

基于胸腺嘧啶三联吡啶的双核铱配合物的发光及抗肿瘤活性研究

于千水^a 戚聪^b 顾顺心^a 杨欣达^c姜琴^{*,a} 魏荣斌^{*,b} 施鹏飞^{*,a}^(a) 江苏海洋大学环境与化学工程学院 连云港 222005)^(b) 江苏海洋大学药学院 连云港 222005)^(c) 同济大学化学科学与工程学院 上海 200120)

摘要 环金属铱配合物因其优秀的发光性能和良好的光毒性,在双光子光动力疗法(PDT)光敏剂研究领域备受关注.多联吡啶衍生物常被选作铱配合物的配体,考虑到胸腺嘧啶分子拥有两个便于修饰的酰胺基团,将其引入配体有可能会提升生物相容性.将 2,2':6',2"-三联吡啶基团与胸腺嘧啶相连接以制备多联吡啶衍生物 ttpy,进而制备出含有正二价配位阳离子的双核铱配合物 Ir₂ttpy. Ir₂ttpy 在 250~350 nm 呈现出强配体内电荷转移(ILCT)吸收峰,400~550 nm 处呈现弱的金属到配体的荷移跃迁(MLCT)吸收肩峰. Ir₂ttpy 表现出双重荧光发射,350 nm 处发射峰源自 tpy 基团 ³LC 激发态,而 600 nm 处的发射则来自配位中心 ³MLCT 激发态.配合物在 680~800 nm 飞秒激光激发下表现出一定的双光子荧光效应,吸收截面约为 24 GM.配合物 Ir₂ttpy 针对 4T1 乳腺癌细胞表现出一定的光毒性,光毒性指数(PI)值约为 18. UV-Vis 滴定实验表明配合物 Ir₂ttpy 与 DNA 有一定的相互结合作用, Autodock 模拟显示配合物 Ir₂ttpy 嵌入 DNA 大沟,并以氢键与 DNA 的碱基 DA-17 以及 DC-9 结合.体外滴定实验表明配合物 Ir₂ttpy 在可见光照射下生成 ¹O₂ 和 O₂⁻,能够光催化氧化烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH).细胞成像结果也显示配合物 Ir₂ttpy 能在光照下生成活性氧物种(ROS).配合物 Ir₂ttpy 的抗肿瘤活性与其诱导生成 ROS 以及与 DNA 相互结合有关,二者协同作用而导致肿瘤细胞死亡.

关键词 胸腺嘧啶;双核铱配合物;抗肿瘤;活性氧物种(ROS);DNA

Study on the Luminescent and Antitumor Activities of Binuclear Iridium Complex Based on Thymidyl-Terpyridine

Yu, Qianshui^a Qi, Cong^b Gu, Shunxin^a Yang, Xinda^cJiang, Qin^{*,a} Wei, Rongbin^{*,b} Shi, Pengfei^{*,a}^(a) School of Environmental and Chemical Engineering, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005)^(b) School of Pharmacy, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005)^(c) School of Chemical Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200120)

Abstract Cyclometalated Ir(III) complexes have attracted significant attention in the field of two-photon photodynamic therapy (PDT) sensitizers due to their excellent luminescence property and good phototoxicity. Polypyridine derivatives are commonly chosen as ligands for iridium complexes. Considering that the introduction of thymine moiety not only enhances biocompatibility but also provides two easily modifiable amide-N groups, herein the 2,2':6',2"-terpyridine group was connected with thymine to prepare a novel polypyridine ligand (ttpy), and subsequently a binuclear iridium complex (Ir₂ttpy) was obtained, which containing divalent coordinating cation. Ir₂ttpy exhibited a strong intramolecular ligand to ligand charge transfer (ILCT) absorption peak between 250~350 nm. Due to strong spin-orbit coupling effect of Ir(III) center, the higher-energy excited singlet state undergo intersystem crossing to the lower-energy excited triplet state, and thus Ir₂ttpy displayed a very weak metal to ligand charge transfer (MLCT) band at 400~550 nm. Ir₂ttpy showed dual fluorescence peaks, with the emission at 350 nm originating from the ³LC excited state of the terpyridine group, while the emission at 600 nm coming from the ³MLCT excited state of the Ir(III) coordination cores. Since the introduction of thymine did not increase the conjugated system of the ligand ttpy and there was no weak interaction between the two Ir(III) centers in Ir₂ttpy, the fluorescence quantum yield and excited state lifetime of Ir₂ttpy were negligible (<1%, 100 ns), comparing with numerous reported long-lived and high-quantum-yield iridium complexes. When excited by a femtosecond laser at 650~1000 nm, the maximum two-photon absorption (TPA) cross-section of Ir₂ttpy was 24 GM (680 nm). Meanwhile, the two-photon excited fluorescence (TPEF) peak of Ir₂ttpy was located at 600 nm, which may also originate from the ³MLCT state. Ir₂ttpy showed certain photo-

* E-mail: jiangqin@jou.edu.cn; rbwei@jou.edu.cn; shipf@jou.edu.cn

Received December 25, 2024; published March 28, 2025.

Supporting information for this article is available free of charge via the Internet at <http://sioc-journal.cn>.

Project supported by the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions (PAPD) and the Key Science and Technology Project from the Lianyungang City (No. CGJBGS2303).

项目受江苏省高校优势学科建设以及连云港市重点科技攻关(No. CGJBGS2303)资助.

toxicity against 4T1 tumor cells with phototoxicity index (PI) value up to 18. UV-Vis titration experiments indicated that Ir₂ttpy interacted with DNA to a certain extent. Autodock simulations showed that Ir₂ttpy was embedded into the major groove of DNA and binded to the bases DA-17 and DC-9 through hydrogen bonds. Extracellular tests indicated that singlet oxygen and superoxide anion could be generated in the presence of Ir₂ttpy under visible light irradiation, and showed obvious catalytic oxidation effect on NADH. Confocal imaging results indicated that Ir₂ttpy could also generate reactive oxygen species (ROS) intracellularly. The antitumor activity of Ir₂ttpy is related to its induction of ROS generation and its interaction with DNA, and they act synergistically to cause tumor cell death. Due to the weak fluorescence of Ir₂ttpy in cells, co-staining with fluorescent reagents for mitochondria or lysosomes failed to clarify the localization selectivity of Ir₂ttpy for mitochondria or lysosomes. Although the potential of the complex Ir₂ttpy as a PDT photosensitizer is not ideal, the data in this paper provide certain theoretical base for the future development of novel photosensitizers.

