

Anal. Real Acad. Farm. 200, 66:

---

## **Carboxilatos hidroxilados de rodio II (gluconato, lactobionato e lactato). Síntesis, caracterización y ensayos de citotoxicidad *in vitro***

E. S. GIL<sup>1</sup>, E. I. FERREIRA<sup>1</sup>, A. C. VALDERRAMA<sup>2</sup>, S. B. ZYNGIER<sup>3</sup>  
Y R. NAJJAR<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Universidad de Sao Paulo (USP),  
SP - Brasil.*

<sup>2</sup>*Instituto de Química (USP), SP - Brasil.*

<sup>3</sup>*Intituto de Ciências Biomédicas (USP), SP - Brasil.*

### RESUMEN

Son descritos la síntesis, la caracterización y los ensayos biológicos de dos nuevos Carboxilatos de Rodio derivados de carbohidratos: gluconato y lactobionato de rodio (II). Estos compuestos mostraron una buena solubilidad en agua y baja toxicidad *in vivo* en ratones (hembras) a dosis mayores de 200 mg/kg. La actividad citostática fue evaluada en células K-562 y comparada con otro carboxilato hidroxilado, como el lactato de rodio, Rh<sub>2</sub>(Lac)<sub>4</sub>, el cual fue recientemente descrito y sintetizado por una ruta alternativa. La actividad antitumoral de los derivados de carbohidratos fue baja, sin embargo por la baja toxicidad los carboxilatos son prometedores como portadores de fármacos antineoplásicos que pueden formar aductos en posición axial.

**Palabras claves:** Rodio.- Carboxilatos.- Carbohidratos.- Anticancerígenos.

## SUMMARY

**Rhodium (II) hydroxyl carboxylates (rhodium gluconate, lactobionate and lactate).  
Synthesis, characterization and *in vitro* cytostatic assays**

The synthesis, characterization and biological assays of two new rhodium carboxylates carbohydrate derivatives, rhodium gluconate  $Rh_2(Gli)_4$  and lactobionate  $Rh_2(Lab)_4$  are herein described. These compounds showed good water solubility and low toxicity for female mice in doses higher than 200 mg/kg. The cytostatic activity was carried out *in vitro* against K-562 cells and compared with other hydroxyl carboxylate, the rhodium lactate  $Rh_2(Lac)_4$ , which was recently described and synthesized in our laboratory by an alternative route. The derivatives showed low *in vitro* activity but due to the low toxicity they can be considered as promising carboxylate carriers of antineoplastic drugs that can form adducts in the axial positions.

**Key words:** Rhodium.-Carboxylates.-Carbohydrates.-Antineoplastic agents

## INTRODUCCIÓN

Desde que Rosenberg y col. [1-3] introdujeron a la cisplatina en la terapia de enfermedades tumorales, muchos investigadores se interesaron por esta área y un gran número de artículos han sido publicados sobre complejos metálicos del grupo del platino [4-6]. En 1972, Bear y col. reportaron que los carboxilatos de rodio (II) presentaban actividad antitumoral [7-9], sin embargo después de un comienzo promisorio, disminuyó el interés de estos compuestos como agentes antitumorales debido a su considerable toxicidad y poca solubilidad en agua [10,11]. Recientemente han sido publicados varios artículos donde se buscan nuevos complejos de ródio que presenten bajos efectos tóxicos y buena hidrosolubilidad [12-20]. Estos compuestos presentan una estructura dimérica, con dos iones de Rh(II) unidos por puentes de carboxilatos en las posiciones ecuatoriales e en cuyas posiciones axiales L, los átomos donadores como nitrógeno, oxígeno y azufre, pueden formar aductos.

Una buena estrategia para lograr complejos metálicos quimioterápicos sería la síntesis de aductos a partir de moléculas con actividad biológica ligadas a través de las posiciones axiales L [18].

Con el propósito de investigar compuestos con solubilidad apropiada para actividad biológica, han sido sintetizados derivados de rodio (II) con carbohidratos y sus aductos con ciclofosfamida, los cuales mostraron una buena actividad citostática en células K-562 [19].

En este artículo describimos la síntesis y caracterización de dos nuevos derivados de rodio (II) solubles en agua, el gluconato de rodio,  $\text{Rh}_2(\text{Gli})_4$ , y el lactobionato de rodio. El lactato de rodio,  $\text{Rh}_2(\text{Lac})_4$ , sintetizado en nuestro laboratorio por un método alternativo aquel descrito en la literatura[10], fue utilizado como patrón de comparación de los nuevos derivados de rodio (Fig. 1). Este compuesto fue seleccionado por su alta solubilidad en agua y pocos efectos estéricos, cuando comparado a los derivados de carbohidratos.

## PARTE EXPERIMENTAL

### A) Materiales y Métodos

Cloruro de rodio (III) trihidratado, de Sigma Chemical Co., D-gluconato de calcio y metanol de Aldrich Chemical Co., lactobianato y lactato de calcio de Fluka Chemie AG, etanol 95% de Merck S.A. Ind. Químicas, y las resinas, Sephadex G-25 fina, G-10 media y C-25 CM de Sigma Chemical Co.

