糖、肝素、人参皂苷、过氧化氢、次氯酸、半胱氨酸、氰根、霍乱毒素、多种糖苷酶和糖识别蛋白、特定细胞和微生物等的检测和成像, 展示了优异的应用价值。相关研究的常见思路为: (1) 基于特定的功能目的选择特定的糖基单元和聚集诱导发光母体材料; (2) 基于特定的连接单元和连接方式共价或非共价连接后, 表征其溶解性、粒径、表面电荷、光学性能

等相关性质; (3) 验证实现和调控改善材料的功能效果。

目前该领域的工作仍然有限, 一方面, 相关材料主要应用在一些蛋白和小分子的体外检测上, 很少将其应用于糖代谢和功能示踪, 或生物功能的调控; 另一方面, 有些糖基单元的合成、偶联和纯化较为复杂, 且中性糖和AIE材料结合后, 如果糖基单元数过少, 则糖基对AIE材料的助溶效果很有限, 材料仍有一定的背景荧光。

未来的研究, 一方面, 可对糖基单元的特定位点进行修饰后再与AIE材料偶联, 用于不同糖识别蛋白配体的精准筛选、新疾病靶标的探测、不同糖苷酶抑制剂的发明。尤其是结合糖工程代谢手段, 描绘不同生理状态下, 糖蛋白和糖脂糖基化的程度、变化和功能等; 另一方面, 可以增加聚集诱导发光材料的发射波长和光敏特性, 实现对糖相关疾病的诊疗一体化。

参考文献

- 1 Liu GJ, Li CY, Zhang XT, Du W, Gu ZY, Xing GW. *Chin Chem Lett*, 2018, 29: 1–10
- 2 Wang Y, Nie J, Fang W, Yang L, Hu Q, Wang Z, Sun JZ, Tang BZ. *Chem Rev*, 2020, 120: 4534–4577
- 3 Yang J, Chi Z, Zhu W, Tang BZ, Li Z. *Sci China Chem*, 2019, 62: 1090–1098
- 4 Liu J, Lam JWY, Tang BZ. *J Inorg Organomet Polym*, 2009, 19: 249–285
- 5 Liu S, Feng G, Tang BZ, Liu B. *Chem Sci*, 2021, 12: 6488–6506
- 6 Mei J, Hong Y, Lam JWY, Qin A, Tang Y, Tang BZ. *Adv Mater*, 2014, 26: 5429–5479
- 7 Mei J, Leung NLC, Kwok RTK, Lam JWY, Tang BZ. *Chem Rev*, 2015, 115: 11718–11940
- 8 Liu M, Gao P, Wan Q, Deng F, Wei Y, Zhang X. *Macromol Rapid Commun*, 2017, 38: 1600575
- 9 Liu YC, Du W, Liu GJ, Zhou W, Gao XJ, Xing GW. *Chem Asian J*, 2021, 16: 277–281
- 10 Ning ZW, Wu SZ, Liu GJ, Ji YM, Jia LY, Niu XX, Ma RF, Zhang Y, Xing GW. *Chem Asian J*, 2019, 14: 2220–2224

