他克莫司软膏体外释放评价方法的研究

凌　霞[1]，宋诗颖[2]，叶晓霞[1*]，张　叶[1]，许　旭[2]，乐　健[1*]
（1. 上海市食品药品检验研究院，国家药品监督管理局化学药品制剂质量分析重点实验室，上海 201203；
2. 上海应用技术大学，上海 201418）

摘要：采用改良 Franz 扩散池建立了他克莫司（**1**）软膏体外释放的测定方法，评价同规格、不同处方工艺 **1** 软膏体外释放的一致性。首先计算了原研制剂 0.1％ **1** 软膏和 0.03％ **1** 软膏的中位体外释放率比值。结果显示，90％置信区间均落在 FDA 一致性规定的 75.00％～ 133.33％限度内。然后计算 6 家生产企业的 0.1％ **1** 软膏仿制药与原研制剂的中位体外释放率比值，结果显示，样品 C 和样品 F 的 90％置信区间均落在规定限度内，而样品 D、样品 E、样品 G、样品 H 没有落在规定限度内。该研究建立的方法符合 **1** 软膏体外释放评价的要求，评价方法能有效区分不同企业的生产工艺。

关键词：他克莫司软膏；免疫抑制剂；特应性皮炎；体外释放；仿制药；一致性评价；改良 Franz 扩散池；高效液相色谱
中图分类号：R917；R979.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2025)02-0232-07
引用：凌　霞 , 宋诗颖 , 叶晓霞 , 等. 他克莫司软膏体外释放评价方法的研究 [J]. 中国医药工业杂志 , 2025, 56(2): 232-238. DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2025.02.012

Investigation of An Evaluation Method of *in vitro* Release Test for Tacrolimus Ointment

LING Xia[1], SONG Shiying[2], YE Xiaoxia[1*], ZHANG Ye[1], XU Xu[2], LE Jian[1*]
(*1. NMPA Key Lab. for Quality Analysis of Chemical Drug Preparations, Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203;
2. Shanghai Institute of Technology, Shanghai 201418*)

ABSTRACT: A method for determining the *in vitro* release of tacrolimus (**1**) ointment was established using an improved Franz diffusion cell, and the consistency of *in vitro* release of **1** ointments with the same specifications but different prescription processes was evaluated. Firstly, the median *in vitro* release rate ratio of the original formulations, **1** 0.1% and 0.03% ointment, was calculated. The results showed that the 90% confidence intervals were within the limit range of 75.00% to 133.33% specified by the FDA for consistency. Then, the median *in vitro* release rate ratios of **1** 0.1% ointment generic drugs from 6 manufacturers to original reference formulation were calculated. The results showed that the 90% confidence intervals of samples C and F were within the specified limits, while samples D, E, G, and H did not fall within the specified limits. The established method met the requirements for *in vitro* release evaluation of **1** ointment, and the evaluation method could effectively distinguish different production processes of manufacturers.

Key Words: tacrolimus ointment; immunosuppressant; atopic dermatitis; *in vitro* release; generic drug; consistency evaluation; modified Franz cell diffusion; HPLC

他克莫司（tacrolimus，**1**）是日本藤泽公司从链霉菌属培养物中分离得到的大环内酯类新型免疫抑制剂，通过与内源性细胞受体结合形成亲免素复合物而发挥药理作用[1—4]。**1** 口服吸收率低、吸收不完全且不规则、个体差异较大，而局部用药时可避免上述缺陷，如已上市的用于皮炎治疗的软膏剂[5]。**1** 软膏是全球首个获批的非皮质类固醇类外用免疫调节剂，适用于因潜在危险而不宜使用传统疗法，或对传统疗法反应不充分，或无法耐受传统疗法的中

收稿日期：2024-04-30
作者简介：凌　霞（1981—），女，主管药师，从事药品质量研究工作。
通信作者：叶晓霞（1977—），女，主任药师，从事药品质量研究工作。
E-mail：yexxsifdc@163.com
乐　健（1972—），男，主任药师，从事药品质量研究工作。
E-mail：fdalej@163.com

