

4-(2-羟基-3-氯)苯基-2,2':6',2''-三联吡啶 Cu(II)配合物的合成、结构表征及抗肿瘤活性

钟玉君 陈振锋* 梁 宏*

(广西师范大学化学与药学院, 省部共建药用资源化学与药物分子工程国家重点实验室, 桂林 541004)

摘要: 以 4-(2-羟基-3-氯)苯基-2,2':6',2''-三联吡啶(HL)为配体,合成了一种新的铜(II)配合物 $[\text{Cu}_2(\mu\text{-L-}\kappa\text{O})_2\text{Cl}_2]$ (**1**),并通过红外光谱、电喷雾质谱、元素分析及单晶 X 射线衍射分析等方法对配合物 **1** 进行结构表征。配合物 **1** 为双核结构,中心铜(II)离子为五配位扭曲四方锥几何构型,每个铜离子与 1 个 Cl^- 以及来自配体(L⁻)的 2 个 N 原子和 2 个羟基 O 原子配位,2 个铜(II)离子通过羟基的桥联形成双核结构。MTT 实验结果表明:配合物 **1** 对所选 5 种癌细胞株表现出不同的抑制活性,尤其是对 MGC80-3 细胞的抑制作用最明显,抑制率高达 $(84.30 \pm 1.28)\%$,其 IC_{50} 值为 $(3.36 \pm 0.43) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。流式细胞术分析结果显示:配合物 **1** 能诱导 MGC80-3 细胞凋亡。在配合物 **1** 浓度为 $4.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,MGC80-3 的凋亡百分数为 41.4%。此外,配合物 **1** 将 MGC80-3 细胞阻滞于 G1 期,从而抑制肿瘤细胞的生长。

关键词: 三联吡啶; 铜(II)配合物; 抗肿瘤活性; 细胞周期; 细胞凋亡

中图分类号: O614.121

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2019)11-2089-06

DOI: 10.11862/CJIC.2019.253

Synthesis, Structural Characterization and Antitumor Activity of Copper(II) Complex of 4-(2-Hydroxy-3-chlorine)phenyl-2,2':6',2''-terpyridine

ZHONG Yu-Jun CHEN Zhen-Feng* LIANG Hong*

(State Key Laboratory for Chemistry and Molecular Engineering of Medicinal Resources,
School of Chemistry and Pharmacy, Guangxi Normal University, Guilin, Guangxi 541004, China)

Abstract: A new copper(II) complex $[\text{Cu}_2(\mu\text{-L-}\kappa\text{O})_2\text{Cl}_2]$ (**1**) with 4-(2-hydroxy-3-chloro)phenyl-2,2':6',2''-tribipyridine (HL) as ligand was synthesized and characterized by elemental analysis, NMR, ESI-MS as well as single crystal X-ray diffraction analysis. Complex **1** is a binuclear structure, and the central copper(II) is coordinated by one Cl^- anion, two N atoms and two hydroxyl O atoms from L⁻ to form five-coordination distorted square-pyramid geometric configurations; two copper centers are bridged by two hydroxyl O atoms. MTT assay was employed to test the inhibitory activities of complex **1** against five selected cancer cell lines. The results showed that inhibition rate of MGC80-3 cells was the highest, reaching $(84.30 \pm 1.28)\%$, and its IC_{50} value was $(3.36 \pm 0.43) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Flow cytometry analytical results indicated that complex **1** could induce apoptosis of MGC80-3 cells. Under the complex **1** concentration of $4.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, the MGC80-3 cell apoptosis percentage was 42.2%. Complex **1** arrested MGC80-3 cells in G1 phase, thereby inhibiting the growth of tumor cells. CCDC: 1959094.