- 11 Liu GJ, Long Z, Lv HJ, Li CY, Xing GW. *Chem Commun*, 2016, 52: 10233–10236
- 12 Ji YM, Liu GJ, Li CY, Liu YC, Hou M, Xing GW. *Chem Asian J*, 2019, 14: 3295–3300
- 13 Jia LY, Liu GJ, Ji YM, Zhang Y, Xing GW. *ChemNanoMat*, 2020, 6: 368–372
- 14 Liu GJ, Zhang Y, Zhou L, Jia LY, Jiang G, Xing GW, Wang S. *Chem Commun*, 2019, 55: 9869–9872
- 15 Lorand JP, Edwards JO. *J Org Chem*, 1959, 24: 769–774
- 16 Zhang XT, Liu GJ, Ning ZW, Xing GW. *Carbohydrate Res*, 2017, 452: 129–148
- 17 Hu F, Huang Y, Zhang G, Zhao R, Zhang D. *Tetrahedron Lett*, 2014, 55: 1471–1474
- 18 Song Z, Kwok RTK, Ding D, Nie H, Lam JWY, Liu B, Tang BZ. *Chem Commun*, 2016, 52: 10076–10079
- 19 Liu Y, Deng C, Tang L, Qin A, Hu R, Sun JZ, Tang BZ. *J Am Chem Soc*, 2011, 133: 660–663
- 20 Sanji T, Shiraishi K, Nakamura M, Tanaka M. *Chem Asian J*, 2010, 5: 817–824
- 21 Shiraishi K, Sanji T, Tanaka M. *Tetrahedron Lett*, 2010, 51: 6331–6333
- 22 Li D, Chen J, Hong M, Wang Y, Haddleton DM, Li GZ, Zhang Q. *Biomacromolecules*, 2021, 22: 2224–2232
- 23 Wang J, Hang Y, Hua J. *Sens Actuatur B-Chem*, 2019, 282: 232–242
- 24 Shen XY, Wang YJ, Zhang H, Qin A, Sun JZ, Tang BZ. *Chem Commun*, 2014, 50: 8747–8750
- 25 Hang Y, Wang J, Jiang T, Lu N, Hua J. *Anal Chem*, 2016, 88: 1696–1703
- 26 Hang Y, Cai X, Wang J, Jiang T, Hua J, Liu B. *Sci China Chem*, 2018, 61: 898–908
- 27 Zhang JD, Mei J, Hu XL, He XP, Tian H. *Small*, 2016, 12: 6562–6567
- 28 Mandal K, Jana NR. *ACS Appl Nano Mater*, 2018, 1: 3531–3540
- 29 Eggens I, Fenderson BA, Toyokuni T, Hakomori S. *Biochem Biophys Res Commun*, 1989, 158: 913–920
- 30 Hakomori S. *Pure Appl Chem*, 1991, 63: 473–482
- 31 Wang YJ, Xing GW. *Chin J Org Chem*, 2011, 31: 1157–1168 (in Chinese) [王亚娟, 邢国文. 有机化学, 2011, 31: 1157–1168]
- 32 Corfield T. *Glycobiology*, 1992, 2: 509–521
- 33 Liu GJ, Wang B, Zhang Y, Xing GW, Yang X, Wang S. *Chem Commun*, 2018, 54: 10691–10694
- 34 Fraschilla I, Pillai S. *Immunol Rev*, 2017, 276: 178–191
- 35 Macauley MS, Crocker PR, Paulson JC. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14: 653–666
- 36 Crocker PR, Paulson JC, Varki A. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7: 255–266
- 37 Zhang X, Gu Z, Liu L, Wang S, Xing G. *Chem Commun*, 2015, 51: 8606–8609
- 38 Hargrove AE, Reyes RN, Riddington I, Anslyn EV, Sessler JL. *Org Lett*, 2010, 12: 4804–4807
- 39 Zhang X, You L, Anslyn EV, Qian X. *Chem Eur J*, 2012, 18: 1102–1110
- 40 Zhang XT, Wang S, Xing GW. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9: 3368–3375
- 41 Schofield CL, Field RA, Russell DA. *Anal Chem*, 2007, 79: 1356–1361
- 42 Hu XM, Chen Q, Wang JX, Cheng QY, Yan CG, Cao J, He YJ, Han BH. *Chem Asian J*, 2011, 6: 2376–2381
- 43 Ding S, Liu M, Hong Y. *Sci China Chem*, 2018, 61: 882–891
- 44 Abraham K, Buhrke T, Lampen A. *Arch Toxicol*, 2016, 90: 559–574
- 45 Peng L, Wang M, Zhang G, Zhang D, Zhu D. *Org Lett*, 2009, 11: 1943–1946
- 46 Huang X, Gu X, Zhang G, Zhang D. *Chem Commun*, 2012, 48: 12195–12197
- 47 Pramanik S, Bhalla V, Kumar M. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2014, 6: 5930–5939
- 48 Hou M, Liu YC, Zhou W, Zhang JD, Yu FD, Zhang Y, Liu GJ, Xing GW. *Chem Asian J*, 2021, 16: 2014–2017
- 49 Kato T, Kawaguchi A, Nagata K, Hatanaka K. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 394: 200–204
- 50 Mattoussi H, Palui G, Na HB. *Adv Drug Deliver Rev*, 2012, 64: 138–166
- 51 Yang PY, Wang M, Li L, Wu H, He CY, Yao SQ. *Chem Eur J*, 2012, 18: 6528–6541
- 52 Wang Z, Chen S, Lam JWY, Qin W, Kwok RTK, Xie N, Hu Q, Tang BZ. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 8238–8245
- 53 Dong Z, Cui H, Wang Y, Wang C, Li Y, Wang C. *Carbohydrate Polym*, 2020, 227: 115338
- 54 Mandal K, Jana D, Ghorai BK, Jana NR. *New J Chem*, 2018, 42: 5774–5784
- 55 Jiang G, Wang J, Yang Y, Zhang G, Liu Y, Lin H, Zhang G, Li Y, Fan X. *Biosens Bioelectron*, 2016, 85: 62–67
- 56 Bao P, Li C, Ou H, Ji S, Chen Y, Gao J, Yue X, Shen J, Ding D. *Biomater Sci*, 2021, 9: 437–442

Progress in glycosylated aggregation-induced emission materials

Guangjian Liu, Gaili Feng, Xiafen Li, Yichen Liu, Wei Zhou, Yanming Ji, Yuan Zhang, Guowen Xing*

College of Chemistry, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

**Corresponding author (email: gwxing@bnu.edu.cn)*

Abstract: Materials with aggregation-induced emission (AIE) effect have excellent optical properties and are widely utilized in chemical sensing, biological probes and other fields. Since most classic AIE fluorogens are hydrophobic, their application was restricted to some extent. In the past 5 years, several glycosylated AIE-active fluorescent probes were synthesized by coupling the AIE cores with hydrophilic carbohydrates in our group and were used for detection of various biomolecules based on the special binding and reaction between these probes and analytes. These glycosylated AIE-active fluorescent probes with better water solubility and biocompatibility have low fluorescence background and low biological toxicity. This review summarized the recent progress on the glycosylated AIE-active fluorescent probes, hoping to expand the applications of AIE materials and provide effective tools for biochemistry research.

Keywords: carbohydrate, aggregation-induced emission, fluorescent detection, cellular imaging, lectins

doi: [10.1360/SSC-2021-0268](https://doi.org/10.1360/SSC-2021-0268)