到重度特应性皮炎的患者[3]。对 **1** 软膏体外释放方法的研究是评价不同厂家产品质量一致性的重要内容。但目前，我国大多数外用半固体制剂执行的标准中仅包含鉴别、有关物质、含量、无菌 / 微生物检测项目，并未制定释放度检查项，这使得外用半固体制剂的有效性在药品的放行检验以及日常监管中未能被有效监测。

本文采用改良的 Franz 扩散池法[6—7]，建立了 HPLC 法检测同规格、不同处方工艺 **1** 软膏样品的释放度。根据 FDA 的指导原则[8—9]，比较 0.1% 规格 **1** 软膏的原研制剂与不同企业生产的仿制药体外释放行为的一致性，以期为掌握外用半固体制剂的质量一致性评价技术提供参考。

1 仪器与试药

2695 型高效液相色谱仪（美国 Waters 公司）；DHC-6TD 型干加热透皮扩散仪（美国 Logan 公司）。

1 对照品（浙江海正药业有限公司，含量 95.3%，批号 TAB0220803）；0.03% **1** 软膏（原研制剂，丹麦 LEO 公司，批号 C78888）；0.1% **1** 软膏［原研制剂，丹麦 LEO 公司，共 3 批次，批号 C73736、C74645 和 C74643，分别记作样品 A、样品 B_1，样品 B_2；仿制药，来源于 6 家国内企业，分别记作样品 C（批号 59220911）、样品 D（批号 20220926）、样品 E（批号 C3922078）、样品 F（批号 2H006N91）、样品 G（批号 220714）、样品 H（批号 2212104）］；0.45 μm 聚四氟乙烯膜（南通龙津膜业科技有限公司）；乙醇、四氢呋喃、异丙醇为色谱纯，氯化钠为分析纯。

2 方法与结果

2.1 体外释放度的测定方法

2.1.1 释放条件

采用改良的 Franz 立式扩散池进行测定，以无水乙醇和生理盐水（体积比 3 ∶ 7）12 mL 为释放介质，在搅拌速度 400 r/min、温度 32 ℃条件下试验。分别在 0.5、1、2、3、4、5、6 h 时取释放溶液 4 mL，取样后补充同温、等量的释放介质。释放液无需处理，直接进样测定。

2.1.2 溶液配制

供试品溶液：取各 **1** 软膏样品约 0.3 g，置垫有聚四氟乙烯膜（孔径 0.45 μm，预先用水浸泡 15 min，取出擦干后使用）的 2 mm 厚定量环内，均匀涂布，精密称定；将涂有供试品的定量环置扩散池上，依法操作，分别于各时间点取释放溶液 4 mL，即得。

对照品溶液：取 **1** 对照品适量，精密称定，加四氢呋喃溶解并定量稀释制成每 1 mL 中约含 **1** 0.5 mg 溶液，作为 **1** 对照品贮备液（4 ℃下可存放 1 个月）。精密量取贮备液适量，用释放介质定量稀释制成每 1 mL 中约含 **1** 0.5 μg 的溶液。静置 4 min，待异构体转化平衡后进样。

2.1.3 色谱条件

色谱柱 Agilent ZORBAX SB 柱（4.6 mm×150 mm，5 μm），以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；*流动相* 水、异丙醇和四氢呋喃（体积比 5 ∶ 2 ∶ 2），等度洗脱；*检测波长* 220 nm；*流速* 1.0 mL/min；*进样量* 100 μL；*样品室温度* 5 ℃；*柱温* 60 ℃。

2.2 方法学验证

2.2.1 系统适用性试验

精密量取“**2.1.2**”项下供试品溶液（**1** 软膏样品 A）与对照品溶液，按“**2.1.3**”项下色谱条件进样测定，并记录色谱图。按外标法以峰面积计算 **1** 释放量。理论板数按 **1** 峰计算应不低于 2 000。典型色谱图如图 1 所示，说明满足测定方法的要求。