Keywords: tribipyridine; copper(II) complex; antitumor activity; cell apoptosis; cell cycle

收稿日期: 2019-09-15。收修改稿日期: 2019-10-17。

国家自然科学基金(No.21431001)和教育部创新团队项目(No.IRT_16R15)资助。

*通信联系人。E-mail: chenzzf@gxnu.edu.cn, hliang@gxnu.edu.cn

化疗是治疗癌症的重要手段之一,在 Rosenberg 等发现顺铂的抗肿瘤活性后,人们合成了许多顺铂类似物并应用于临床。至今,铂类药物仍是应用最广泛的化疗药物^[1-2]。但由于铂类药物的耐药性和严重的副作用,如急性肾毒性、骨髓抑制和慢性神经毒性^[3-4],促使人们寻找新的非铂类抗肿瘤金属配合物^[5]。

铜在人体内的含量仅次于铁和锌,并且参与生物体中几个关键的生命过程^[6]。一般来说,铜的毒性比其他金属小,因此,铜(II)配合物被认为具有克服毒副作用和耐药性的特性。许多铜(II)配合物被报道具有较强的结合与裂解 DNA 的能力,其中一些具有抗癌和调控凋亡的能力^[7-9]。三联吡啶及其衍生物可以作为 DNA 结合剂、拓扑酶抑制剂和抗肿瘤药物,具有潜在的应用价值^[10-11]。此外,三联吡啶作为一种三齿配体,有 3 个共平面的氮原子,具有与金属形成稳定金属配合物的能力,是构建金属配合物的重要配体^[12,14-15]。

为此,我们合成了 1 个新的三联吡啶铜(II)配合物 $[\text{Cu}_2(\mu\text{-L-}\kappa\text{O},\text{O})_2\text{Cl}_2]$ (**1**),通过单晶 X 射线衍射确定了配合物 **1** 的晶体结构,测定了配合物 **1** 对 5 种肿瘤细胞株(MGC80-3、T24、A549、HeLa、Hep-G2)的体外抗肿瘤活性,应用流式细胞术测定了配合物 **1** 对 MGC80-3 细胞的凋亡效应及周期阻滞情况。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

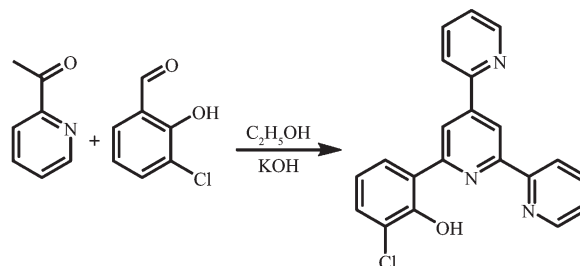
所用仪器有:Bruker APEX-II CCD 单晶衍射仪,德国 Bruker Avance III HD 400 MHz 核磁共振谱仪,德国 Bruker HCT 离子阱质谱仪,美国 Spectrum Two 傅里叶变换红外光谱仪,德国 Vario EL III 元素分析仪,美国 CARY ECLIPSE 紫外可见分光光度计,美国 Thermo 二氧化碳培养箱,美国 TECAN-M1000 酶标定量测定仪,美国 BD 公司 FACSVerse 流式细胞仪。

3-氯水杨醛、2-乙酰吡啶及氯化铜均为分析纯试剂,购于阿拉丁。胎牛血清及 DMEM 培养基购自 CIBCO 公司,MTT 购自 Solarbio 公司。

1.2 配体及配合物的合成与结构表征

配体 4-(2-羟基-3-氯)苯基-2,2':6',2''-三联吡啶(HL)的合成参考文献已报道的方法^[13],产率为 81.7%。用 3-氯水杨醛和 2-乙酰吡啶反应合成配体(HL)(Scheme 1)。其结构表征数据为:ESI-MS m/z :

397.5 $[\text{L}+\text{K}^+]$ 。¹H NMR(400 MHz, DMSO- d_6): δ 15.57(s, 1H), 9.08(d, $J=1.3$ Hz, 1H), 8.89(d, $J=1.3$ Hz, 1H), 8.84(d, $J=4.8$ Hz, 2H), 8.48(d, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.32(s, 1H), 8.23(d, $J=7.9$ Hz, 1H), 8.13(s, 1H), 8.06(d, $J=17.3$ Hz, 1H), 7.57(s, 2H), 7.56(d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.00(s, 1H)。¹³C NMR(100 MHz, DMSO- d_6): δ 155.54, 155.42, 150.65, 150.50, 149.79, 148.10, 137.90, 130.83, 129.48, 129.10, 124.89, 122.65, 121.59, 121.30。IR(KBr, cm^{-1}): 3 910(w), 3 889(w), 3 808(w), 3 786(w), 3 697(w), 3 659(w), 3 636(w), 3 574(w), 3 055(m), 3 010(m), 1 693(w), 1 585(s), 1 566(s), 1 547(s), 1 468(s), 1 436(s), 1 391(s), 1 263(m), 1 228(m), 1 177(m), 1 140(m), 1 080(m), 1 042(m), 991(w), 890(m), 867(m), 829(w), 775(s), 737(s), 665(m), 637(m), 621(m), 564(w), 510(w)。