Keywords thymine; binuclear Ir(III) complex; antitumor; reactive oxygen species (ROS); DNA

1 引言

环金属 Ir(III)配合物因其可调的光物理性质和化学稳定性而在光电子领域具有广泛的应用。许多环金属 Ir(III)配合物因其高的发光量子产率和大的 Stokes 位移而成为有机发光二极管(OLED)和有机太阳能电池(OSC)技术中的高效发射体,能够发射出具有优异色纯度和长寿命的绿光、红光或蓝光^[1-3]。某些 Ir(III)配合物显示出长余辉效应,可用于显示和安全标记^[4-5]。环金属 Ir(III)配合物还显示出较高的细胞摄取效率,定位于特定的亚细胞器,在生物组织中具有特异性分布,可作为荧光标记物而用于生物成像领域^[6-9]。不少配合物还被用作细胞内信号分子(如 H₂S、O₂ 和 H₂O₂ 等)的荧光探针^[10-11]。环金属 Ir(III)配合物表现出较低的暗细胞毒性和较高的光毒性,甚至有一些 Ir(III)配合物还对顺铂耐药肿瘤细胞表现出良好的毒活性。由于其独特的抗肿瘤特性,环金属 Ir(III)配合物已作为光敏剂用于光动力治疗,它们可以在光激发下产生活性氧物种(ROS)并靶向癌细胞^[12-15],导致细胞坏死或凋亡。

大多数环金属 Ir(III)配合物采用 {N,C} 配位模式,常用的 {N,C} 配体是基于苯基吡啶或苯并喹啉^[7,16]的衍生物。由于 Ir(III)核的饱和配位数为 6,因此通常使用联吡

啉、三联吡啶或邻菲咯啉衍生物作为辅助配体。鉴于 2,2':6',2''-三联吡啶的优异配位能力,且大多数三联吡啶金属配合物表现出独特的光学性质^[17],考虑到胸腺嘧啶拥有两个便于修饰的酰胺基团,将其与 2,2':6',2''-三联吡啶基团连接起来,制备多联吡啶衍生物 ttpy(图 1)。胸腺嘧啶的引入,有可能提升配体分子的生物相容性与靶向性^[18-19]。选择苯基吡啶作为共同配体,进而制备出含有正二价配位阳离子的双核铱配合物 Ir₂ttpy(图 1)。本工作进一步研究了 ttpy 和 Ir₂ttpy 的光学活性和抗肿瘤活性。

2 结果与讨论

2.1 合成与结构表征

胸腺嘧啶分子中两个 O=CNH 基团的酸性不同,理论上可以采用不同强碱(如 KOH 和 *t*-Bu-OK)进行分步脱氢,再与 4'-*p*-溴亚甲基苯基-2,2':6',2''-三联吡啶进行 1:1 或 1:2 亲核取代反应,从而可控地在胸腺嘧啶分子上连接一个或两个三联吡啶基团。由于分步脱氢再进行 1:1 取代反应的产物的分离纯化困难,本工作采用 NaH 进行完全脱氢,然后进行 1:2 取代反应得到目标配体 ttpy。需要注意的是,NaH 不可过量。Ir₂(bpy)₄Cl₂ 中

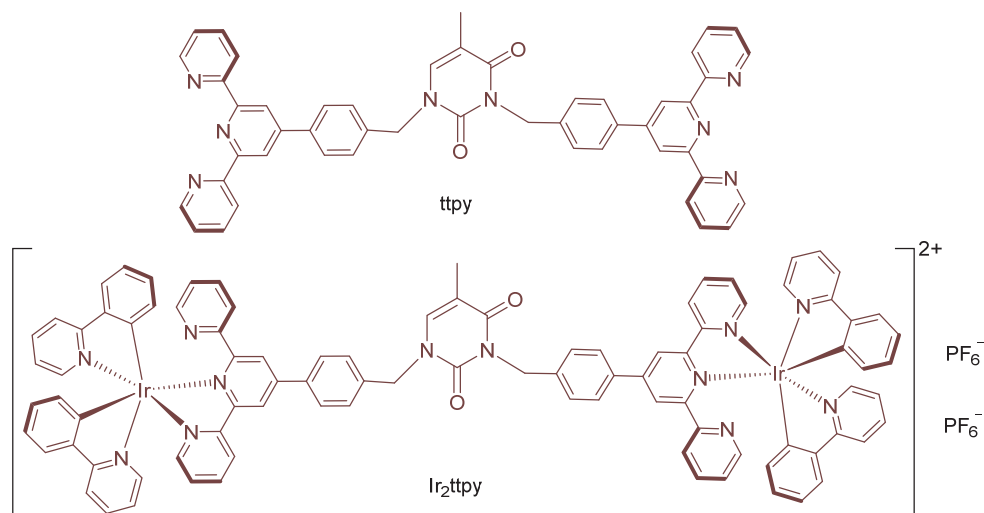


图 1 配体 ttpy 与配合物 Ir₂ttpy 的分子结构示意图

Figure 1 Molecular diagrams for ligand ttpy and its Ir(III) complex Ir₂ttpy

的 Ir—Cl 桥键稳定性较差, 可以在温和的条件下被三联吡啶基团中的 N 原子取代配位, 形成更稳定的 Ir—N 键^[20], 电喷雾质谱和核磁氢谱的数据表明得到的是双核铱配合物。

由于没有得到二者的晶体结构, 采用 Gaussian 09^[21]软件包对其结构进行能量最低化计算, 得到其理论键长键角数据(支持信息表 S1 和图 2), 结果与文献报道的单核环金属铱配合物一致, Ir(III)采取畸变的八面体构型。Ir—C 和 Ir—N 的键长以及 N—I—C 和 N—I—N 的键角数据也与文献报道的数据相当^[22]。由于配位中心的空间位阻, 未参与配位的吡啶基团与参与配位的联吡啶平面的夹角达到 70°, 而在配体 ttpy 中, 2,2':6',2"-三联吡啶基团几乎共平面(平均偏差为 0.0012 nm)。

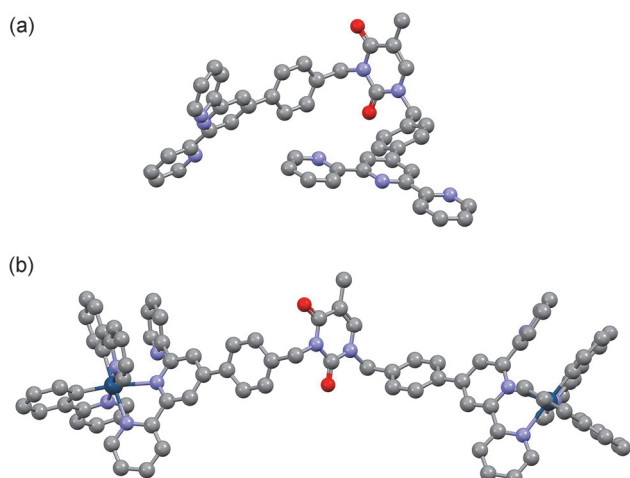


图 2 采用 Gaussian 09 软件包进行能量最低优化后的分子结构图(a 为 ttpy, b 为 Ir₂ttpy. 去掉所有的 H 原子和阴离子 PF₆⁻, 以便更好地显示分子结构)

Figure 2 Molecular structure optimized for minimum energy using Gaussian 09 software package (a for ttpy and b for Ir₂ttpy. All H atoms and PF₆⁻ anions were omitted for clarity)

2.2 配体及铱配合物的单光子吸收与发射性能

环金属铱配合物[Ir(ppy)₂(bpy)]⁺中 Ir(III)的低能量准 t_{2g} 轨道被完全填满(低自旋 d⁶ 构型), 其基态为单线态。紫外可见吸收光谱中 ¹LC 跃迁具有较大的摩尔吸收系数; 由于金属铱中心可产生强烈的自旋轨道耦合(SOC), 能量较高的激发单线态可以经系间窜跃(ISC)到能量较低的激发三线态, 如 ³MLCT, 因而可见光区域仍可观察到(非常)弱的特征吸收^[23-24]。

胸腺嘧啶基团在紫外区的最大吸收峰位于 254 nm。当其两个 4'-苯基-2,2':6',2"-三联吡啶基团连接后, 产生的强烈 ILCT 吸收峰位于 283 nm(图 3)。与大部分的三联吡啶衍生物类似, ttpy 中 2,2':6',2"-三联吡啶基团的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 吸收峰具有中等强度, 在 UV-Vis 吸收谱中呈现出肩峰, 最大吸收波长位于 331 nm。配合物 Ir₂ttpy 中源自胸腺嘧啶基团的吸收波长相较于配体的蓝移 10 nm, 吸收峰的强度显著增加, 摩尔吸收系数为 $9.8 \times 10^4 \text{ L} \cdot$