2.2.2 线性试验

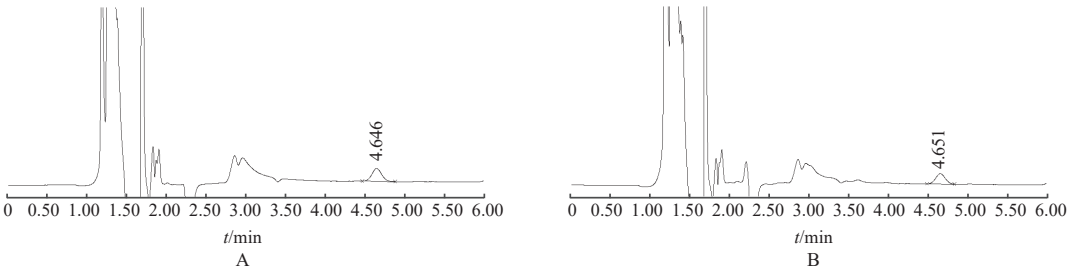
取 **1** 对照品适量，精密称定，加四氢呋喃溶解并定量稀释，制成每 1 mL 中约含 **1** 0.5 mg 的溶液；精密量取上述溶液适量，用释放介质定量稀释成质量浓度为 5.399×10^{-3}、1.080×10^{-2}、5.399×10^{-2}、0.108、0.540、1.620、2.159 μg/mL 的对照品溶液，按“**2.1.3**”项下色谱条件进样测定。结果显示，**1** 质量浓度（c）为 5.399×10^{-3} ～ 2.159 μg/mL 时，与峰面积（A）呈良好的线性关系，标准曲线方程为 A=30 825.66c − 156.25，R=0.999 9。

2.2.3 进样精密度试验

取“**2.1.2**”项下 **1** 对照品溶液，按“**2.1.3**”项下色谱条件连续进样 6 次，计算得 **1** 峰峰面积的 RSD（n=6）为 1.4%，说明测试精密度符合要求。

2.2.4 检测限（LOD）和定量限（LOQ）

精密量取“**2.1.2**”项下 **1** 对照品溶液适量，用



A—对照品溶液（0.5 μg/mL）；B—供试品溶液。

图 1　典型色谱图

Fig.1　Typical Chromatograms

释放介质稀释成系列质量浓度对照品溶液，按“**2.1.3**”项下色谱条件进样测定。结果显示，**1** 的 LOD 和 LOQ 分别为 0.001 063 和 0.003 545 μg/mL。

2.2.5　稳定性试验

取“**2.1.2**”项下 **1** 对照品溶液和 **1** 软膏样品 A、B_1、B_2、C、D、E、F、G、H 供试品溶液，其中，供试品溶液于室温放置 0.25、0.5、1、18 h，**1** 对照品溶液于 5 ℃条件放置 7 d，按“**2.1.3**”项下色谱条件进行测定。结果显示，供试品溶液在室温条件下 18 h 内稳定，**1** 对照品溶液在 5 ℃条件下 7 d 内稳定。

2.2.6　方法精密度试验

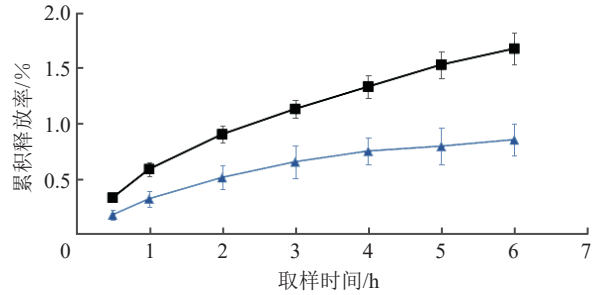
精密称取 **1** 软膏样品 C 0.30 g，按“**2.1**”项下方法操作，得到 6 组累积释放量结果。样品室直径 15 mm，药物释放有效面积为 1.767 cm^2。选取 0.5 ～ 6 h 的数据，以单位面积累积释放药量对取样时间的平方根进行线性拟合，绘制直线，所得斜率即为释放速率。6 个扩散单元的线性拟合决定系数 R^2 均大于 0.90，释放速率运行内精密度为 10.33%，小于 15%，提示建立的测定方法符合 **1** 软膏体外释放测定的精密度要求。