Scheme 1 Synthesis of ligand HL

配合物 $[\text{Cu}_2(\mu\text{-L-}\kappa\text{O},\text{O})_2\text{Cl}_2]$ (**1**)的合成方法如下:称取 10 mg (0.028 mmol) 配体和 10 mg(0.056 mmol) $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 于一端闭合的 25 cm Pyrex 厚壁玻璃管中,滴加 0.25 mL 丙酮与 1 mL 甲醇,液氮冷冻后,在真空条件下将玻璃管开口端熔封,待玻璃管内溶液恢复室温后置于 65 °C 的烘箱反应 72 h。反应结束后梯度降温至室温,管内生成墨绿色块状晶体(配合物 **1**),产率为 62.7%。挑选出大小、形状适合的单晶,进行结构表征。配合物 **1** 的晶体学及结构修正数据见表 1。其结构表征数据如下:ESI-MS m/z : 498.6 $[\text{M}-\text{Cu}-\text{L}-\text{Cl}+\text{K}+\text{H}]^+$ 。元素分析按 $\text{C}_{42}\text{H}_{26}\text{Cl}_4\text{Cu}_2\text{N}_6\text{O}_2$ 计算值(%):C 55.10, H 2.86, N 9.18;实测值(%):C 54.87, H 2.89, N 9.15。IR(KBr, cm^{-1}): 3 909(w), 3 890(w), 3 858(w), 3 843(w), 3 826(w), 3 807(w), 3 787(w), 3 738(w), 3 715(w), 3 695(m), 3 680(w), 3 659(w), 3 635(w), 3 572(m), 3 433(m), 3 057(m), 2 344(w), 1 604(s), 1 569(m), 1 554(m), 1 475(s), 1 450(m), 1 414(s), 1 325(m), 1 301(m), 1 246(s), 1 164(m), 1 138(m), 1 093(m), 1 067(m), 1 052(w), 1 036(m), 1 019(s), 890(m), 870(m), 783(s), 749(m), 736(m), 715(m), 680(m), 656(m), 645(m), 510(w), 414(w)。

1.3 配合物 1 晶体结构测定

挑选出大小、形状适合的单晶置于 Bruker APEX-II CCD 单晶衍射仪上,采用经石墨单色器单色化的 Mo $K\alpha$ 射线($\lambda=0.071\ 073\ \text{nm}$),在 296.15 K 下,2.417°~29.601°(θ)范围内对配合物 1 的单晶 X 射线衍射数据进行收集。晶体结构使用具有各向异性

热参数的 SHELXL-2015^[16]的直接方法解出并通过全矩阵最小二乘法 (the full-matrix least-squares method on F^2)进行精修。碳原子上的氢原子为理论加氢。配合物 1 的部分晶体学及结构修正数据见表 1。

CCDC:1959094。

表 1 配合物 1 的晶体学及结构修正数据

Table 1 Crystal data and structure refinement for complex 1

Empirical formula	$\text{C}_{42}\text{H}_{26}\text{Cl}_4\text{Cu}_2\text{N}_6\text{O}_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$	μ / mm^{-1}	1.423
Formula weight	947.61	$F(000)$	480
Crystal system	Triclinic	Crystal size / mm	0.21×0.15×0.12
Space group	$P\bar{1}$	2θ range for data collection / (°)	3.862~60.91
a / nm	0.885 2(5)	Index ranges	$-12 \leq h \leq 12, -14 \leq k \leq 14, -16 \leq l \leq 16$
b / nm	1.035 5(5)	Reflection collected	15 062
c / nm	1.137 8(6)	Independent reflection	5 629 ($R_{\text{int}}=0.030\ 0, R\sigma=0.034\ 9$)
$\alpha / (^\circ)$	103.212(7)	Data, restraint, parameter	5 629, 12, 272
$\beta / (^\circ)$	107.047(7)	Goodness-of-fit on F^2	1.058
$\gamma / (^\circ)$	91.143(7)	Final R indexes [$I \geq 2\sigma(I)$]	$R_1=0.041\ 3, wR_2=0.114\ 3$
Volume / nm^3	0.966 5(9)	Final R indexes (all data)	$R_1=0.054\ 4, wR_2=0.123\ 6$
Z	1	Largest diff. peak and hole / ($\text{e} \cdot \text{nm}^{-3}$)	1 000, -680
$D_c / (\text{g} \cdot \text{cm}^{-3})$	1.573		