$\text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。三联吡啶基团采取 {N,N} 双齿配位, 其 $\pi \rightarrow \pi^*$ 吸收峰相较于配体显著红移, 最大吸收波长位于 383 nm。Ir₂ttpy 中的配位单元与[Ir(ppy)₂(bpy)]极为相似, 因此其 ³MLCT 强度也较弱。与此同时, 来源于 tpy 配体以及嘌呤连接基团的 ¹LC 跃迁吸收峰相较 bpy 的更强, 使得 ³MLCT 在吸收谱中(400~550 nm 范围内)表现为几不可见的坡峰, 峰值位于 479 nm。这一现象在其他含有嘌呤基团的铱配合物中也有呈现^[25-27]。

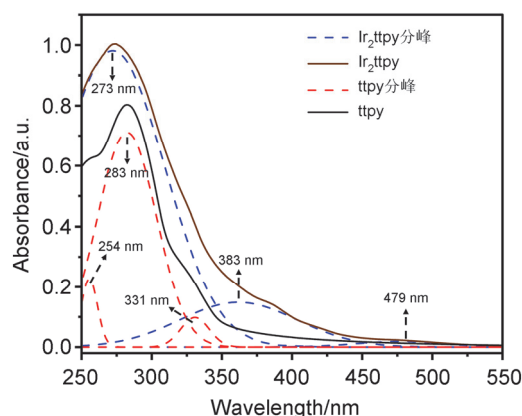


图 3 配体 ttpy 与配合物 Ir₂ttpy 的紫外-可见吸收光谱(虚线为模拟分峰的结果)

Figure 3 UV-Vis spectra of ligand ttpy and complex Ir₂ttpy (the simulated peak splitting results indicated by dashed lines)

为了进一步明确配体与配合物吸收峰的跃迁机制, 采用含时密度泛函(TDDFT)计算其基态和激发态的结构、能级以及电子云分布(图 4)。配体 ttpy 中 ILCT 吸收峰(HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO+2, $E=4.43 \text{ eV}$)是电子云从胸腺嘧啶基团转移到三联吡啶部分, 而 $\pi \rightarrow \pi^*$ 吸收峰(HOMO $\rightarrow$ LUMO, $E=3.99 \text{ eV}$)是电子云从三个吡啶环

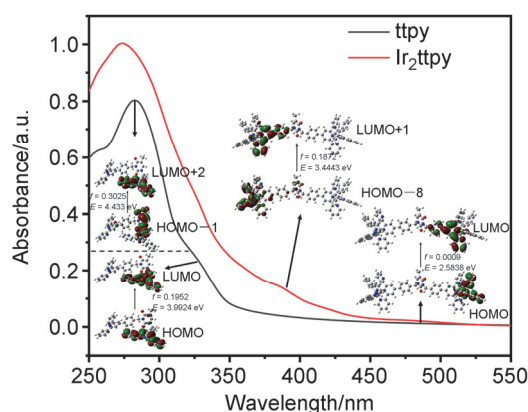


图 4 配体 ttpy 与配合物 Ir₂ttpy 的紫外-可见吸收光谱指认结果(通过 TD-DFT 计算得到 ttpy 和 Ir₂ttpy 优化几何结构的分子轨道。使用 TD-B3LYP 方法和 6-31G(d)基组计算跃迁能, 单位为 eV)

Figure 4 Assignment for the UV-vis spectra of ligand ttpy and complex Ir₂ttpy (Molecular orbitals for ttpy and Ir₂ttpy were optimized from TD-DFT calculations. Transition energies were calculated using the TD-B3LYP method with 6-31G(d) basis sets, eV)

蔓延到相邻的苯环上. 在双核配合物 Ir_2ttpy 中, 由于 2-苯基吡啶的贡献, 其 $\pi \rightarrow \pi^*$ 吸收峰($\text{HOMO}-8 \rightarrow \text{LUMO}+1$, $E=3.44$ eV)与配体 ttpy 的相比显著红移了 50 nm, 与实验测试结果一致. MLCT 吸收峰($\text{HOMO} \rightarrow \text{LUMO}$, $E=2.58$ eV)的强度较弱. 虽然配体与配合物分子中都连接有两个三联吡啶基团, 但 ILCT、 $\pi \rightarrow \pi^*$ 、MLCT 的吸收峰都只有一个三联吡啶基团的电子云参与其中.

配体 ttpy 中, 两个 4'-苯基-2,2':6,2''-三联吡啶基团与胸腺嘧啶仅通过单键相连, 没有生成更大共轭体系, 因此仅表现出基于三联吡啶端的 ^3LC 跃迁的荧光发射峰, 峰值位于 350 nm. 配合物 Ir_2ttpy 荧光发射谱呈现两个发射峰, 350 nm 的峰相较于配体的明显减弱, 在 600 nm 处呈现出基于 $^3\text{MLCT}$ 的宽峰. ^3LC 与 $^3\text{MLCT}$ 峰值差达到 250 nm(图 5), 这种双重发射性能在荧光探针以及细胞成像领域有着一定的应用价值^[28]. 溶剂的极性对配体 ttpy 与配合物 Ir_2ttpy 的荧光发射波长几乎没有影响(支持信息图 S3 和 S4), 仅影响到发射峰的强度, 可能是由于分子结构具有强稳定性, 致使其激发和发射过程并不依赖于溶剂的极性. 常见环金属铱配合物的发光寿命可达 μs 级, 而 Ir_2ttpy 的荧光寿命仅为 105 ns, 可能由于胸腺嘧啶与三联吡啶基团之间自由旋转的 C—C 单键可通过非辐射跃迁的方式散失激发态能, 缩短了激发态寿命. Ir_2ttpy 量子产率小于 1%(支持信息图 S5 和 S6), 相较文献报道的不少铱配合物的结果偏低^[1,7].

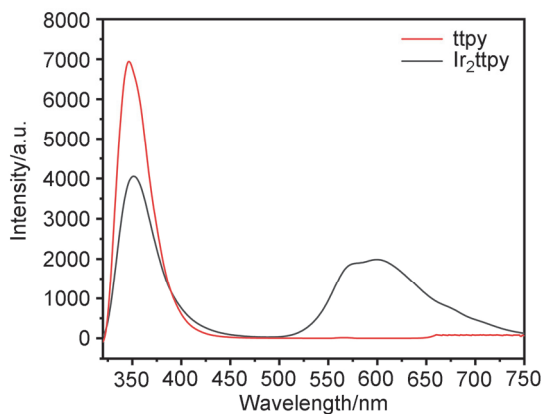


图 5 配体 ttpy 与配合物 Ir_2ttpy 的荧光发射光谱
Figure 5 Fluorescence spectra of ligand ttpy and complex Ir_2ttpy

2.3 配体及铱配合物的双光子吸收与发射性能

文献中报道了大量的多联吡啶衍生物及其环金属铱配合物, 他们表现出一定的双光子吸收(TPA)与双光子发射(TPEF)性能^[29-30]. 配体 ttpy 中胸腺嘧啶与三联吡啶未能形成更大的共轭体系, 且分子的整体平面性较差, 在 650~1000 nm 范围内没有检测到 TPA 信号. 与配体 ttpy 不同, 配合物 Ir_2ttpy 在 650~800 nm 范围内表现出明显的双光子吸收效应. 开孔 Z 扫描拟合结果显示, 配合物 Ir_2ttpy 在 680 nm 激光照射下显示出最强的 TPA

信号, 其双光子截面为 24 GM(图 6). 双光子吸收可归属于三联吡啶基团的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁, 四个苯基吡啶基团可能也有一定的贡献. 与单光子吸收谱中 MLCT 吸收峰信号很弱的现象一致, 配合物 Ir_2ttpy 在 800~1100 nm 范围内没有观测到 TPA 信号. 配合物 Ir_2ttpy 在 650~1100 nm 的飞秒激光的激发下, 产生一定的双光子荧光发射性能. TPEF 发射只呈现出一个宽的单峰, 在 500~700 nm 范围内的峰形与单光子荧光发射峰接近, 且峰值位于 600 nm 左右, 表明 TPEF 也源自 $^3\text{MLCT}$ 激发态. 配体 ttpy 没有检测到 TPEF 信号(图 7).

