

# 代谢组学在 BPH 与高脂血症中的研究进展

朱红飞<sup>1</sup> 关晓海<sup>2</sup> 通讯作者

(1.华北理工大学 2.华北理工大学附属医院)

摘要：代谢组是继基因组、转录组和蛋白质组之后出现的一种新的研究手段,主要针对小分子代谢中间体及代谢产物进行研究,大部分相对分子质量小于 1000,可以识别细胞特定过程产生的独特化学模式<sup>[1]</sup>。同时代谢组学是发现新生物标志物,探索疾病机制,明确诊断及个体化治疗的重要手段。本文就代谢组学在 BPH 及高脂血症患者中探索发病机制的应用进行综述。

关键词：代谢组学；良性前列腺增生；高脂血症

## 1 BPH 的研究现状

### 1.1 BPH 的定义及流行病学特征

良性前列腺增生 (benign prostatic hyperplasia, BPH), 也称前列腺增生, 是造成中老年男性排尿障碍的主要原因之一。中国男性前列腺增生以 40 岁后多见, 发病率随年龄增大具有明显上升趋势, 当处于 51~60 年龄段时, 发病率约 20%, 61~70 年龄段发病率约 50%, 超过 80 岁之后, 发病率则高达 83%<sup>[2]</sup>。

### 1.2 BPH 的发病机制

尽管对 BPH 进行了大量的研究, 但具体的致病机制尚未完全阐明。目前认为, 衰老与功能正常的睾丸是导致 BPH 的两个主要原因<sup>[3]</sup>。BPH 主要表现在: ①. 前列腺体积 (Prostate volume, PV) 增大; ②. 前列腺间质以及腺体成分增生; ③. 膀胱出口梗阻<sup>[4]</sup>。前列腺增生组织对尿道的压迫, 造成后尿道变长、狭窄, 增加尿道的阻力, 导致膀胱内压力升高, 产生下尿路症状 (Lower urinary tract symptoms, LUTS)<sup>[5,6]</sup>。LUTS 表现为储尿期、排尿期以及排尿后症状三方面。若患者合并代谢综合征 (Metabolic syndrome, MetS), 则会加重 LUTS<sup>[7]</sup>。国内外多数研究表明 BPH 可能与以下因素密切相关, 现对主要发病机制进行总结。

#### 1.2.1 BPH 与雄激素、雌激素

雄激素在前列腺的发育、分化和存活方面至关重要。睾酮与年龄有关, 尽管血清睾酮水平较低, 但 PV 会随着年龄的增长而增加, 从而影响前列腺结构<sup>[8]</sup>。男性雄性激素由睾丸分泌, 经 5 $\alpha$ -还原酶催化产生二氢睾酮 (Dihydrotestosterone, DHT), 继而芳基化生成雌二醇。DHT 是体内最活跃的雄激素<sup>[9]</sup>。在老年男性中, 5 $\alpha$ -还原酶活性增加, 导致雄激素/DHT 降低, DHT 促进前列腺细胞生长, PV 增大<sup>[10]</sup>。雄激素是 BPH 发病的必要条件, 用雄激素刺激去势处理的动物可诱发 BPH<sup>[11]</sup>。DHT 诱导上皮细胞分裂, 激活间质, 启动增殖, 导致 BPH<sup>[12]</sup>。

雌激素作为一种重要的激素, 可通过调控细胞增殖与凋亡, 影响生殖及神经系统的发育。雌二醇是体内最重要的雌激素。在男性体内, 只有 30% 的雌激素是从睾丸的滋养细胞中产生的。雌激素通过激活前列腺雌激素受体  $\alpha$  和  $\beta$  发挥作用<sup>[13]</sup>, 刺激前列腺基质细胞分化和上皮细胞增殖, 表达水平随时间和疾病进

展而变化, 同时雌激素受体信号通路在 BPH 和 LUTS 的发展中可能很重要<sup>[14]</sup>。因此, 雌激素剥夺可能是治疗 BPH 的方法<sup>[15]</sup>。

