Hans汉斯

聚集诱导发光型光敏剂合成及活性评价

罗成晖, 史俊晖, 张馨丹, 王昊宇, 苏 玉*

中国药科大学理学院, 江苏 南京

收稿日期: 2025年5月15日; 录用日期: 2025年6月23日; 发布日期: 2025年6月30日

摘要

目的:本文基于四苯乙烯母核结构合成了光敏剂分子OMe-DiS-DiPy,并对其光动力治疗活性进行了探究。 方法:通过紫外 - 可见光光谱及荧光谱对光敏剂的基本光学性质及光动力活性进行了测定。通过DCFH-DA荧光探针,ABDA探针以及DHR123荧光探针分别对光敏剂在溶液中的总ROS,¹⁰2及02⁻⁻生成进行测 定。结果:所合成的光敏剂在400~500 nm具有较强的吸收,在550~750 nm具有较强的荧光发射,在溶 液中能够产生ROS。结论:综上所述,本文所合成的光敏剂具有较好的ROS生成能力并通过I型途径及II 型途径产生ROS。

关键词

光动力治疗,聚集诱导发光,活性氧,单线态氧,超氧阴离子

Synthesis and Activity Evaluation of AIE Photosensitizer

Chenghui Luo, Junhui Shi, Xindan Zhang, Haoyu Wang, Yu Su*

School of Science, China Pharmaceutical University, Nanjing Jiangsu

Received: May 15th, 2025; accepted: Jun. 23rd, 2025; published: Jun. 30th, 2025

Abstract

Objective: In this study, we designed and synthesized a photosensitizer molecule (OMe-DiS-DiPy) based on a tetraphenylethylene (TPE) scaffold, and systematically evaluated its photodynamic therapy (PDT) efficacy. Methods: The optical properties and photodynamic activity were characterized using UV-Vis and fluorescence spectroscopy. The total ROS, $^{1}O_{2}$ and O_{2} - production were measured by DCFH-DA, ABDA and DHR123 probes, respectively. Results: The synthesized photosensitizer exhibited strong absorption at 400~500 nm and intense fluorescence emission at 550~750 nm. ROS production was

*通讯作者。

observed in solution. Conclution: In conclusion, the photosensitizers synthesized in this work have good ROS generation ability and produce ROS through the type I and type II pathways.

Keywords

Photodynamic Therapy, Aggregation-Induced Emission, Reactive Oxygen Species, Singlet Oxygen, Superoxide Anion

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc. This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0). <u>http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</u>

CC ① Open Access

1. 引言

1.1. 光动力治疗发展历程

在 1903 年 Herman Von Tappeiner 和 A. Jesionek 局部应用的伊红素和白光治疗皮肤肿瘤,他们首次 提出"光动力作用"这一概念[1]。由此,PDT 在临床上用于治疗癌症已有 100 多年的历史。全球范围内, 已有数百项临床试验评估了 PDT 在实体瘤中的应用,且过去几十年获批的适应症持续增加,主要包括食 管癌、肺癌、头颈部癌和皮肤癌等。图 1 从局部治疗及系统治疗两个层面展示了近 30 年来 PDT 在不同 国家和不同治疗领域的发展时间轴。



Figure 1. The development of photodynamic therapy [1] 图 1. 光动力治疗发展历程[1]

1.2. 光动力治疗的优势及劣势

光动力治疗具有以下优势:(1)诱导免疫反应[2]:光动力治疗过程中,病变细胞的死亡会释放出肿瘤 相关抗原,激活机体的免疫系统,诱导系统性抗肿瘤免疫反应。这种免疫激活作用有助于清除残留的肿 瘤细胞,防止肿瘤复发和转移。(2) 增强其他治疗方式敏感性[3]: PDT 可以通过调节肿瘤灌注、血管和 细胞外基质通透性以及肿瘤环境来改善药物传递,有助于增强其他治疗方法(如化疗、放疗)的效果。(3) 多机制协同作用[3]: 光动力治疗不仅可以直接杀伤病变细胞,还可以通过诱导细胞凋亡、自噬等多种生 物学过程,发挥协同治疗效果。