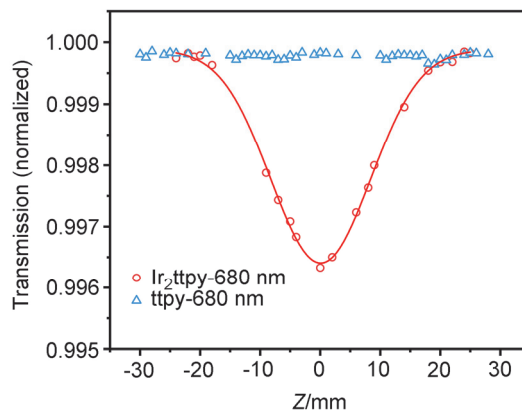


图 6 配体 ttpy 与配合物 Ir_2ttpy 在 680 nm 飞秒激光激发下的开孔 Z-扫描结果及高斯拟合曲线(实线)

Figure 6 Open-aperture Z-scan experimental data and fitting curve for complex Ir_2ttpy under a 680 nm femtosecond laser beam

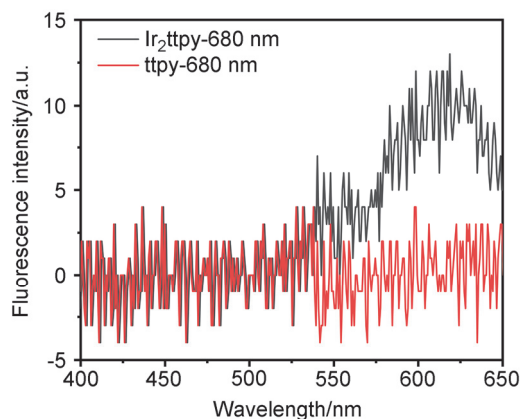


图 7 配体 ttpy 与配合物 Ir_2ttpy 双光子激发(680 nm, 飞秒)荧光发射谱

Figure 7 Two-photon excited fluorescence spectra of ligand ttpy and complex Ir_2ttpy under a 680 nm laser beam

2.4 铱配合物的抗肿瘤活性

用噻唑蓝(MTT)法来评测铱配合物 Ir_2ttpy 的体外细胞毒性. 选取鼠源乳腺癌细胞(4T1)为研究对象, 经过 48 h 孵化, 即使配合物的浓度已达 125 $\mu\text{mol/L}$, 4T1 细胞的存活率仍高于 60%, 表明配合物的暗毒性较差, IC_{50} 约为 237 $\mu\text{mol/L}$.

作为对照, 采用 450 nm 的光照射 30 min(功率 30 mW·cm⁻²), 配合物的细胞毒活性明显升高(支持信息图 S7), IC₅₀ 约为 13 μmol/L, PI=18.

选用人正常干细胞系(LO2)细胞进行光毒性和暗毒性测试, 发现 Ir₂ttpy 也能对 LO2 造成一定的损伤, 但明显比对癌细胞的生长抑制活性低.

2.5 铱配合物的细胞内定位

文献中不少环金属铱配合物表现出一定的抗肿瘤活性, 研究表明这些铱配合物可与多种细胞器如线粒体、溶酶体、高尔基体、内质网和脂滴等发生相互作用. 如对线粒体的形态进行实时监控可以发现, 配合物能诱导线粒体损伤从而杀死癌细胞^[15]. 近年来线粒体选择性定位的铱配合物备受关注, 研究者们认为光诱导的细胞内氧化还原失衡及线粒体膜电位的改变等导致了肿瘤细胞的坏死和凋亡损伤.

根据文献中铱配合物[Ir(ppy)₂(N⁺N)]X 的抗肿瘤机理的研究结果(定位线粒体/溶酶体且导致线粒体/溶酶体功能损伤), Ir₂ttpy 因其配位单元与之结构类似, 预期其也有可能进入线粒体或溶酶体. 将之与线粒体染色剂 MitoTracker Deep Red (MTDR)和溶酶体染色剂 Cell Lyso Tracker Red (LTR)对 Hela 细胞进行共染, 通过共聚焦显微成像初步分析其靶向线粒体或溶酶体的可能性.

由于 Ir₂ttpy 本身的荧光不强, 其在活细胞环境下还会发生荧光部分淬灭, 即使将配合物 Ir₂ttpy 的给药浓度提高到 50 μmol/L, 进入细胞的 Ir₂ttpy 的荧光发射强度还是非常弱, Merge 组中无明显重叠荧光信号(支持信息图 S8). 经过多次尝试(根据 Ir₂ttpy 的 IC₅₀ 数据, 调整共染实验的给药浓度), 目前未能确证 Ir₂ttpy 能被线粒体或溶酶体有特异性的摄入.

2.6 配体及铱配合物的 DNA 结合性能

鉴于 DNA 是 Pt(II)、Ru(II)等金属抗癌药物的可能靶分子, 铱配合物也可能与细胞核内 DNA 或者线粒体 DNA 发生一定的相互作用, 从而影响 DNA 的分子结构和生物功能^[31].

由图 8 可见, 随着 CT-DNA 浓度逐渐增加, 配体和配合物的紫外-可见吸收光谱表现出明显的减色效应. ttpy 与 Ir₂ttpy 分别在 304 和 334 nm 处出现一个明显的等吸收点, 表明它们都能与 DNA 发生一定的相互作用, 且能形成较为稳定的复合物. 根据等吸收点出现的位置, 推测 ttpy 中的胸腺嘧啶基团或者三联吡啶端与 DNA 可能形成氢键, 而 Ir₂ttpy 的配位中心能通过氢键或者通过静电结合形成复合物.

通过 Autodock 软件^[32]进行分子结合作用的模拟(图 9), 结果显示 ttpy 和 Ir₂ttpy 均可嵌入到 DNA 的大沟中. ttpy 上的胸腺嘧啶基团中的两个羰基 O 原子分别与 DNA 的碱基 DG-2 和 DC-21 形成氢键, 键长约为 0.21 nm. Ir₂ttpy 上的胸腺嘧啶基团中一个的 O 原子与 DNA 的碱基 DA-17 和三联吡啶基团的未配位 N 原子与碱基

DC-9 通过氢键的方式结合, 键长约为 0.20~0.26 nm. 正二价的配位阳离子与带负电荷的 DNA 链形成一定的静电吸引, 也会增强 Ir₂ttpy 与 DNA 分子的结合作用, ttpy、Ir₂ttpy 与 DNA 分子的结合能分别为-4.5 和-9.08 eV.