2.2.7　回收率试验

取原研样品 A 和仿制药样品 F 进行交叉试验后残留在滤膜上的供试品，加释放介质适量，摇匀。按“**2.1.3**”项下色谱条件进样测定膜上残留药量。计算膜上残留药量与释放量总和，折合实际上样量计算回收率，结果均在 90%～ 110%。

2.2.8　区分力

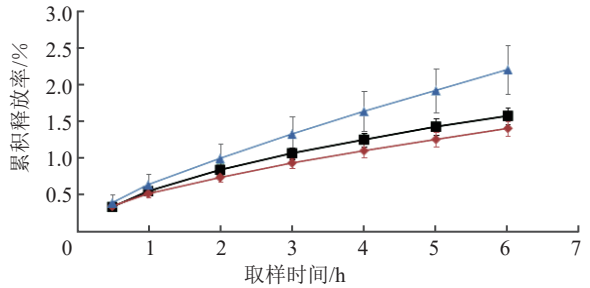
取 2 种规格的原研制剂样品，照“**2.1**”项下释放方法进行体外释放试验。按外标法以峰面积计算释放介质中 **1** 累积释放量，绘制释放曲线，结果如图 2 所示。取不同来源的 0.1%规格 **1** 软膏样品，交替上样，测得的释放曲线如图 3 所示。从图中可知，通过扩散池体外释放试验，同企业、不同规格的 **1** 软膏中 **1** 释放行为有明显差异，不同企业生产的同规格 **1** 软膏中 **1** 释放行为也有明显差异。所以该法能有效区分 **1** 的释放行为，辨别药品质量。



■—原研 LEO-0.1%；▲—原研 LEO-0.03%。

图 2　2 种规格 1 软膏原研样品的释放曲线（*n*=6）

Fig.2　Cumulative Release Curves of the Original **1** Ointment Samples with Two Specifications (*n*=6)



■—原研 LEO-0.1%；◆—样品 F-0.1%；▲—样品 G-0.1%。

图 3　不同来源、相同规格的 1 软膏样品释放曲线（*n*=6）

Fig.3　Cumulative Release Curves of **1** Ointment Samples from Different Sources with the Same Specification (*n*=6)