尽管光动力治疗具有许多优点,但目前仍存在一些局限性:(1)组织穿透深度有限[4]:光动力治疗依赖于光的穿透,而光在组织中的穿透深度有限,通常只能达到几毫米到几厘米。这使得光动力治疗在治疗深层肿瘤时效果受限,对于较大或位置较深肿瘤,可能需要结合其他治疗方法。(2)对氧气依赖性强[5]:光动力治疗需要足够的氧气来产生活性氧,而缺氧是许多肿瘤微环境的固有特征,严重限制了依赖氧的光动力疗法的疗效。(3)存在脱靶毒性[6]:虽然光敏剂能够一定程度上富集在病变组织中,但其在正常组织中的分布仍难以完全避免。这可能导致非靶组织的光毒性反应,增加治疗的副作用。

1.3. 光动力治疗基本原理

自 20 世纪末以来,光动力疗法因其低创或无创在肿瘤治疗中展现出广阔前景[1] [7]。光激活后产生 ROS,对蛋白质、核酸和脂质造成损伤,进而诱导细胞凋亡[8],光动力治疗的基本流程如图 2(A)所示。



Figure 2. Basic principles of photodynamic therapy [9] [10]: (A) Basic process of photodynamic therapy; (B) Different light modes in PDT; (C) Reactive oxygen species production mechanism

图 2. 光动力治疗基本原理[9] [10]: (A) 光动力治疗基本流程; (B) 光动力治疗中不同光照方式; (C) 活性氧产生 机理

光动力治疗的光源如图 2(B)中展示,根据肿瘤的位置及范围,可以采用不同的光照方式。在 PDT 过程中, 光敏剂产生 ROS 的机制如图 2(C)所示:在激发态下,光敏剂通过 ISC 过程从 S1 态转变为 T1 态。之后, 处于 T1 态的光敏剂通过能量转移或电子转移回到基态,产生单线态氧、超氧阴离子、过氧化氢、羟基自 由基等 ROS [10]。

1.4. AIE 型光敏剂

唐本忠团队[11]于 2001 年发现并提出了 AIE 这一概念。图 3(A)展示了 ACQ 及 AIE 原理的示意图。 目前主要通过分子内运动受限(RIM)机制解释这一现象,具有旋转或振动单元的分子,在稀溶液中由于低 频转动或振动,分子受到光照激发后,能量主要通过非辐射衰变,无法产生荧光。而在聚集态中相互



Figure 3. The AIE photosensitizers [10] [19]: (A) Schematic diagram of ACQ and AIE principle; (B) Example of AIE molecular structure based on RIR or RIV mechanism 图 3. AIE 型光敏剂[10] [19]: (A) ACQ 及 AIE 原理示意图; (B) 基于 RIR 或 RIV 机制的 AIE 分子结构举例

堆叠的分子阻碍了转动与振动的发生,因此当分子受到光照激发后,能量主要以辐射衰变,从而产生荧光。图 3(B)展示了一些基于 RIR [12]及 RIV [13]机理产生 AIE 的一些典型光敏剂母核结构。

目前有许多研究报道 AIE 型光敏剂用于光动力疗法治疗肿瘤。唐本忠等[14]报道了包含三种三苯胺 骨架的光敏剂的纳米粒子用于光动力治疗肿瘤。三种光敏剂分别靶向线粒体、细胞膜和溶酶体,协同增 强光动力治疗的效果。刘斌等[15]报道了一种基于炔和叠氮化物之间点击反应的四苯乙烯骨架的光敏剂 作为发光探针,用于成像以及光动力治疗。

目前全球已批准 40 余种光敏剂用于临床[6],已获批的光敏剂中,按照结构分类,以卟啉类(如 Photofrin[®])和叶绿素衍生物(如 Foscan[®])为主。然而,这些光敏剂存在的聚集诱导淬灭效应导致其 ROS 产率下降,以及肿瘤微环境缺氧导致的疗效受限等问题,仍是制约其临床转化的关键瓶颈[16]。AIE 型光敏剂由于其独特的 AIE 特性,能够显著提升 ROS 生成效率,同时实现诊断与治疗一体化[17]。唐本忠等[18] 研究发现电子供体比电子受体更多或者多聚时,S1 与 T1 的能隙差更小,更利于 ROS 的生成。本文以四苯乙烯为母核,芳香杂环及双键作为π桥,末端的吡啶及氰基作为电子受体基团构成 D-π-A 结构,同时通过在双侧均引入噻吩基团作为π桥增大光敏剂的共轭体系,减小能隙差,提高活性氧生成能力。