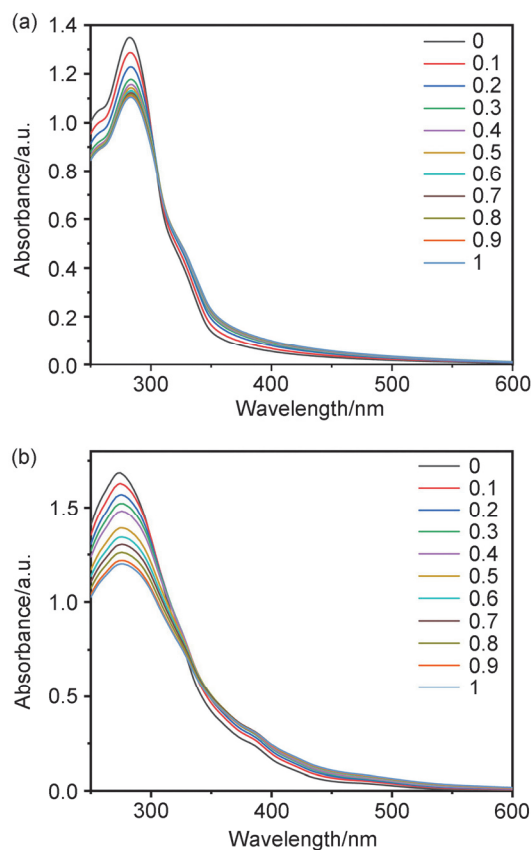


图 8 ttpy (a)和 Ir₂ttpy (b)的紫外可见吸收光谱随 DNA 浓度递加的变化图(化合物的浓度为 2.0×10^{-5} mol/L, 缓冲溶液组成: 5 mmol/L tris, 50 mmol/L NaCl, pH=7.42, $r=[\text{CT-DNA}]/[\text{ttpy or Ir}_2\text{ttpy}]=0 \sim 1.0$.)
Figure 8 UV absorption spectra of ttpy (a) and Ir₂ttpy (b) solution with increasing concentration of CT-DNA [buffer=5 mmol/L tris, 50 mmol/L NaCl, pH=7.42. The concentration of ttpy (or Ir₂ttpy) is 2.0×10^{-5} mol/L, $r=[\text{CT-DNA}]/[\text{ttpy/or Ir}_2\text{ttpy}]=0 \sim 1.0]$

2.7 配体及铱配合物的 ROS 生成性能

铱(III)配合物能够在光诱导下产生 ROS, 继而 ROS 介导线粒体和溶酶体功能障碍, 造成严重的细胞内损伤, 最终导致肿瘤细胞的凋亡坏死. 铱配合物作为光动力学治疗(PDT)的光敏剂而被广泛研究. ROS 可由 I 型(*i.e.* O₂⁻, H₂O₂, •OH)或 II 型(*i.e.* ¹O₂)光化学反应生成, 文献报道大部分铱配合物光化学反应的产物为 ¹O₂^[33-34]. 为了探究 Ir₂ttpy 的 ROS 光敏化作用机制和 PDT 潜在效果, 测试了其产生 ROS 的能力.

9,10-蒽二基-双(亚甲基)二甲酸(ABDA)是一种测定单线态氧的指示剂, 其与单线态氧反应生成对应的内过氧化物, 可通过记录 400 nm 处吸光度的降低来监测^[35]. 从图 10 可以看出, 随着光照时间的增加, 含有配合物的 ABDA 溶液的吸光度呈现出一定的下降趋势, 这表明

Ir_2ttpy 可以在可见光的光照下产生单线态氧 $^1\text{O}_2$. 进一步拟合的结果显示 $^1\text{O}_2$ 产率约为 0.31.

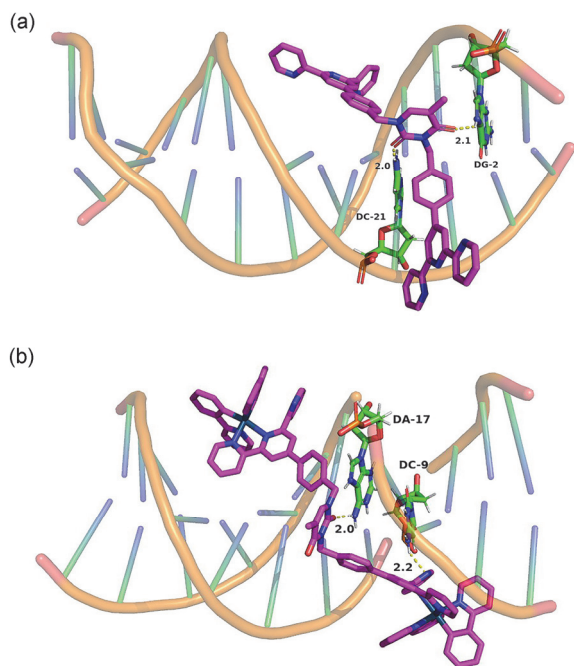


图9 Autodock 模拟的配体 ttpy (a)以及配合物 Ir_2ttpy (b)与 DNA 分子进行相互对接作用的示意图

Figure 9 Docking interactions between the ligand ttpy (a) and complex Ir_2ttpy (b) with DNA molecules, simulated by Autodock

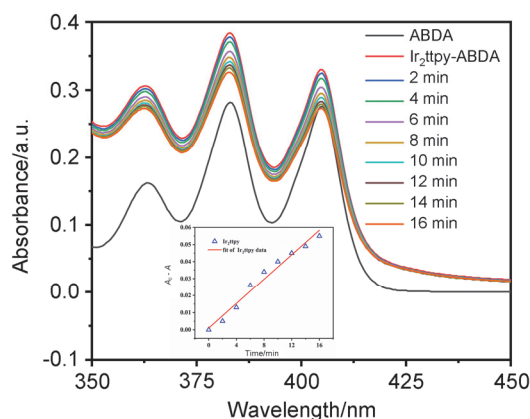


图10 二甲基亚砜(DMSO)溶液中 ABDA 紫外可见吸收光谱随 Ir_2ttpy 浓度的递加的变化图

Figure 10 UV-Vis absorption spectra of ABDA in dimethyl sulfoxide (DMSO) solution changed with increasing concentration of Ir_2ttpy

二氢罗丹明(DHR123)是一种不带电荷的非荧光染料, 在超氧负离子 O_2^- 存在下, 细胞内的 DHR123 可被氧化为具有发光的 R123, 定位在线粒体中^[36]. 从图 11 可以看出, 在可见光的照射下, 配合物 Ir_2ttpy 敏化的 DHR123 溶液在 542 nm 处的荧光强度明显提高, 且随着照射时间的增加荧光强度相应的增加. 对比图 10 和 11, 配合物 Ir_2ttpy 在光诱导下生成 O_2^- 的效率比 $^1\text{O}_2$ 更为显

著.