1.4 体外抗肿瘤活性实验

采用 MTT 比色法测定 $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、配体 HL、配合物 1 及顺铂对所选 5 种癌细胞株(MGC80-3、T24、A549、HeLa、Hep-G2)的 IC_{50} 值。使用流式细胞术检测配合物 1 诱导 MGC80-3 细胞凋亡以及周期阻滞的情况。

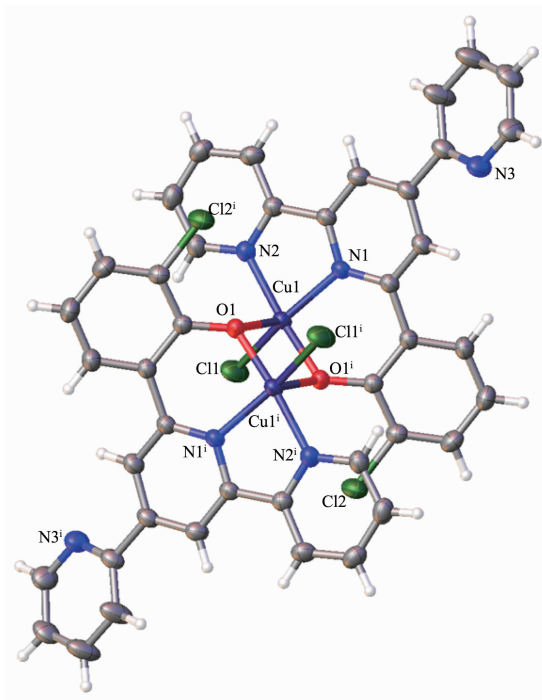
2 结果与讨论

2.1 配合物 1 的晶体结构

配合物 1 的晶体结构如图 1 所示,部分键长和键角数据详见表 2。配合物 1 属于三斜晶系, $P\bar{1}$ 空间群。配合物 1 为双核结构,在对称单元中,中心铜(II)离子为五配位扭曲四方锥几何构型,每个铜离子与 1 个 Cl⁻以及来自配体 L 的 2 个 N 原子和 2 个羟基 O 原子配位;2 个铜(II)离子通过羟基的桥联形成双核结构。

2.2 配合物 1 在溶液中的稳定性

用紫外光谱检测配体 HL 和配合物 1 的稳定性(图 2、3)。浓度为 $20\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的配合物在 pH=7.35 的 Tris-HCl 缓冲液中,置于室温下 0 和 48 h 后,分别用紫外光谱仪各测 1 次吸光度^[17-18]。从图中可以看出各组吸收峰没有发生红移或蓝移现象,也没有



CH_3OH molecule has been omitted for clarity;

Symmetry code: $^i -x+1, -y+1, -z$

图 1 配合物 1 的椭球率 50%的晶体结构图

Fig.1 Crystal structure of complex 1 with 50% probability ellipsoids

表 2 配合物 1 部分键长(nm)和键角(°)

Table 2 Selected bond lengths (nm) and angles (°) for complex 1

Cu1-Cl1	0.226 58(11)	Cu1-O1	0.232 35(19)	Cu1-N2	0.200 2(2)
Cu1-O1 ⁱ	0.191 8(17)	Cu1-N1	0.200 68(19)		
Cl1-Cu1-O1	103.93(6)	O1 ⁱ -Cu1-N1	91.14(8)	N1-Cu1-Cl1	154.72(6)
O1 ⁱ -Cu1-Cl1	94.81(6)	N2-Cu1-Cl1	95.34(7)	N1-Cu1-O1	101.27(8)
O1 ⁱ -Cu1-O1	80.77(7)	N2-Cu1-O1	92.73(8)		
O1 ⁱ -Cu1-N2	169.03(8)	N2-Cu1-N1	81.41(8)		