2. 实验仪器及试剂

2.1. 实验仪器

紫外 - 可见 - 近红外分光光度计(UV3600+, SHIMADZU); 荧光分光光度计(RF-6000, SHIMADZU); 氙灯(CEL-HXF300-T3, 中教金源)。

2.2. 实验试剂

以下试剂均购自毕得医药: 双(4-(二甲氧基)苯基)甲酮; 4,4'-二溴二苯甲酮; 5-甲酰基噻吩-2-硼酸; 四 (三苯基膦)钯; 4-吡啶乙腈盐酸盐; ABDA; DCFH-DA; DHR123。以下试剂均购自安耐吉化学: 四氢呋 喃; 乙醇。以下试剂均购自沪试: 碳酸钾; 锌粉。以下试剂均购自上海凌峰化学: 二氯甲烷; 乙酸乙酯; 石油醚; 甲醇; 乙醇。

3. 实验方法

3.1. 化合物合成

光敏剂合成路线如图 4 所示。以 4,4'-二溴二苯甲酮和双(4-甲氧基苯基)甲烷为原料,通过 McMurry 偶联反应构建四苯乙烯母核。然后,通过 Suzuki 偶联反应将噻吩环偶联到四苯基乙烯上。最后,通过脑 文格缩合反应合成光敏剂。



 OMe-DiBr
 OMe-DiS-CHO
 OMe-DiS-DiPy

 试剂及条件: (a) 双(4-(二甲氧基)苯基)甲酮, 锌粉, 四氯化钛, 四氢呋喃, 0℃~70℃, 18 h; (b) 5-甲酰基噻吩-2-硼酸, 四(三苯基膦)钯, 碳酸钾, 四氢呋喃/水(V/V=4/1), 75℃, 12 h; (c) 4-吡啶乙腈盐酸盐, 哌啶, 无水乙醇, 80℃, 12 h。

Figure 4. Synthesis route of photosensitizer 图 4. 光敏剂合成路线

3.2. 光谱测定

用不同溶剂配制 10 μM 的光敏剂溶液。测定光敏剂在 300~800 nm 处的紫外 - 可见吸收光谱以及在 600~800 nm 处的荧光光谱。

3.3. 总 ROS 生成测定

将 0.5 mL DCFH-DA (1×10⁻³ M) 乙醇溶液中加入 2 mL 1×10⁻² M NaOH 水溶液中,搅拌 30 min。 用 10 mL 1×PBS 中和,避光保存。配制 100 μM 的光敏剂溶液(DMSO/PBS, V/V = 1/99)。取 10 mL 样品 瓶,分别加入 100 μL 活化后 DCFH-DA, 1 mL 光敏剂母液, 8.9 mL PBS。以氙灯为光源(300 mW/cm²), 照射时长 150 s,每隔 30 s 取样。测定 DCF 在 490 nm 激发下 500~700 nm 处的荧光光谱。

3.4.¹O₂及O₂⁻⁻生成测定

配制 100 μM 光敏剂母液(DMSO/PBS, V/V = 1/99)。分别配制 100 μM ABDA, DHR123 母液(DMSO/PBS, V/V = 1/99)。取 10 mL 样品瓶,加入 8 mL ABDA 母液,1 mL 光敏剂母液,1 mL 1 × PBS。取 10 mL 样品瓶,加入 1 mL DHR123 母液,1 mL 光敏剂母液,8 mL 1 × PBS。以氙灯为光源(300 mW/cm²),照射时长 5 min,每隔 1 min 取样。测定 ABDA 的紫外吸收光谱以及 DHR123 的荧光光谱。

4. 实验结果与讨论

4.1. 光敏剂基本光学性质

如图 5(A)所示,光敏剂在 400~500 nm 具有紫外吸收,并且最大吸收峰位于 420 nm 左右。图 5(B)显示,光敏剂分在 600~800 nm 产生荧光。

4.2. 光敏剂光动力活性

以 DCFH-DA 作为指示剂,评估光敏剂的 ROS 生成效率。DCFH-DA 水解产生 DCFH,随后被 ROS 氧化为 DCF,在 488 nm 激发光下发出绿色荧光(λem = 525 nm),并且荧光强度与 ROS 水平呈正相关[20]。