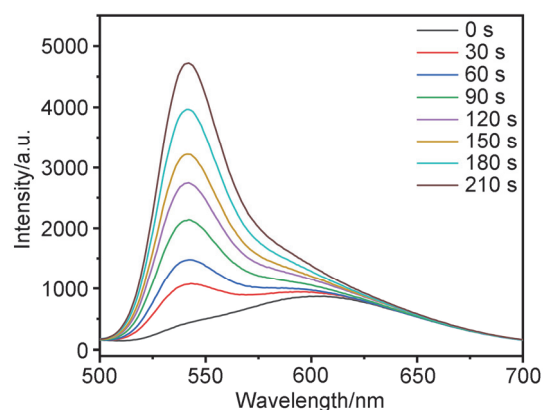


图11 DMSO 溶液中 Ir_2ttpy 敏化的 DHR123 荧光发射光谱变化

Figure 11 Fluorescence spectra of DHR123 sensitized by Ir_2ttpy in DMSO solution

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)作为一种还原辅酶在生物催化过程中充当着重要角色. 在线粒体中, NADH 是电子传递链的重要供体, 其携带的电子参与氧化磷酸化过程以产生三磷酸腺苷(ATP). ROS 可以氧化 NADH, 使其转化为 NAD^+ . 这种氧化作用会影响 NADH/ NAD^+ 的比例, 进而影响细胞的氧化还原状态和能量代谢途径^[37]. 鉴于配合物 Ir_2ttpy 能在光诱导下生成 ROS, 采用紫外可见吸收光谱跟踪其催化氧化 NADH 的反应. 从图 12 可以看出, NADH 在 340 nm 处的吸光度明显减弱, 表明配合物 Ir_2ttpy 能在可见光照射下有效地将 NADH 转化为 NAD^+ . 由 340 nm 处的吸光度差值可算出 Ir_2ttpy 与 NADH 之间催化反应的转化数(TON)为 22.4, 转换频率(TOF)为 89.2 h^{-1} , 光照 16 min 后 NADH 吸收峰几乎完全消失.

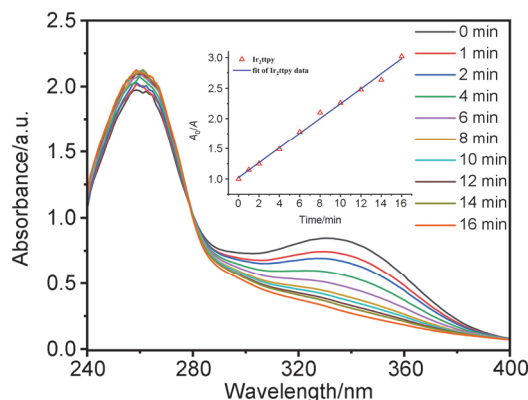


图12 配合物 Ir_2ttpy 催化氧化 NADH 的吸收光谱变化图

Figure 12 UV-vis absorption spectra of NADH during the photocatalytic oxidation by complex Ir_2ttpy

采用 CellROX™来监测细胞内 ROS 的生成情况. CellRox™绿色试剂是一种用于 ROS 的荧光开启型指示剂^[38]. 当 HeLa 细胞仅与 Ir_2ttpy 或 CellROX™绿色试剂孵育时, 未检测到荧光信号(图 13 中的第 1 组和第 2 组).

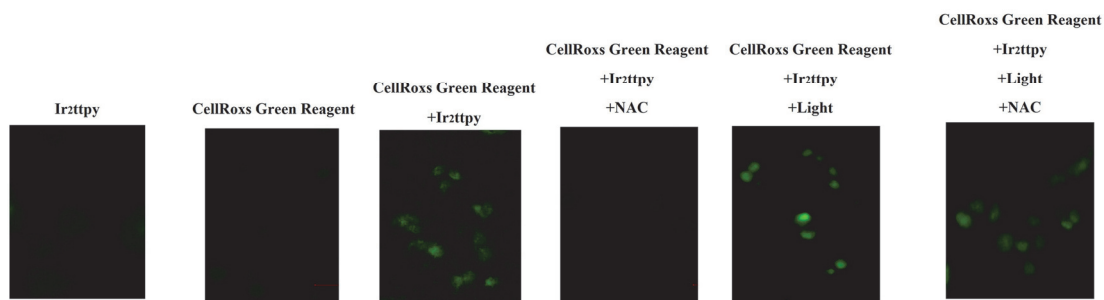


图 13 未用或使用 5 mmol/L 的 CellRoxs 预处理 30 min 的 HeLa 细胞的共聚焦图像。

Figure 13 Confocal images of HeLa cells pretreated without or with 5 mmol/L of CellRoxs for 30 min

当在细胞培养物中同时加入 Ir_2tpy 和 CellROXTM 后, 出现了可测量的荧光发射, 这表明即使在黑暗条件下, 存在 Ir_2tpy 时细胞内 ROS 的水平也会升高(图 13 中的第 3 组). 值得注意的是, 短时间(1 min)光照显著增强了荧光, 这一结果是由于新产生的细胞内 ROS 对 CellROXTM 的氧化作用(下图中的第 5 组). 此外, 使用经 *N*-乙酰-*L*-半胱氨酸(NAC, 一种抗氧化剂)预处理的细胞, 产生了淬灭的荧光发射(图 13 中的第 4 组和第 6 组).

2.8 配合物抗肿瘤的可能机理

在细胞环境中, 铱配合物光诱导产生的 ROS 以及与 DNA 的相互作用共同影响细胞命运. 铱配合物在光激发下产生的 ROS 具有高度活性, 能够导致碱基氧化、糖基损伤以及 DNA 链断裂等多种形式的损伤, 严重影响 DNA 的完整性和稳定性. ROS 造成的 DNA 损伤若超过细胞自身的修复能力, 会触发细胞周期阻滞、凋亡等一系列细胞反应^[39].

铱配合物与 DNA 的结合可能进一步干扰 DNA 相关的生物过程, 如转录和复制, 加剧细胞毒性, 协同诱导细胞凋亡. 铱配合物与 DNA 的结合会影响配合物吸收光能的效率以及激发态的寿命. 这种结合可能改变配合物周围的微环境, 影响能量传递过程, 从而调节 ROS 的生成量, 也会影响 ROS 的生成路径和种类.

目前对于铱配合物光诱导产生 ROS 以及其与 DNA 相互作用的研究, 在检测技术上存在一定局限性, 难以实时、原位地精确监测 ROS 的生成动态以及铱配合物在 DNA 上的结合位点变化.

3 结论

制备了基于胸腺嘧啶三联吡啶配体的双核环金属铱配合物 Ir_2tpy , 其单光子吸收谱中呈现出强 ILCT 和弱 MLCT 吸收峰, 单光子发射谱中的双重荧光发射峰分别来自 ³LC 和 ³MLCT 激发态, 激发态寿命约为 101 ns, 量子产率小于 1%. 最大双光子吸收截面约为 24 GM, 双光子激发发射峰位于 600 nm, 源自 ³MLCT 激发态. 配合物 Ir_2tpy 针对 4T1 乳腺癌细胞表现出一定的光毒性, PI 值达到 18. 配合物 Ir_2tpy 可以嵌入 DNA 大沟区, 以

氢键和静电吸引力与 DNA 发生相互结合作用. 配合物 Ir_2tpy 在可见光照射下能够生成单线态氧和超氧负离子, 对 NADH 有明显的催化氧化效应. 配合物 Ir_2tpy 的抗肿瘤活性与其诱导生成 ROS 以及与 DNA 相互结合有关, 二者协同作用而导致肿瘤细胞死亡.

4 实验部分

4.1 仪器与设备

未特别指明的化学品都来源于商业采购并直接使用. CT-DNA 从 Sigma-Aldrich 公司购买. 所有合成的化合物均在真空干燥器(CaSO_4)中干燥后再进行结构表征. ¹H NMR 用 500 MHz Bruker DMX 分析, TMS 作内标. ESI-MS 数据用 Agilent 1290-6545 LC/MS 采集, 元素分析数据用 Heraeus CHN-O 快速分析仪采集. 紫外-可见吸收光谱用 PerkinElmer LAMBDA@365 记录, 荧光光谱用 Hitachi F-7000 记录. 荧光寿命和量子产率采用 HORIBA FLUOROLOG-3-11 进行测量. CT-DNA 的浓度用紫外光谱标定($\epsilon_{260\text{nm}} = 6600 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$). 在 Tris-HCl 的缓冲溶液中(pH=7.42), 260 和 280 nm 处紫外吸收度的比值为 1.87, 表明 DNA 中已完全去除了蛋白质杂质.