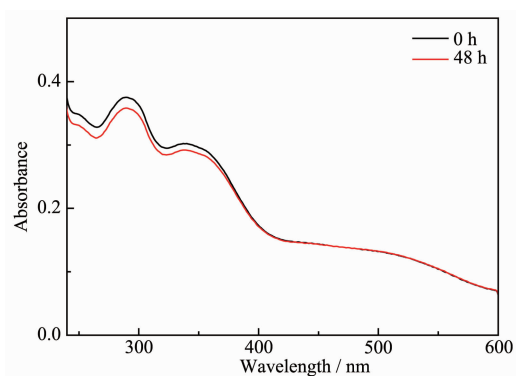
Symmetry code: ⁱ -x+1, -y+1, -z.

图 2 配体 HL 的紫外光谱图

Fig.2 UV spectra of ligand HL

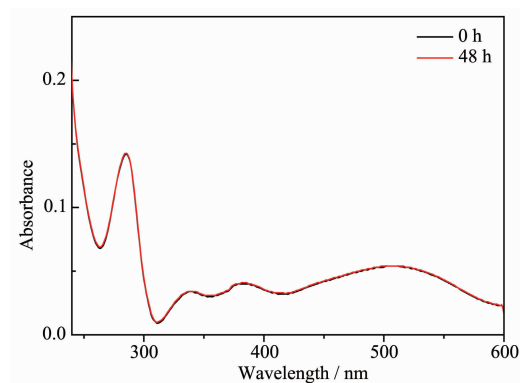


图 3 配合物 1 的紫外光谱图

Fig.3 UV spectra of complex 1

新的吸收峰出现,说明配合物 1 在 Tris-HCl 缓冲液中能够稳定存在至少 48 h。

2.3 体外抗肿瘤活性

为了研究配合物 1 的体外抗肿瘤活性,我们以人正常肝细胞 HL-7702 为对照,采用 MTT 法测定了 $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、配体 HL、配合物 1 和顺铂对

MGC80-3, T24, A549, HeLa 和 Hep-G2 五种肿瘤细胞株的细胞毒性^[19-22]。由表 3 可知,配合物 1 对所选的肿瘤细胞株的抑制率均高于 $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、配体 HL 及顺铂。其中对人胃癌 MGC80-3 细胞的抑制率最高,达到了 $(84.30 \pm 1.28)\%$ 。如表 4 所示,从 IC_{50} 也可以看出,配合物 1 对人胃癌 MGC80-3 细胞的细

表 3 化合物对不同细胞株的抑制率

Table 3 Inhibition rates of ligand HL, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, complex 1 and cisplatin on the six selected human cell lines

	MGC80-3	T24	A549	HeLa	Hep-G2	HL-7702
HL	29.74±1.97	41.12±1.28	53.57±0.66	51.70±1.13	44.19±1.01	36.59±0.09
1	84.30±1.28	77.57±1.36	60.25±0.93	76.16±0.27	69.79±1.72	78.42±0.79
$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	28.39±0.7	39.68±0.74	36.47±0.20	29.88±0.37	21.66±0.90	25.13±0.11
Cisplatin	56.79±0.67	62.18±1.09	47.61±0.85	54.38±1.27	50.64±0.97	52.07±0.77

表 4 化合物对不同细胞株的 IC_{50} 值Table 4 IC_{50} values of ligand HL, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, complex 1 and cisplatin on the six selected human cell lines $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

	MGC80-3	T24	HeLa	Hep-G2	A549	HL-7702
HL	>20	>20	18.89±0.76	no activity	17.99±0.84	>20
1	3.36±0.43	5.19±0.028	5.86±0.52	6.94±0.56	8.16±0.81	11.27±0.71
$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	17.53±0.72	>20	22.11±0.26	no activity	>20	>20
Cisplatin	14.29±0.69	12.90±0.31	16.02±0.29	17.04±0.08	20.47±1.09	14.49±0.58

胞毒性最高,其 IC_{50} 值为 $(3.36 \pm 0.43) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。与正常细胞 HL-7702 相比,配合物 **1** 对 5 种肿瘤细胞均表现出较高的细胞毒性,说明配合物 **1** 在一定程度上可以选择性抑制肿瘤细胞。