图 5(C)、图 5(D)为荧光光谱谱图及荧光强度时间变化。加入光敏剂并光照后,DCF的荧光强度随光照时间增加而增强,并且光敏剂处理组的 DCF 荧光强度显著高于阳性对照组。上述结果说明光敏剂具有较高的 ROS 生成能力。

光敏剂根据产生机制可分为 I 型光敏剂及 II 型光敏剂。产生 ¹O₂ 是 II 型光敏剂的重要标志,而产生 O₂⁻⁻ 是 I 型光敏剂的重要标志。ABDA 与 ¹O₂反应后,分子中的蒽环结构发生[4+2]环加成反应,其在紫外 - 可见光谱中的特征吸收峰(380 nm)强度显著降低[21]。而 O₂⁻⁻的检测,可以采用 DHR123 作为荧光探针, DHR 123 在 O₂⁻⁻存在下被氧化,生成荧光产物,在 485 nm 激发光下产生绿色荧光[22]。

图 5(E)、图 5(F)为不同光敏剂处理后 ABDA 紫外吸收随时间变化图。相较于空白对照组,光敏剂处理后,ABDA 的紫外吸收显著降低,并且光敏剂处理组 ABDA 紫外吸收值变化与阳性对照相近。图 5(G)、图 5(H)为不同光敏剂处理后 DHR123 荧光强度随时间变化图。相较于空白对照组,光敏剂处理后,DHR123 荧光强度显著增强,并且光敏剂处理组的 DHR123 荧光强度变化与阳性对照相近。上述结果说明光敏剂能够通过 I 型途径及 II 型途径产生 ROS。

5. 总结与展望

本论文设计并合成了一种基于四苯乙烯母核的 AIE 型光敏剂,所合成的光敏剂具有较好的 ROS 生成能力,并通过 I 型途径及 II 型途径产生 ROS。



Figure 5. Optical Properties and photodynamic activity of photosensitizer: (A) UV-vis absorption spectra of 10 μM photosensitizer in different solvents; (B) fluorescence spectrum of 5 μM photosensitizer (λex: 420 nm, solvent: DMSO/H₂O = 1/99); (C) Fluorescence spectrum of DCFH-DA in solution containing 10 μM different photosen-sitizer (λex = 490 nm, DCFH-DA concentration: 0.4 μM) after illumination for different times; (D) The fluorescence intensity of DCFH-DA at 523 nm in the solution containing 10 μM photosensitizer as a function of illumination time (λex = 490 nm, DCFH-DA concentration: 0.4 μM); (E) UV-vis absorption spectra of ABDA in the solution containing 10 μM photosensitizer after illumination for different times; (F) The variation of ABDA UV absorption intensity at 380 nm with time in the solution containing 10 μM photosensitizer (A0 represents the UV absorption value of the solution at 0 min); (G) Fluorescence intensity of DHR123 in the solution containing 10 μM photosensitizer after illumination for different times; (H) Fluorescence intensity of DHR123 at 525 nm as a function of time in solution containing 10 μM photosensitizer **8** 5. 光敏剂光学性质及光动力活性测定结果: (A) 不同溶剂中 10 μM 光敏剂的紫外 - 可见吸收光谱; (B) 5 μM 光敏剂的茨 光光谱(λex = 490 nm, DCFH-DA 浓度: 0.4 μM); (D) DCFH-DA 在含 10 μM 光敏剂的溶液中 523 nm 处荧光强度随光照时间变

光谱(λex = 490 nm, DCFH-DA 浓度: 0.4 μM); (D) DCFH-DA 在含 10 μM 光敏剂的溶液中 523 nm 处荧光强度随光照时间变 化图(λex = 490 nm, DCFH-DA 浓度: 0.4 μM); (E) 光照不同时间后, ABDA 在含 10 μM 光敏剂的溶液中紫外吸收 - 可见吸 收光谱; (F) ABDA 在含 10 μM 光敏剂的溶液中 380 nm 处紫外吸收强度随时间变化图(A0 表示 0 分钟时溶液紫外吸收值); (G) 光照不同时间后, DHR123 在含 10 μM 光敏剂的溶液中荧光光谱; (H) DHR123 在含 10 μM 不同光敏剂的溶液中 525 nm 处荧光强度随时间变化图