4.2 化合物的合成与表征

4.2.1 配体 ttpy 的合成

将 0.126 g 胸腺嘧啶(1 mmol)溶于 8 mL 无水 *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)后, 通入 N_2 同时将溶液升温至 40 °C, 加入 0.048 g NaH (2 mmol), 充分搅拌反应 1 h. 将 0.804 g (2 mmol) 4'-*p*-溴亚甲基苯基-2,2':6',2"-三联吡啶溶于 20 mL DMF 后, 再逐滴将其加入到上述溶液中, 在氮气保护下反应 24 h. 减压蒸除溶剂, 得到黄白色固体. 再用 100 mL 乙醇进行重结晶处理, 得到白色固体 256 mg, 产率 27.5%. ¹H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz) δ : 8.78 (d, $J=4.0$ Hz, 4H), 8.69 (q, $J=8.0$ Hz, 8H), 8.04 (t, $J=7.5$ Hz, 4H), 7.97~7.95 (m, 3H), 7.91 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.57~7.51 (m, 8H), 5.15 (s, 2H), 5.07 (s, 2H), 1.90 (s, 3H); HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{49}\text{H}_{36}\text{N}_8\text{O}_2\text{Na}$ 791.2853, found 791.2855.

4.2.2 配合物 Ir₂ttpy 的合成

将 100 mg (0.09 mmol) Ir₂(bpy)₄Cl₂ 和 60 mg (0.08 mmol) ttpy 溶于 30 mL 二氯甲烷和甲醇混合溶液(*V*:*V*=1:1)中, 在 65 °C 下加热回流 24 h, 全程 N₂ 保护且避光处理. 反应结束后减压蒸除溶剂, 得到橙色固体. 将橙色固体溶于 50 mL 水与 DMSO 的混合溶液(*V*:*V*=4:1)中, 加入 150 mg NH₄PF₆ 固体, 继续搅拌 30 min, 过滤收集橙色沉淀物, 用水(20 mL×3)、乙醇(10×3 mL)和乙醚(10 mL)洗涤, 真空干燥后得橙色粉末 92 mg, 产率 57.5%. ¹H NMR (acetone-*d*₆, 500 MHz) δ : 9.12 (t, *J*=8.0 Hz, 6H), 8.82 (s, 1H), 8.77 (q, *J*=8.0 Hz, 2H), 8.33 (t, *J*=8.5 Hz, 2H), 8.28~8.25 (m, 2H), 8.20 (t, *J*=8.0 Hz, 2H), 8.11 (d, *J*=8.0 Hz, 4H), 8.01 (t, *J*=8.0 Hz, 4H), 7.91 (t, *J*=8.0 Hz, 4H), 7.81 (d, *J*=7.5 Hz, 2H), 7.76 (d, *J*=6.0 Hz, 2H), 7.68~7.62 (m, 6H), 7.50 (d, *J*=8.0 Hz, 2H), 7.32 (t, *J*=7.5 Hz, 2H), 7.26 (t, *J*=7.5 Hz, 2H), 7.08 (t, *J*=6.0 Hz, 2H), 7.04 (t, *J*=6.0 Hz, 2H), 6.95 (t, *J*=7.5 Hz, 2H), 6.87 (d, *J*=7.5 Hz, 2H), 6.76 (t, *J*=7.5 Hz, 2H), 6.60 (t, *J*=7.5 Hz, 2H), 6.31 (t, *J*=7.5 Hz, 2H), 5.96 (d, *J*=7.5 Hz, 2H), 5.53 (d, *J*=7.5 Hz, 2H), 5.21 (d, *J*=14.5 Hz, 2H), 5.14 (d, *J*=14.5 Hz, 2H), 1.90 (3, 3H); HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₉₃H₆₈N₁₂O₂Ir₂²⁺ 885.0415, found 885.2489.

4.3 化合物的双光子性能研究

在开孔 Z 扫描装置上测定双光子吸收截面 δ_2 . 所有的光学测试都是使用脉冲持续时间为 140 fs、重复频率为 80 MHz 的飞秒激光进行的. 使用 1 kHz 机械斩波器消除激光脉冲对 Ir(III)配合物的加热效应. 在开孔条件下评估非线性吸收, 根据以下方程对测量的实验数据进行拟合.

$$T(z) = \frac{1}{q(z)\sqrt{\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} \ln[1+q(z)] \exp(-\tau^2) d\tau$$

双光子激发发射光谱利用锁模钛宝石激光器 (Coherent Mira900F, 200 fs, 76 MHz) 作为激发光源, 采用单扫描条纹相机 (Hamamatsu C5680-01) 来进行光谱记录. 样品溶于 H₂O/DMSO (*V*:*V*=1:1) 混合溶液, 浓度 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

4.4 密度泛函理论(DFT)计算

配体和配合物的 DFT 计算采用 Gaussian 09 程序包进行, 利用 B3LYP 密度泛函理论对分子结构进行了优化. 在基态和激发态优化的基础上, 应用含时密度泛函 (TDDFT) 方法研究了激发态的电子性质. 在计算过程中, 配体的所有原子采用 6-31g(d) 基组, 配合物采用了 6-31g(d)(非金属原子)/LANL2DZ (Ir 原子) 混合基组. 在结构优化过程中, 采用了 Gaussian 09 程序的默认收敛标准, 即能量收敛标准为 1.0×10^{-6} Hartree, 最大力收敛标准为 3.0×10^{-4} Hartree/Boh, 均方根力收敛标准为

1.0×10^{-4} Hartree/Bohr, 最大位移收敛标准为 1.2×10^{-3} Bohr, 均方根位移收敛标准为 8.0×10^{-4} Bohr.

4.5 与 DNA 相互作用的分子模拟

采用 Autodock 程序对配合物与 DNA 之间的相互作用进行模拟. Ir(III)配合物的结构通过 DFT (B3LYP) 方法优化得到, DNA (PDB ID 1BNA) 的分子结构从蛋白质数据库中获取 (<http://www.rcsb.org/pdb>). 在建模时, DNA-Ir₂ttpy 的网格盒大小为 6.8 nm×7.6 nm×12.6 nm, 网格间距为 0.0375 nm. 运用拉马克遗传算法 (LGA) 计算结合在 DNA 上的 Ir₂ttpy 可能出现的构象, 进行 100 次 GA 运算, 其他参数使用默认值. 利用 Pymol 软件分析结合自由能最低的构象的对接结果.