2.4 细胞凋亡

采用 Annexin V FITC 和 PI 双染色法测定配合

物 **1** 对 MGC80-3 细胞的凋亡效应。图 4 为药物浓度分别为 1.5 、 3.0 和 $4.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 作用 24 h 后,配合物 **1** 诱导人胃癌 MGC80-3 细胞凋亡的百分数。在给药浓度 $4.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 下,细胞凋亡百分数为 41.4%, 比对照组增加了 33.45%, 可推测配合物 **1** 诱导 MGC80-3 细胞进入早期凋亡^[23]。

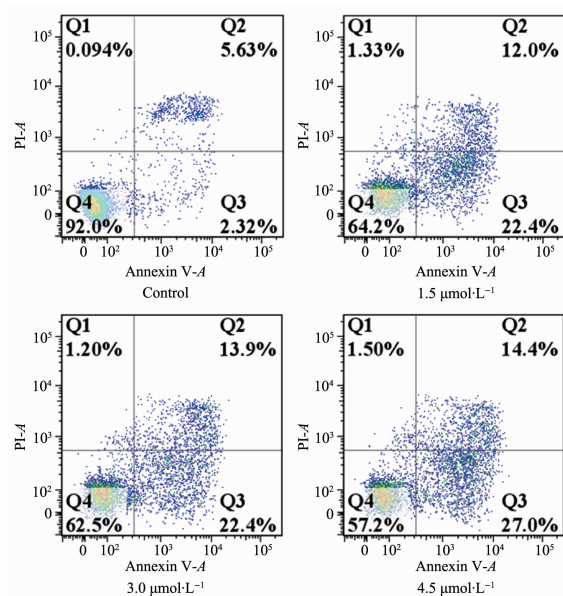


图 4 配合物 **1** 诱导 MGC80-3 凋亡的情况

Fig.4 Apoptosis in MGC80-3 cells exposure to complex **1** for 24 h

2.5 周期阻滞

采用流式细胞术研究了配合物 **1** 诱导 MGC80-

3 细胞的细胞周期阻滞情况^[24-25]。图 5 为不同浓度下,配合物 **1** 作用 MGC80-3 细胞 24 h 后的细胞周

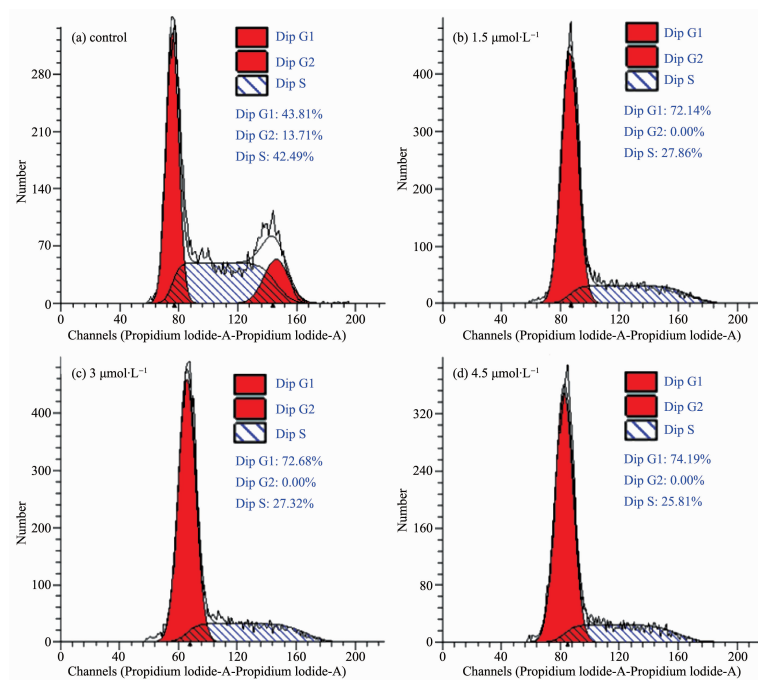


图 5 配合物 **1** 对 MGC80-3 细胞周期的影响

Fig.5 Cell cycle distribution of MGC80-3 cells exposure to complex **1** for 24 h

期阻滞情况。与空白对照组相比,随着给药浓度从 1.5、3.0、4.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 逐渐增大,MGC80-3 细胞在 G1 期的百分比明显增加,由 43.81% 分别增至 72.14%、72.68% 和 74.19%,呈浓度依赖关系。说明配合物 **1** 使 MGC80-3 细胞阻滞于 G1 期,从而抑制肿瘤细胞的生长。