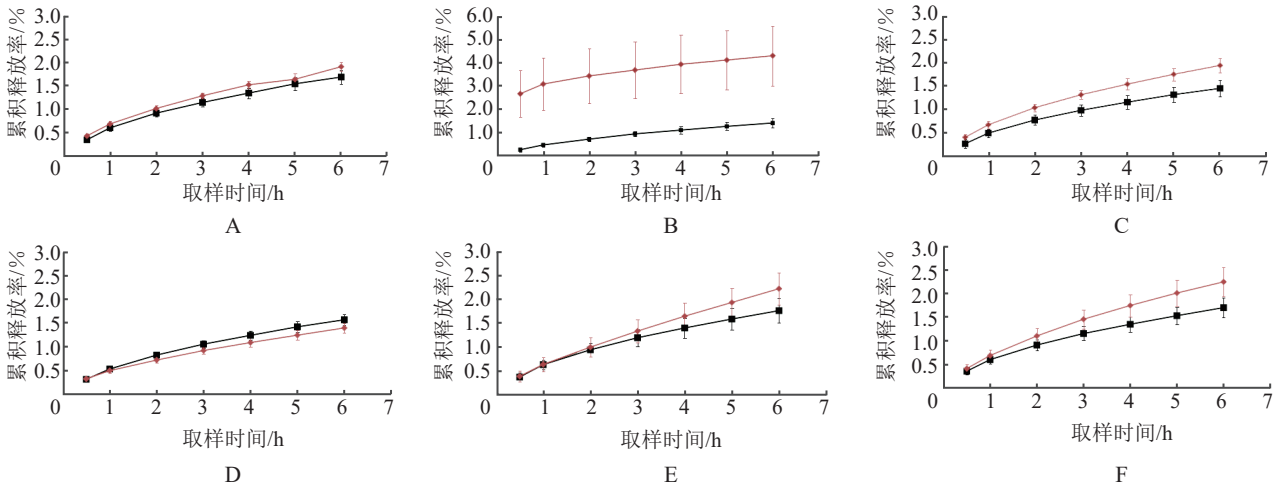
2.3 样品测定

取 6 家仿制药生产企业生产的 6 个批次仿制药供试品和原研制剂供试品 A，规格均为 0.1%，原研和仿制交替上样，照“**2.1**”项下释放方法进行体外释放试验。按外标法以峰面积计算释放介质中 **1** 累积释放量，绘制释放曲线，结果如图 4 所示。另取 2 家仿制药生产企业生产的仿制供试品，进行加速试验（在温度 40 ℃、相对湿度 75%的条件下放置 3 个月）。分别取未经和经加速试验的仿制药，照“**2.1**”项下释放方法进行体外释放试验。按外标法以峰面积计算释放介质中 **1** 累积释放量，绘制释放曲线，结果如图 5 所示。

3 讨论

3.1 置信区间法

置信区间是指由样本统计量所构造的总体参数的估计区间。置信区间展现的是这个参数的真实值有一定概率落在测量结果周围的程度，其给出的是被测量参数测量值的可信程度。在扩散池中，将装有处方变更前后制剂的扩散池以交替顺序进行排列。采用这种每次运行中包括 2 种制剂的体外释放的方

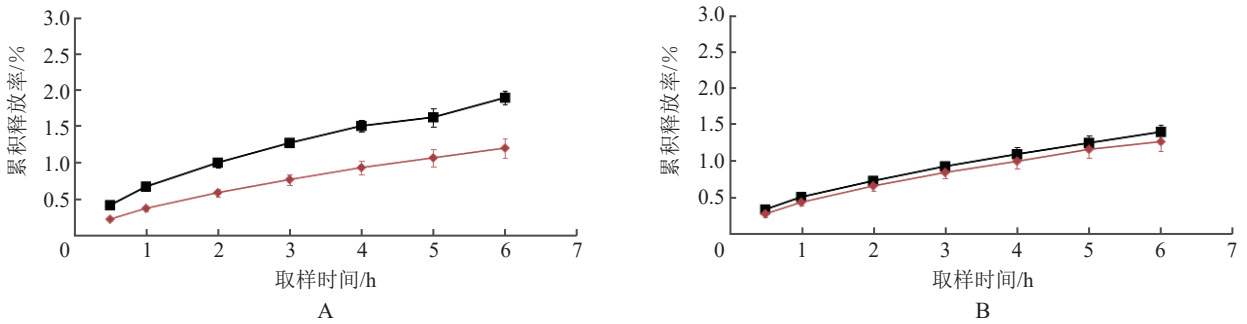


A—样品 C（n=6）；B—样品 D（n=18）；C—样品 E（n=18）；D—样品 F（n=6）；E—样品 G（n=18）；F—样品 H（n=18）。

■—原研 LEO；◆—仿制药品 C。

图 4 1 软膏的仿制药样品与原研制剂的释放曲线（n=6）

Fig.4 Cumulative Release Curves of the Generic Products and the Original Preparation of **1** Ointment (n=6)