References

- [1] Mao, H. T.; Li, G. F.; Shan, G. G.; Wang, X. L.; Su, Z. M. *Coord. Chem. Rev.* **2020**, *413*, 213283.
- [2] Yang, X. L.; Xu, S. P.; Zhang, Y.; Zhu, C. Y.; Cui, L. S.; Zhou, G. J.; Chen, Z.; Sun, Y. H. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2023**, *62*, e202309739.
- [3] You, D. Q.; Yang, T. J.; Tao, Y. T.; Wang, J. S.; Wang, J.; Zhou, A. H.; Tao, Y. T. *J. Mater. Chem. C* **2024**, *12*, 2730.
- [4] Jiang, Z. Q.; Zhang, Z. Y.; Kong, R. J.; Qiao, Z. C.; Liu, L.; Song, Z.; Zhu, S. Q.; Liu, R.; Zhu, H. J. *Dyes Pigm.* **2024**, *222*, 111837.
- [5] Di, L.; Xing, Y.; Yang, Z. X.; Xia, Z. Q. *Sens. Actuators, B* **2022**, *350*, 130894.
- [6] Shaikh, S.; Wang, Y. H.; Rehman, F.; Jiang, H.; Wang, X. M. *Coord. Chem. Rev.* **2020**, *416*, 213344.
- [7] Jhun, B. H.; Song, D.; Park, S. Y.; You, Y. M. *Top. Curr. Chem.* **2022**, *380*, 35.
- [8] Shi, H. D.; Wang, Y.; Lin, S. M.; Lou, J. X.; Zhang, Q. L. *Dalton Trans.* **2021**, *50*, 6410.
- [9] Pei, Y.; Sun, Y.; Huang, M. J.; Zhang, Z. J.; Yan, D. Y.; Cui, J.; Zhu, D. X.; Zeng, Z. B.; Wang, D.; Tang, B. Z. *Biosensors* **2022**, *12*, 1104.
- [10] Samandarsangari, M.; Kritchenkov, I. S.; Kozina, D. O.; Komarova, A. D.; Shirmanova, M. V.; Tunik, S. P. *Chemosensors* **2023**, *11*, 263.
- [11] Liao, X. X.; Shen, J. C.; Wu, W. J.; Kuang, S.; Lin, M. W.; Karges, J.; Tang, Z. L.; Chao, H. *Inorg. Chem. Front.* **2021**, *8*, 5045.
- [12] Li, W. J.; Li, T.; Pan, Y.; Li, S. H.; Xu, G.; Zhang, Z. L.; Liang, H.; Yang, F. J. *Med. Chem.* **2024**, *67*, 3843.
- [13] Lu, C. F.; Xu, W.; Shah, H.; Liu, B. Q.; Xu, W.; Sun, L.; Qian, S. Y.; Sun, W. F. *ACS Appl. Bio. Mater.* **2020**, *3*, 6865.
- [14] Feng, T.; Tang, Z. X.; Karges, J.; Shu, J.; Xiong, K.; Jin, C. Z.; Chen, Y.; Gasser, G.; Ji, L. N.; Chao, H. *Chem. Sci.* **2024**, *15*, 6752.
- [15] Gu, S.-X.; Jiang, Q.; Shi, P.-F. *Prog. Chem.* **2022**, *34*, 1957 (in Chinese) (顾顺心, 姜琴, 施鹏飞, 化学进展, **2022**, *34*, 1957.)
- [16] Joshi, B.; Shivashankar, M. *ACS Omega* **2023**, *8*, 43408.
- [17] Kainat, S. F.; Hawsawi, M. B.; Mughal, E. U.; Naeem, N.; Almo-hyawi A. M.; Altass, H. M.; Hussein, E. M.; Sadiq, A.; Moussa, Z.; Abd-El-Aziz A. S.; Ahmed, S. A. *RSC Adv.* **2024**, *14*, 21464.
- [18] Pan, D. L.; Tang, C.; Fan, X. M.; Li, Y. T.; Yang, X. T.; Jin, H. W.; Guan, Z.; Yang, Z. J.; Zhang, L. H. *New J. Chem.* **2013**, *37*, 1122.
- [19] Pu, F.; Ren, J. S.; Qu, X. G. *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47*, 1285.
- [20] Sprouse, S.; King, K. A.; Spellane, P. J.; Watts, R. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 6647.
- [21] Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J. A., Jr.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi,

- R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. *Gaussian 09*, Revision A. 02, Gaussian Inc., Wallingford, CT, **2009**.
- [22] Yan, J.; Song, M.; Zhou, D. Y.; Yiu, S. M.; Liao, L. S.; Chi, Y.; Xie, M. *Organometallics* **2023**, *42*, 2070.
- [23] Monti, F.; Baschieri, A.; Sambri, L.; Armaroli, N. *Acc. Chem. Res.* **2021**, *54*, 1492.
- [24] Shi, Q.; Li, Z.-Y.; Li, H. *Chin. J. Org. Chem.* **2025**, DOI: 10.6023/cjoc202410017 (in Chinese). (史茜, 李忠玉, 李晗, 有机化学, **2025**, DOI: 10.6023/cjoc202410017).
- [25] Lorenzo-Aparicio, C.; Gallego, M. G.; C. Arellano, R.; Sierra, M. A. *Dalton Trans.* **2022**, *51*, 5138.
- [26] Singh, V. D.; Paitandi, R. P.; Dwivedi, B. K.; Singh, R. S.; Pandey, D. S. *Organometallics* **2018**, *37*, 3827.
- [27] Zhang, Q.; Lu, X.; Cao, H. Z.; Wang, H.; Zhu, T.; Tian, X. H.; Li, D. D.; Zhou, H. P.; Wu, J. W.; Tian, Y. P. *ACS Appl. Bio Mater.* **2020**, *3*, 8105.
- [28] Ma, J. B.; Sun, R.; Xia, K. F.; Xia, Q. X.; Liu, Y.; Zhang, X. *Chem. Rev.* **2024**, *124*, 1738.
- [29] Kuang, S.; Wei, F. M.; Karges, J.; Ke, L. B.; Xiong, K.; Liao, X. X.; Gasser, G.; Ji, L. N.; Chao, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2022**, *144*, 4091.
- [30] Sun, F. Y.; Wei, X.; Cui, W. B.; Guo, J. F.; Li, H.; Zou, L. Y.; Ren, A. M. *J. Med. Chem.* **2024**, *67*, 18157.
- [31] Koziel, S. A.; Lesiow, M. K.; Wojtala, D.; Dyguda-Kazmierowicz, E.; Bienko, D.; Komarnicka, U. K. *Pharmaceuticals* **2021**, *14*, 685.
- [32] Eberhardt, J.; Santos-Martins, D.; Tillack, A. F.; Forli, S. *J. Chem. Inf. Model.* **2021**, *61*, 3891.
- [33] Zamora, A.; Viguera, G.; Rodríguez, V.; Santana M. D.; Ruiz, J. *Coord. Chem. Rev.* **2018**, *360*, 34.
- [34] Kasparkova, J.; Hernández-García, A.; Kostrhunova, H.; Goicuria, M.; Novohradsky, V.; Bautista, D.; Markova, L.; Santana, M. D.; Brabec, V.; Ruiz, J. *J. Med. Chem.* **2024**, *67*, 691.
- [35] Tong, J.; Liu, A.; Huang, S.; Yao, Y.; Shan G. G.; Su, Z. M. *Chem.-Asian J.* **2023**, *18*, e202300175.
- [36] Tong, J.; Yang, X.; Song, X.; Liang, J.; Huang, S.; Mao, H.; Akhtar, M.; Liu, A.; Shan, G. G.; Li, G. *Dalton Trans.* **2023**, *52*, 1105.
- [37] Ji, W. H.; Tang, X.; Du, W.; Lu, Y.; Wang, N. X.; Wu, Q.; Wei, W.; Liu, J.; Yu, H. D.; Ma, B.; Li, L.; Huang, W. *Chem. Soc. Rev.* **2022**, *51*, 71.
- [38] Lee, C. H.; Lee, S. D.; Ou, H. C.; Lai, S. C.; Cheng, Y. J. *Int. J. Mol. Sci.* **2014**, *15*, 10334.
- [39] Jiang, Q.; Xiao, N.; Shi, P. F.; Zhu, Y. G.; Guo, Z. J. *Coord. Chem. Rev.* **2007**, *251*, 1951.

(Zhao, C.)