AIE 型光敏剂在医学影像与诊疗一体化领域展现出显著的应用潜力,但其临床转化仍面临多重技术瓶颈。首先,水溶性较差;其次,激发波长多位于可见光区,组织穿透深度有限,难以实现深层组织的精准成像与治疗;此外,PDT产生的 ROS 扩散后会引发"旁观者效应",导致邻近正常组织损伤[23]。因此,新一代 AIE 型光敏剂主要集中在以下方面:分子结构优化,改善水溶性与光物理特性,设计近红外二区响应的光敏剂,以及开发靶向递送光敏剂。

基金项目

中国药科大学高层次人才引进项目(3150050052);中国药科大学大学生创新创业训练计划项目 (3322400295)。

参考文献

- Dolmans, D.E.J.G.J., Fukumura, D. and Jain, R.K. (2003) Photodynamic Therapy for Cancer. *Nature Reviews Cancer*, 3, 380-387. <u>https://doi.org/10.1038/nrc1071</u>
- [2] Huisin't Veld, R.V., Heuts, J., Ma, S., Cruz, L.J., Ossendorp, F.A. and Jager, M.J. (2023) Current Challenges and Opportunities of Photodynamic Therapy against Cancer. *Pharmaceutics*, **15**, Article No. 330. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020330

- [3] Sultana, N., Pathak, R., Samanta, S. and Sen Sarma, N. (2025) A Comprehensive Analysis of Photothermal Therapy (PTT) and Photodynamic Therapy (PDT) for the Treatment of Cancer. *Process Biochemistry*, 148, 17-31. <u>https://doi.org/10.1016/j.procbio.2024.11.015</u>
- [4] Singh, P.P., Sinha, S., Gahtori, P., Mishra, D.N., Pandey, G. and Srivastava, V. (2024) Recent Advancement in Photosensitizers for Photodynamic Therapy. *Dyes and Pigments*, **229**, Article ID: 112262. https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2024.112262
- [5] Yu, L., Liu, Z., Xu, W., Jin, K., Liu, J., Zhu, X., *et al.* (2024) Towards Overcoming Obstacles of Type II Photodynamic Therapy: Endogenous Production of Light, Photosensitizer, and Oxygen. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 14, 1111-1131. <u>https://doi.org/10.1016/j.apsb.2023.11.007</u>
- [6] Agostinis, P., Berg, K., Cengel, K.A., Foster, T.H., Girotti, A.W., Gollnick, S.O., *et al.* (2011) Photodynamic Therapy of Cancer: An Update. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **61**, 250-281. <u>https://doi.org/10.3322/caac.20114</u>
- [7] Sobhani, N. and Samadani, A.A. (2021) Implications of Photodynamic Cancer Therapy: An Overview of PDT Mechanisms Basically and Practically. *Journal of the Egyptian National Cancer Institute*, 33, Article No. 34. https://doi.org/10.1186/s43046-021-00093-1
- [8] Viana Cabral, F., Quilez Alburquerque, J., Roberts, H.J. and Hasan, T. (2024) Shedding Light on Chemoresistance: The Perspective of Photodynamic Therapy in Cancer Management. *International Journal of Molecular Sciences*, 25, Article No. 3811. <u>https://doi.org/10.3390/ijms25073811</u>
- [9] Li, X., Lovell, J.F., Yoon, J. and Chen, X. (2020) Clinical Development and Potential of Photothermal and Photodynamic Therapies for Cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 17, 657-674. <u>https://doi.org/10.1038/s41571-020-0410-2</u>
- [10] Ni, J., Wang, Y., Zhang, H., Sun, J.Z. and Tang, B.Z. (2021) Aggregation-Induced Generation of Reactive Oxygen Species: Mechanism and Photosensitizer Construction. *Molecules*, 26, Article No. 268. https://doi.org/10.3390/molecules26020268
- [11] Luo, J., Xie, Z., Lam, J.W.Y., Cheng, L., Tang, B.Z., Chen, H., et al. (2001) Aggregation-Induced Emission of 1-Methyl-1,2,3,4,5-pentaphenylsilole. *Chemical Communications*, No. 18, 1740-1741. <u>https://doi.org/10.1039/b105159h</u>