A—样品 C；B—样品 F。

■—仿制药样品；◆—加速试验样品。

图 5 仿制药样品与其加速试验样品中 1 的释放曲线（n=6）

Fig.5 Cumulative Release Curves of the Generic Product C and the Accelerated Generic Product C of **1** Ointment (n=6)

法，有助于消除运行之间存在的系统差异，确保进行无偏差的比较。扩散池运行 2 次，原研供试品和仿制供试品各产生 6 个斜率。计算各仿制样品与原研批次的中位体外释放速率比值的 90%置信区间。

3.2 仿制药一致性评价

取原研供试品 A 和仿制药供试品 C，交替上样，照“**2.1.1**”项下释放方法进行体外释放试验。取 0.5 ～ 6 h 的数据，以单位面积累计释放量（单位为 μg·cm^{-2}）对取样时间的平方根（单位为 h$^{1/2}$）进行线性拟合，所得直线斜率即为释放速率。结果显示，原研供试品得到的 6 个释放速率分别为 1.488 1、1.233 1、1.397 4、1.099 2、1.355 9、1.348 6 μg·cm^{-2}·h$^{-1/2}$，仿制药供试品 C 得到的 6 个释放速率分别为 1.397 0、1.414 1、1.444 8、1.450 3、1.421 9、1.503 2 μg·cm^{-2}·h$^{-1/2}$。然后，计算原研供试品 A（*R*）和仿制药供试品（*T*）的释放速率比值（*T*/*R*），按升序排列，结果如表 1 所示。

表 1 显示了 36 个 *T*/*R*，第 8 个和第 29 个 *T*/*R* 分别是 *T* 的中位体外释放率与 *R* 的中位体外释放率比值的 90%置信区间的下限和上限，即本试验中 90%置信区间为 101.19 % ～ 117.61 %，在 75.00 % ～ 133.33 %内，表明仿制药供试品 C 与原研供试品 A 的释放速率是等同的。

另取原研供试品 A 和仿制药供试品 D，交替上样，照“**2.1.1**”项下释放方法进行体外释放试验。取 0.5 ～ 6 h 的数据，以单位面积累计释放量对取样时间平方根进行线性拟合，所得直线斜率即为释放速率。结果显示，原研供试品得到的 6 个释放速率分别为 1.310 6、1.200 7、1.352 4、1.177 9、1.292 0、1.291 2 μg·cm^{-2}·h$^{-1/2}$，仿制供试品 D 得到的 6 个释放速率分别为 1.138 6、1.415 7、1.121 1、1.885 0、1.106 3、1.654 6 μg·cm^{-2}·h$^{-1/2}$。然后，计算原研供试品和仿制供试品 D 的 *T*/*R*，并进行升序排列，结果见表 2。

表 2 中，第 8 个和第 29 个比值分别是原研供试品 A 和仿制药供试品 D 的中位体外释放率比值的 90%置信区间的下限和上限，即本试验中 90%置信区间为 86.77%～ 137.80%，不在 75.00%～ 133.33%内。故需增加 4 次体外设备（6 个扩散池）的运行，使原研和仿制批次各增加 12 个斜率，共 18 个斜率（包括第一阶段的结果）。获得全部 324 个 *T*/*R*，并按升序排列，位于第 110 位和第 215 位的比值分别是原研供试品 A 和仿制药供试品 D 的中位体外释放比率比值的 90%置信区间的下限和上限。结果显示，复试试验中 90%置信区间为 123.53%～ 155.05%，也不在 75%～ 133.33%，表明仿制药供试品 D 与原研供试品 A 的释放速率是不一致的。

以“**3.1**”项下测得的结果计算原研供试品之间，以及 6 批仿制药供试品与原研供试品之间中位体外

表 1　原研供试品 A 和仿制药供试品 C 的释放速率比值的 90%置信区间排序结果（初试）

Tab.1　Ranking Results of 90%　Confidence Interval of Releasing Rate Ratio of the Original Sample A and the Generic Sample C（1st Trial）