#### 1.2.2 BPH 与高脂血症

Omran 等<sup>[16]</sup>发现高脂血症 (Hyperlipidemia) 与 BPH 呈正相关, 血浆总胆固醇 (Total cholesterol, TC) 和低密度脂蛋白胆固醇 (Low density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 在 BPH 患者中明显升高, 而高密度脂蛋白胆固醇 (High density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 明显下降。高甘油三酯血症 (High triacylglycerol, HTG) 是动脉粥样硬化性心血管疾病的危险因素<sup>[17]</sup>。加用他汀类药物的治疗 BPH 合并高脂血症患者, 连续 6 个月后, 实验组 LUTS 明显改善<sup>[18]</sup>, 推断血脂异常可能会导致前列腺组织微环境改变, 脂质紊乱较早累及血管, 出现动脉粥样硬化后, 前列腺的灌注量会明显减少, 导致局部组织的缺血、缺氧。从组织学观察, BPH 患者前列腺间质纤维化, 增厚, 加速 BPH 的发展; 而 LUTS 可通过抑制胆固醇代谢, 加速动脉粥样硬化的进展<sup>[19]</sup>。同时 Ozden<sup>[20]</sup>等研究高脂血症合并 BPH 患者发现, 高脂血症组 HDL-C 显著下降, TG 显著增高, 而 LDL-C 则无显著性差异, 从而推测 BPH 与 HDL-C、TG 的关系更为密切。BPH 受饮食影响, 脂肪酸会促进前列腺组织的生长<sup>[21]</sup>, 在一些国家中, 长期低脂饮食, 心血管疾病发生率显著降低, BPH 发生率也较低, 从而体现出密切相关性。

#### 1.2.3 BPH 与高血压

临床研究发现, BPH 合并高血压患者有更高的国际前列腺症状评分 (International prostate symptom score, IPSS) 和更大的 PV<sup>[22]</sup>, 这表明高血压与 LUTS 存在一定的联系, 高血压可能是 BPH 的危险因素之一。Zusman 等<sup>[23]</sup>研究发现, 在高血压状态下, 小动脉内膜的增厚和硬化会引起前列腺组织的血管增生, 从而使 PV 增大。BPH 与高血压的最大关联是交感神经兴奋性增高, 在 Zusman 等<sup>[23]</sup>研究中, 对合并高血压的 BPH 患者加用 4mg/d 多沙唑嗪, 不仅能很好地控制血压, 对 LUTS 有显著的改善。因此体现了高血压与 BPH 之间存在一定的相关性。

#### 1.2.4 BPH 与糖尿病

MetS 是一组中心性肥胖和胰岛素抵抗 (Insulin resistance,

IR) 相关的代谢异常综合征<sup>[24]</sup>。2-型糖尿病主要体现为 IR<sup>[25]</sup>, IR 也是 MetS 发展过程的核心环节。IR 引起代谢紊乱, 导致动脉粥样硬化, 可能是导致 BPH 的关键因素。Parsons 等<sup>[26]</sup>研究发现 PV 增大的速率与空腹血糖 (Fasting Blood Glucose, FBG) 水平呈正相关。当合并糖尿病时, BPH 发病率提高一倍。IR 导致  $\beta$  细胞持续分泌更多的胰岛素代偿, 继而引发高胰岛素血症。代偿性的高胰岛素血症和 IR 是 BPH 的危险因素<sup>[27]</sup>。国内研究 90 例 BPH 患者, 分为 FBG 正常组和 FBG 异常组。观察两组患者 PV、前列腺特异性抗原 (prostate-specific antigen, PSA) 和 IPSS 相关指标。发现 FBG、空腹胰岛素 (FINS) 和细胞介素-8 (IL-8) 和 COX-2 水平与 IPSS 密切相关, 可反映 BPH 的严重程度和预后<sup>[28]</sup>。通过降低血糖, 改善 IR 和控制炎症因子水平, 可有效地延缓 BPH 的发展。