- [12] Ding, D., Li, K., Liu, B. and Tang, B.Z. (2013) Bioprobes Based on AIE Fluorogens. Accounts of Chemical Research, 46, 2441-2453. <u>https://doi.org/10.1021/ar3003464</u>
- [13] Yuan, C., Saito, S., Camacho, C., Kowalczyk, T., Irle, S. and Yamaguchi, S. (2014) Hybridization of a Flexible Cyclooctatetraene Core and Rigid Aceneimide Wings for Multiluminescent Flapping Π Systems. *Chemistry—A European Journal*, **20**, 2193-2200. <u>https://doi.org/10.1002/chem.201303955</u>
- [14] Xu, W., Lee, M.M.S., Nie, J., Zhang, Z., Kwok, R.T.K., Lam, J.W.Y., *et al.* (2020) Three-Pronged Attack by Homologous Far-Red/NIR AIEgens to Achieve 1 + 1 + 1 > 3 Synergistic Enhanced Photodynamic Therapy. *Angewandte Chemie International Edition*, **59**, 9610-9616. <u>https://doi.org/10.1002/anie.202000740</u>
- [15] Hu, F., Yuan, Y., Wu, W., Mao, D. and Liu, B. (2018) Dual-Responsive Metabolic Precursor and Light-Up AIEgen for Cancer Cell Bio-Orthogonal Labeling and Precise Ablation. *Analytical Chemistry*, **90**, 6718-6724. <u>https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b00547</u>
- [16] Lucky, S.S., Soo, K.C. and Zhang, Y. (2015) Nanoparticles in Photodynamic Therapy. *Chemical Reviews*, 115, 1990-2042. <u>https://doi.org/10.1021/cr5004198</u>
- [17] Lovell, J.F., Jin, C.S., Huynh, E., Jin, H., Kim, C., Rubinstein, J.L., *et al.* (2011) Porphysome Nanovesicles Generated by Porphyrin Bilayers for Use as Multimodal Biophotonic Contrast Agents. *Nature Materials*, 10, 324-332. <u>https://doi.org/10.1038/nmat2986</u>
- [18] Hu, F., Yuan, Y., Mao, D., Wu, W. and Liu, B. (2017) Smart Activatable and Traceable Dual-Prodrug for Image-Guided Combination Photodynamic and Chemotherapy. *Biomaterials*, 144, 53-59. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.08.018
- [19] Liu, Y.Y., Zhang, X., Li, K., Peng, Q.C., Qin, Y.J., Hou, H.W., et al. (2021) Restriction of Intramolecular Vibration in Aggregation-Induced Emission Luminogens: Applications in Multifunctional Luminescent Metal-Organic Frameworks. Angewandte Chemie International Edition, 60, 22417-22423. <u>https://doi.org/10.1002/anie.202108326</u>
- [20] Murphy, M.P., Bayir, H., Belousov, V., Chang, C.J., Davies, K.J.A., Davies, M.J., et al. (2022) Guidelines for Measuring Reactive Oxygen Species and Oxidative Damage in Cells and in Vivo. Nature Metabolism, 4, 651-662. https://doi.org/10.1038/s42255-022-00591-z
- [21] Xu, J., Jin, X., Wu, X., Li, X., Li, C., Li, S., et al. (2024) Regulating Donor Configuration to Develop AIE-Active Type I Photosensitizers for Lipid Droplet Imaging and High-Performance Photodynamic Therapy under Hypoxia. *Journal of Materials Chemistry B*, **12**, 6384-6393. <u>https://doi.org/10.1039/d4tb00051j</u>
- [22] Tang, Y., Li, Y., Li, B., Song, W., Qi, G., Tian, J., *et al.* (2024) Oxygen-Independent Organic Photosensitizer with Ultralow-Power NIR Photoexcitation for Tumor-Specific Photodynamic Therapy. *Nature Communications*, **15**, Article

No. 2530.	. https://doi.org/10.1038/s41467-024-46768-w	
-----------	--	--

[23] Sies, H. and Jones, D.P. (2020) Reactive Oxygen Species (ROS) as Pleiotropic Physiological Signalling Agents. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21, 363-383. <u>https://doi.org/10.1038/s41580-020-0230-3</u>