3 结 论

以 4-(2-羟基-3-氯) 苯基-2,2':6',2''-三联吡啶(HL)作为配体合成了配合物 $[\text{Cu}_2(\mu\text{-L-}\kappa\text{O},\text{O})_2\text{Cl}_2]$ (**1**),并用多种分析方法对其进行完整的表征。采用 MTT 法、流式细胞术对 5 种肿瘤细胞株及人正常肝细胞 HL-7702 进行抑制生长活性、细胞凋亡和细胞周期阻滞测试。与配体和顺铂相比,配合物 **1** 对不同的细胞株具有更高的细胞毒性,其中对人胃癌 MGC80-3 细胞的细胞毒性最高,IC₅₀ 值为 $(3.36 \pm 0.43) \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。配合物 **1** 可以诱导 MGC80-3 细胞凋亡,且配合物 **1** 使 MGC80-3 细胞阻滞于 G1 期。

参考文献:

- [1] Wilson J J, Lippard S J. *Chem. Rev.*, **2014**,**45** (24):4470-4495
- [2] Duan X, He C, Kron S J, et al. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.*, **2016**,**8**(5):776-791
- [3] Olszewski U, Hamilton G. *Anti-Cancer Agents in Med. Chem.*, **2010**,**10**(4):293-301
- [4] Hartmann J T, Lipp H P. *Expert Opin. Pharmacother.*, **2003**,**4**(6):889-901
- [5] Kumar A, Chinta J P, Ajay A K, et al. *Dalton Trans.*, **2011**,**40**(41):10865-10872
- [6] Santini C, Pellei M, Gandin V, et al. *Chem. Rev.*, **2013**,**114** (1):815-862
- [7] Yang P, Zheng W, Hua Z. *Inorg. Chem.*, **2000**,**39**(24):5454-5463
- [8] Mahendiran D, Kumar R S, Viswanathan V, et al. *Dalton Trans.*, **2016**,**45**(18):7794-7814
- [9] Gama S, Rodrigues I, Marques F, et al. *RSC Adv.*, **2014**,**4** (106):61363-61377
- [10] Zhao L X, Kim T S, Ahn S H, et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2001**,**11**(19):2659-2662
- [11] Fik M A, Gorczyński A, Kubicki M, et al. *Polyhedron*, **2015**,**97**:83-93
- [12] Ghosh S, Mendoza O, Cubo L, et al. *Chemistry*, **2014**,**20**(16): 4772-4779
- [13] Qin Q P, Wang Z F, Wang S L, et al. *Eur. J. Med. Chem.*, **2019**,**170**:195-202
- [14] Roy S, Saha S, Majumdar R, et al. *Polyhedron*, **2010**,**29**(14): 2787-2794
- [15] Czerwinska K, Golec M, Skonieczna M, et al. *Dalton Trans.*, **2017**,**46**(10):3381-3392
- [16] Sheldrick G M. *Acta Crystallogr. Sect. C: Cryst. Struct. Commun.*, **2015**,**C71**:3-8
- [17] Chen Z F, Gu Y Q, Song X Y, et al. *Eur. J. Med. Chem.*, **2013**,**59**:168-175
- [18] Heidary D K, Howerton B S, Glazer E C. *J. Med. Chem.*, **2014**,**57**(21):8936-8946
- [19] Jacques A, Kirsch-De Mesmaeker A, Elias B. *Inorg. Chem.*, **2014**,**53**(3):1507-1512
- [20] Milutinovi M M, Rilak A, Bratsos I, et al. *J. Inorg. Biochem.*, **2017**,**169**:1-12
- [21] Ma Z, Cao Y, Li Q, et al. *J. Inorg. Biochem.*, **2010**,**104**(7): 704-711
- [22] Karidi K, Garoufis A, Tsipis A, et al. *Dalton Trans.*, **2005** (7):1176-1187
- [23] Wang Z, Ma L M, Su M Q, et al. *Cell Death Dis.*, **2018**,**9**(2): 217
- [24] Wu S G, Huang Y J, Bao B, et al. *Neoplasma*, **2017**,**64**(1): 40-47
- [25] Banerjee S, Kitchen J A, Bright S A, et al. *Chem. Commun.*, **2013**,**49**(76):8522-8524