### 1.2.5 BPH 与肥胖

肥胖是由于体内脂肪过量或者是脂肪的分布异常所致。肥胖是 BPH 的一个独立危险因素, 特别是中心性肥胖的患者, 发病风险更高<sup>[29]</sup>, 这是由于脂肪组织的内分泌效应、性激素平衡失调、IR 等多个方面的原因, 最终导致肥胖患者 BPH 的发病风险增加。Parsons 等<sup>[26]</sup>发现肥胖指数 (Body mass index, BMI) 与 PV 呈正相关。Kristal 等<sup>[30]</sup>研究发现, 腹部脂肪组织具有转化合成性激素的作用, 中心型肥胖患者腹部脂肪堆积异常, 导致性激素水平的异常, 而性激素紊乱促进 BPH; 另外, 肥胖病人由于腹内压增高, 使腹腔静脉压力增大, 引起静脉瓣功能障碍, 继而引起精索静脉曲张, 最后引起前列腺病变, 也是肥胖引起 BPH 的又一诱因。

### 1.2.6 BPH 与前列腺炎

炎症反应贯穿 BPH 整个发病过程, 在疾病发展中的有重要作用重。急性和慢性前列腺炎在老年人前列腺组织中阳性率为 80% 以上<sup>[31]</sup>。炎症反应可使 BPH 患者 LUTS 加重, 增加急性尿潴留的危险<sup>[32]</sup>。伴有炎症的 BPH 患者, PV 与炎症反应的严重程度成正比。炎症刺激细胞增殖, 与 BPH 密切相关。其作用途径包括组织损伤和慢性愈合、自身免疫和与雄激素的相互作用。在炎症进展过程中, IL-8、IL-1 和巨噬细胞以及其致炎物质在局部聚集, 并通过生化途径导致 BPH<sup>[33]</sup>。此外在炎症反应中, 趋化因子也起到重要作用, 特别是蛋白激酶 (MAPK) 和 3-磷酸肌醇激酶 (PI3K)<sup>[34]</sup>。临床较早对前列腺炎进行适当干预和治疗, 可以预防或延缓 BPH。

### 2. 临床高脂血症患者代谢组学研究现状

高脂血症是一种以血脂、TG 为主要表现的血脂异常, 伴有 HDL-C 下降和 (或) LDL-C 升高<sup>[35]</sup>。高脂血症在世界卫生组织 (WHO) 中有比较细致和复杂的分类。但在临床上, 通常划分为高胆固醇血症、HTG、混合型高脂血症、低高密度脂蛋白血症<sup>[36]</sup>。目前代谢组学在高脂血症的研究相对较少, 多集中对于

疾病本身或并发症的研究, 或者关注于单一不同分型高脂血症。

#### 2.1 不同分型高脂血症疾病本身代谢组学研究

Lee 等<sup>[17]</sup> 研究对 111 名轻、中重度 HTG (排除肥胖和糖尿病) 和健康人进行了比较, 结果显示: HTG 组血清中的溶血磷脂、酰胺和软脂酰胺含量增高, 而 cis-4-辛烯二酸和二十二烷酰胺含量下降, 在 OPLS-DA 中, LysoPC 16:0 和棕榈酰胺是能够区分 HTG 组和 NTG 组的主要代谢物, 并与空腹 TG 水平呈正相关。在 Qi Li 等<sup>[37]</sup> 研究中, 同时各入组混合型高脂血症患者与健康人群 35 例, 获取口服糖耐量实验 (OGTT) 餐后两小时的静脉血, 进行代谢组学分析, 研究发现, 高脂血症病人血浆中的支链氨基酸 (Branched Chain Amino Acids, BCAAs) 及芳香型氨基酸可经蛋白代谢, 引起脂类代谢异常及 IR, 并伴有氧化应激及能量代谢障碍。除此之外, 在特殊生理阶段的单一分型高脂血症研究方面, 曲冬颖等<sup>[38]</sup> 研究筛选代谢正常妊娠期和伴混合型高脂血症的人群各 20 例, 发现高脂妊娠孕妇血浆代谢谱具有显著差异, 其中柠檬酸、苹果酸、 $\alpha$ -酮戊二酸、冬氨酸等代谢产物均发生了变化, 提示孕期高脂血症孕妇体内存在多条代谢途径异常, 且这些代谢途径的失调可能是其致病机理之一。