排序结果	*T*/*R*	排序结果	*T*/*R*	排序结果	*T*/*R*
1	0.938 8	13	1.037 8	25	1.132 9
2	0.950 3	14	1.042 9	26	1.146 7
3	0.955 5	15	1.048 6	27	1.153 1
4	0.970 9	16	1.048 7	28	1.171 6
5	0.974 6	17	1.054 3	29	**1.176 1**
6	0.999 7	18	1.065 6	30	1.219 0
7	1.010 1	19	1.069 6	31	1.271 0
8	**1.011 9**	20	1.071 3	32	1.286 5
9	1.017 5	21	1.075 4	33	1.293 6
10	1.030 4	22	1.075 7	34	1.314 4
11	1.033 9	23	1.108 7	35	1.319 5
12	1.035 9	24	1.114 7	36	1.367 6

注：黑体标注分别为 T 的中位体外释放率和 R 的中位体外释放率。

表 2 原研供试品 A 和仿制药供试品 D 的释放速率比值的 90%置信区间排序结果（初试）

Tab.2 Ranking Results of 90% Confidence Interval of Releasing Rate Ratio of the Original Sample A and the Generic Sample D (1st Trial)

排序结果	*T*/*R*	排序结果	*T*/*R*	排序结果	*T*/*R*
1	0.818 1	13	0.921 4	25	1.223 5
2	0.829 0	14	0.933 7	26	1.262 5
3	0.841 9	15	0.939 3	27	1.280 6
4	0.844 1	16	0.948 3	28	1.281 4
5	0.855 4	17	0.951 8	29	**1.378 0**
6	0.856 3	18	0.966 7	30	1.393 8
7	0.856 8	19	1.046 9	31	1.404 7
8	**0.867 7**	20	1.080 2	32	1.438 2
9	0.868 3	21	1.095 8	33	1.458 9
10	0.868 7	22	1.096 4	34	1.459 9
11	0.881 3	23	1.179 1	35	1.569 9
12	0.881 8	24	1.201 9	36	1.600 3

注：黑体标注分别为T的中位体外释放率和R的中位体外释放率。

释放比率比值的90%置信区间，结果如表3和4所示。

3.3 小结

体外释放是可用于表征局部外用制剂特性的几种标准方法之一[10]，能够体现制剂整体的综合效应，是有效性的重要指征。

本次测定结果表明，3 批次原研药的体外释放行为一致。2 家仿制药生产企业 C 和 F 的 2 个批次仿制药的体外释放行为与原研药等同，而其余 4 家仿制药企业生产的 4 个批次仿制药的体外释放行为均与原研药不一致。上述结果说明，同种规格、不同处方工艺 **1** 软膏的体外释放行为存在差异性，证明此次研究方法能有效评价仿制药与原研产品质量与疗效的一致性，可为后续开展更多的外用半固体仿制药一致性评价做好技术贮备，服务于药品监管和药品研发。

表 3 不同批次原研供试品之间的释放速率比值的 90%置信区间上下限

Tab.3 Upper and Lower Limits of 90% Confidence Interval of Releasing Rate Ratio of the Original Samples with Different Batch Numbers

对比样品	释放速率比值 90%置信区间 /%	一致性评价结果
样品 B_1/ 样品 A	90.39 ～ 108.41	一致
样品 B_2/ 样品 A	88.76 ～ 102.91	一致

表 4 仿制药供试品与原研供试品的释放速率比值的 90%置信区间上下限

Tab.4 Upper and Lower Limits of 90% Confidence Interval of Releasing Rate Ratio of the Generic and Original Samples

对比样品	释放速率比值 90%置信区间上下限	一致性评价结果
样品 C/ 样品 A	101.19%～ 117.61%	一致
样品 D/ 样品 A	123.53%～ 155.05%	不一致
样品 E/ 样品 A	122.48%～ 139.51%	不一致
样品 F/ 样品 A	76.42%～ 92.64%	一致
样品 G/ 样品 A	125.16%～ 142.33%	不一致
样品 H/ 样品 A	127.98%～ 146.71%	不一致

参考文献：

[1] SCHUTTE-NUTGEN K, THOLKING G, SUWELACK B, *et al*. Tacrolimus-pharmacokinetic considerations for clinicians [J]. *Curr Drug Metab*, 2018, **19**(4): 342-350.