#### 2.2 高脂血症并发症代谢组学研究

在高脂血症合并肥胖的研究中, 发现与健康非肥胖人群相比, 高脂血症伴肥胖患者体内 TG 和 TC 水平均显著升高, 高脂血症伴肥胖可能与多条代谢途径的紊乱有关, 如脂肪酸代谢、磷脂代谢、花生四烯酸代谢等<sup>[39]</sup>。临床研究发现, 代谢组学可用于高脂血症早期发病预防与诊断, 以及高脂血症相关并发症或生理病理过程的深入研究。

#### 3. 代谢组学的概念与应用

代谢组学是一种以小分子化合物为主要成分, 以高通量测序为主要手段, 通过对化合物的分析, 实现对代谢物的定性、定量分析。代谢组学作为一个独特的科学领域, 近年来, 利用质谱技术建立的代谢组分析方法, 能够实现数千计的代谢产物进行快速、准确的分析, 具有广阔的应用前景<sup>[40]</sup>。代谢组学技术可以分析出代谢物结构、目标谱和相关的代谢途径, 同时代谢组学拥有复杂的生物信息学分析和强大的数学建模能力, 为疾病研究提供极大的便利<sup>[41]</sup>。这些小分子携带着丰富的生物信息, 可以反映生物系统响应、疾病进展和治疗的生理或病理过程, 研究发现其中一些可能是治疗性干预的分子靶点<sup>[42]</sup>。代谢组学研究中常用的生物样品包括病变组织, 血液, 尿液, 粪便等。核磁共振 (NMR)、气相色谱 (GC) 和液相色谱 (LC) 是最常见的代谢组分析方法, 其中使用 NMR 和质谱方法为代谢组学提供了高质量的大数据<sup>[43, 44]</sup>。不同生活方式人群的代谢特征可能在疾病发展过程中是不同的<sup>[45]</sup>, 因此, 代谢组学不但是一种有前途的生物标志物筛选工具, 也可以用于个性化药物的诊断、预后以及跟踪患者治疗前后的反应, 并为患者个体

化治疗开发新的方法。

#### 4. 展望

代谢组学是一种集分析化学、生物化学、生物信息学和医学于一体的新兴学科。目前主要应用于肿瘤标记物的发掘,而对一些常见病的致病机制研究则相对有限<sup>[46]</sup>。代谢组学的全面性、整体性特点尤其适用于探索病因不明的全身性疾病的病因、机制。BPH 作为老年男性常见疾病,对中国男性健康发展造成很大困扰,应用新技术,探索 BPH 与高脂血症之间的联系,进一步明确 BPH 的发病机制,代谢组学虽处于起步阶段,但为 BPH 的防治提供新的思路,今后应用新技术,在基础疾病探索会越来越完善。

#### 参考文献:

- [1]NICHOLSON J K,LINDON J C, HOLMES E. 'Metabonomics': understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. *Xenobiotica*, 1999, 29(11): 1181-9.
- [2]GU F L, XIA T L, KONG X T. Preliminary study of the frequency of benign prostatic hyperplasia and prostatic cancer in China [J]. *Urology*, 1994, 44(5): 688-91.
- [3]任毅, 王瑶, 郑入文. 良性前列腺增生病因及发病机制的研究现状 [J]. *世界中医药*, 2018, 13(09): 2372-6.
- [4]CUNHA G R,VEZINA C M,ISAACSON D,et al. Development of the human prostate [J]. *Differentiation*, 2018, 103: 24-45.
- [5]MARTIN S A, HAREN M T, MARSHALL V R, et al. Prevalence and factors associated with uncomplicated storage and voiding lower urinary tract symptoms in community-dwelling Australian men [J]. *World J Urol*, 2011, 29(2): 179-84.
- [6]ABRAMS P,CARDOZO L,FALL M,et al. The standardisation of terminology in lower urinary tract function: report from the standardisation sub-committee of the International Continence Society [J]. *Urology*, 2003, 61(1): 37-49.
- [7]HE Q, WANG Z, LIU G, et al. Metabolic syndrome, inflammation and lower urinary tract symptoms: possible translational links [J]. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2016, 19(1): 7-13.
- [8]BANERJEE P P, BANERJEE S, BROWN T R, et al. Androgen action in prostate function and disease [J]. *Am J Clin Exp Urol*, 2018, 6(2): 62-77.
- [9]DJAVAN B, REMZI M, ERNE B, et al. The pathophysiology of benign prostatic hyperplasia [J]. *Drugs Today (Barc)*, 2002, 38(12): 867-76.
- [10]CSIKÓ S E, HORVÁTH A, ÁCS K, et al. Treatment of Benign Prostatic Hyperplasia by Natural Drugs [J]. *Molecules*, 2021, 26(23).
- [11]郭琳, 苗明三. 基于前列腺增生症临床病症特点的动物模型分析 [J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(01): 261-4.
- [12]WANG K, FAN D D, JIN S, et al. Differential expression of 5-alpha reductase isozymes in the prostate and its clinical implications [J]. *Asian J Androl*, 2014, 16(2): 274-9.
- [13]PRINS G S, KORACH K S. The role of estrogens and estrogen receptors in normal prostate growth and disease [J]. *Steroids*, 2008, 73(3): 233-44.
- [14]NICHOLSON T M, RICKE W A. Androgens and estrogens in benign prostatic hyperplasia: past, present and future [J]. *Differentiation*, 2011, 82(4-5): 184-99.
- [15]HABENICHT U F, EL ETREBY M F. Rationale for using aromatase inhibitors to manage benign prostatic hyperplasia. Experimental studies [J]. *J Androl*, 1991, 12(6): 395-402.
- [16]OMRAN A, LECA B M, OŠTARIJAŠ E, et al. Metabolic syndrome is associated with prostate enlargement: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression on patients with lower urinary tract symptom factors [J]. *Ther Adv Endocrinol Metab*, 2021, 12: 20420188211066210.
- [17]LEE S Y, KIM M, JUNG S, et al. Altered plasma lysophosphatidylcholines and amides in non-obese and non-diabetic subjects with borderline-to-moderate hypertriglyceridemia: a case-control study [J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0123306.
- [18]RUSSO G I, LARGANÒ G, SEBASTIANELLI A, et al. The Investigative Role of Statins in Ameliorating Lower Urinary Tract Symptoms (LUTS): A Systematic Review [J]. *J Clin Med*, 2021, 10(3).
- [19]NIAN L, SHUKANG G, SHASHA W, et al. Aerobic exercises ameliorate benign prostatic hyperplasia via IGF-1/IGF-1R/ERK/AKT signalling pathway in prostate tissue of high-fat-diet-fed mice with insulin resistance [J]. *Steroids*, 2021, 175: 108910.
- [20]OZDEN C, OZDAL O L, URGANCIOLU G, et al. The correlation between metabolic syndrome and prostatic growth in patients with benign prostatic hyperplasia [J]. *Eur Urol*, 2007, 51(1): 199-203; discussion 4-6.
- [21]PLOUMIDOU K, KYROUDI-VOULGARI A, PEREA D, et al. Effect of a hypercholesterolemic diet on serum lipid profile, plasma sex steroid levels, and prostate structure in rats [J]. *Urology*, 2010, 76(6): 1517.e1-5.
- [22]HWANG E C, KIM S O, NAM D H, et al. Men with Hypertension are More Likely to Have Severe Lower Urinary Tract Symptoms and Large Prostate Volume [J]. *Low Urin Tract Symptoms*, 2015, 7(1): 32-6.
- [23]ZUSMAN R. Patients with uncontrolled hypertension or