[2] KALT D A. Tacrolimus: a Review of laboratory detection methods and indications for use [J]. *Lab Med*, 2017, **48**(4): e62-e65.

[3] OHTSUKI M, MORIMOTO H, NAKAGAWA H. Tacrolimus ointment for the treatment of adult and pediatric atopic dermatitis: review on safety and benefits [J]. *J Dermatol*, 2018, **45**(8): 936-942.

[4] SHAH B, GODSE K, MAHAJAN S, *et al*. Efficacy and safety of basic fibroblast growth factor (bFGF) related decapeptide solution plus tacrolimus 0.1% ointment versus tacrolimus 0.1% ointment in the treatment of stable vitiligo [J]. *Dermatol Ther*, 2019, **32**(6): e13109-e13110.

[5] BENAIM D, TÉTART F, BAUVIN O, *et al*. Tacrolimus

ointment in the management of atopic keratoconjunctivitis [J]. *J Fr Ophtalmol*, 2019, **42**(4): e147-e151.

[6] 王　鑫, 黎　绫, 田　娟, 等. 他克莫司软膏的体外经皮渗透性考察 [J]. 中国医药工业杂志, 2015, **46**(4): 354-358.

[7] 凌　霞, 叶晓霞, 张　弢, 等. 苦参软膏体外释放评价方法的研究 [J]. 药物分析杂志, 2023, **43**(8): 1408-1417.

[8] FDA. Nonsterile semisolid dosage forms scale-up and post-approval changes: chemistry, manufacturing and controls; *in vitro* release testing and *in vivo* bioequivalence documentation [EB/OL]. (1997-05-02) [2023-06-01]. https: //www. fda. gov/media/71141/download.

[9] FDA. *In vitro* permeation test studies for topical drug products submitted in andas guidance for industry [EB/OL]. (2022-10-27) [2023-06-01]. https://www. fda. gov/media/162475/download.

[10] LIU X, YOUSEF S, ANISSIMOV Y G, *et al*. Diffusion modelling of percutaneous absorption kinetics. Predicting urinary excretion from in vitro skin permeation tests (IVPT) for an infinite dose [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2020, **149**: 30-44.

（上接第 189 页）

hydrogenation catalysts with deprotonated picolinamide ligands [J]. *ACS Catal*, 2017, **7**(10): 6426-6429.

[16] BEPPU T, SAKAMOTO K, NAKAJIMA Y, *et al*. Hydrosilane synthesis via catalytic hydrogenolysis of halosilanes using a metal-ligand bifunctional iridium catalyst [J]. *J Org Chem*, 2018, 869: 75-80.

[17] MENENDEZ RODRIGUEZ G, DOMESTICI C, BUCCI A, *et al*. Hydrogen liberation from formic acid mediated by efficient iridium (Ⅲ) catalysts bearing pyridine-carboxamide ligands [J]. *Eur J Org Chem*, 2018, **2018**(20/21): 2247-2250.

[18] MENENDEZ RODRIGUEZ G, ZACCARIA F, TENSI L, *et al*. Understanding the deactivation pathways of iridium (Ⅲ) pyridine-carboxiamide catalysts for formic acid dehydrogenation [J]. *Chemistry*, 2021, **27**(6): 2050-2064.

[19] TANAKA K, MIKI T, MURATA K, *et al*. Reductive amination of ketonic compounds catalyzed by Cp*Ir (Ⅲ) complexes bearing a picolinamidato ligand [J]. *J Org Chem*, 2019, **84**(17): 10962-10977.