- concomitant hypertension and benign prostatic hyperplasia [J]. *Clin Cardiol*, 2004, 27(2): 63–9.
- [24]NGAI H Y, YUEN K S, NG C M, et al. Metabolic syndrome and benign prostatic hyperplasia: An update [J]. *Asian J Urol*, 2017, 4(3): 164–73.
- [25]AZAMI G, SOH K L, SAZLINA S G, et al. Effect of a Nurse–Led Diabetes Self–Management Education Program on Glycosylated Hemoglobin among Adults with Type 2 Diabetes [J]. *J Diabetes Res*, 2018, 2018: 4930157.
- [26]PARSONS J K, CARTER H B, PARTIN A W, et al. Metabolic factors associated with benign prostatic hyperplasia [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91(7): 2562–8.
- [27]VIKRAM A, JENA G, RAMARAO P. Insulin–resistance and benign prostatic hyperplasia: the connection [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 641(2–3): 75–81.
- [28]ZHOU B, WANG P, XU W J, et al. Correlations of glucose metabolism, insulin resistance and inflammatory factors with symptom score of patients with benign prostatic hyperplasia [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(16): 5077–81.
- [29]WANG Y B, YANG L, DENG Y Q, et al. Causal relationship between obesity, lifestyle factors and risk of benign prostatic hyperplasia: a univariable and multivariable Mendelian randomization study [J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1): 495.
- [30]KRISTAL A R, ARNOLD K B, SCHENK J M, et al. Race/ethnicity, obesity, health related behaviors and the risk of symptomatic benign prostatic hyperplasia: results from the prostate cancer prevention trial [J]. *J Urol*, 2007, 177(4): 1395–400; quiz 591.
- [31]龙智, 何乐业, 钟狂飏, et al. 合并前列腺炎的良性前列腺增生症的临床分析 [J]. *中南大学学报(医学版)*, 2010, 35(04): 381–5.
- [32]LLOYD G L, MARKS J M, RICKE W A. Benign Prostatic Hyperplasia and Lower Urinary Tract Symptoms: What Is the Role and Significance of Inflammation? [J]. *Curr Urol Rep*, 2019, 20(9): 54.
- [33]CAO D, SUN R, PENG L, et al. Immune Cell Proinflammatory Microenvironment and Androgen–Related Metabolic Regulation During Benign Prostatic Hyperplasia in Aging [J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 842008.
- [34]MACOSKA J A. Chemokines and BPH/LUTS [J]. *Differentiation*, 2011, 82(4–5): 253–60.
- [35]STEWART J, MCCALLIN T, MARTINEZ J, et al. Hyperlipidemia [J]. *Pediatr Rev*, 2020, 41(8): 393–402.
- [36]中国成人血脂异常防治指南制订联合委员会. 中国成人血脂异常防治指南 [J]. *中华心血管病杂志*, 2007, 35(05): 390–419.
- [37]LI Q, GU W, MA X, et al. Amino Acid and Biogenic Amine Profile Deviations in an Oral Glucose Tolerance Test: A Comparison between Healthy and Hyperlipidaemia Individuals Based on Targeted Metabolomics [J]. *Nutrients*, 2016, 8(6).
- [38]曲冬颖, 贾连群, 甄毕贤, et al. 妊娠高脂血症患者血浆代谢组学研究 [J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2017, 33(04): 401–7.
- [39]WANG Y, LIU D, LI Y, et al. Metabolomic analysis of serum from obese adults with hyperlipemia by UHPLC–Q–TOF MS/MS [J]. *Biomed Chromatogr*, 2016, 30(1): 48–54.
- [40]ALSEEKH S, AHARONI A, BROTMAN Y, et al. Mass spectrometry–based metabolomics: a guide for annotation, quantification and best reporting practices [J]. *Nat Methods*, 2021, 18(7): 747–56.
- [41]AZAD R K, SHULAEV V. Metabolomics technology and bioinformatics for precision medicine [J]. *Brief Bioinform*, 2019, 20(6): 1957–71.
- [42]WANG T J, LARSON M G, VASAN R S, et al. Metabolite profiles and the risk of developing diabetes [J]. *Nat Med*, 2011, 17(4): 448–53.
- [43]ROBINSON J I, WEIR W H, CROWLEY J R, et al. Metabolomic networks connect host–microbiome processes to human *Clostridioides difficile* infections [J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(9): 3792–806.
- [44]LOURENÇO C, KELLY D, CANTILLON J, et al. Monitoring type 2 diabetes from volatile faecal metabolome in Cushing's syndrome and single Afmid mouse models via a longitudinal study [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 18779.
- [45]XU E Y, SCHAEFER W H, XU Q. Metabolomics in pharmaceutical research and development: metabolites, mechanisms and pathways [J]. *Curr Opin Drug Discov Devel*, 2009, 12(1): 40–52.
- [46]ARNETH B, ARNETH R, SHAMS M. Metabolomics of Type 1 and Type 2 Diabetes [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(10).