### B) Análisis

El análisis elemental se realizó en un analizador de C, H, N Perkin-Elmer modelo 240B. Los espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  y RMN  $^1\text{H}$  fueron obtenidos en un espectrómetro de RMN Bruker de 300 MHz, utilizándose tubos de resonancia de 5 mm de diámetro y  $\text{D}_2\text{O}$  como solvente, con capilar de TMS como referencia.

El análisis de IR se realizó utilizando pastillas de KBr, en espectrofotómetro FTIR Perkin-Elmer. Los espectros UV/visible fueron registrados a partir de solución acuosa en un espectrofotómetro Hitachi U-3000. Los análisis térmicos se realizaron por un sistema termobalanza/analizador, Shimadzu TGA-50 y los ensayos biológicos fueron realizados en el Depar-

tamento de Farmacología del Instituto de Ciencias Biomédicas, USP, con la colaboración del Prof. Dr. Szulim B. Zyngier.

**C) Síntesis del Tetrakis-Gluconato de dirodio (II),  $\text{Rh}_2[(\text{C}_5\text{O}_5\text{H}_{11})\text{COO}]_4 \text{Rh}_2(\text{Gli})_4$**

Dos mmol de  $\text{RhCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  en solución etanólica (50 mL) fueron mezcladas con 2,2 mmoles de gluconato de calcio en solución acuosa (50 mL), seguido de un reflujo en atmósfera de  $\text{N}_2$  durante 11 horas y a temperatura no mayor de  $75^\circ\text{C}$ , obteniéndose un rendimiento de 22%.

**D) Síntesis del Tetrakis Lactobionato de dirodio (II),  $\text{Rh}_2[\text{C}_{11}\text{O}_{10}\text{H}_{21}]_4 \text{Rh}_2(\text{Lab})_4$**

Um mmol de  $\text{RhCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  en solución etanólica (40 mL) fue mezclada con 1,3 mmol de lactobionato de calcio en solución acuosa (60 mL), seguido de un reflujo en atmósfera de  $\text{N}_2$  durante 6 horas y a temperatura no mayor de  $75^\circ\text{C}$ . Se precipitó el producto (flóculos) con un exceso de etanol, se redisolvió con agua e se realizó una cromatografía en columna de Sephadex C-25 obteniéndose un rendimiento de 5%.

**E) Síntesis del Tetrakis Lactato de dirodio (II),  $\text{Rh}_2[\text{CH}_3(\text{OH})\text{HCCOO}]_4 \text{Rh}_2(\text{Lac})_4$**

Um mmol de  $\text{RhCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  en solución etanólica (40 mL) fue mezclada con aproximadamente 1,05 mmol de lactato de calcio en solución metanólica (30 mL), seguido de un reflujo en atmósfera de  $\text{N}_2$  durante 2 horas y a temperatura no mayor de  $75^\circ\text{C}$ . La mezcla fue filtrada en sulfato de sodio anhidro y el residuo se redujo a aproximadamente 5% del volumen inicial con un calentamiento suave. El compuesto fue purificado por cromatografía en columna de Sephadex C-25, usando agua como fase móvil. Se separaron dos fases, una amarilla y otra azul, esta última de mayor tiempo de retención y correspondiente al producto puro. Se prosiguió con la liofilización del producto. La evaporación en estufa al vacío puede usarse como alternativa en este caso.

**F) Evaluación de la actividad citostática *in vitro***

Las células de leucemia humana K562 fueron cultivadas en medio de cultivo RPMI con 10% de suero fetal. Para testar la efectividad de los compuestos,  $10^5$  células fueron cultivadas en placas con 24 pozos que contenían 1 mL del mismo medio.

Las muestras fueron adicionadas a los pozos de forma tal que se obtuvieran concentraciones finales de 132  $\mu\text{g/L}$  y 266  $\mu\text{g/L}$ . Una solución de bicarbonato de sodio fue usada como control. Se incubaron por 24 horas a 37 °C en incubadora húmeda con 5% de  $\text{CO}_2$ . Posteriormente, los contenidos de los pozos fueron colectados, centrifugados y coloreados con azul de Tripán. Finalmente se homogeniza el sistema y se realiza el conteo de células en microscopio. Los resultados obtenidos fueron sometidos a un test estadístico de  $\chi^2$ . Cuando  $p \leq 0,05$  las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas.

### **G) Evaluación de la toxicidad aguda preliminar *in vivo***

Cuatro grupos de animales, de 10 ratones cada uno fueron utilizados. Dos grupos fueron tratados con dosis de 100 y 200 mg/kg de gluconato de rodio, y otros dos grupos de ratones fueron tratados en las mismas condiciones con lactato de rodio.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **A) ANÁLISIS ELEMENTAL**

Los resultados del análisis elemental de los tres carboxilatos de rodio (tabla 1),  $\text{Rh}_2(\text{Gli})_4$ ,  $\text{Rh}_2(\text{Lab})_4$  e  $\text{Rh}_2(\text{Lac})_4$ , presentaron valores compatibles con el grado de hidratación propuestos, los cuales fueron confirmados por TGA, y son proporcionales al número de grupos hidroxilas disponibles para formar puentes de hidrógeno con las moléculas de agua [19]. La pequeña fracción de nitrógeno corresponde a la contaminación por amoníaco utilizado para renovar la resina Sephadex, resaltando la fuerza del enlace axial entre el lactato de rodio e estos residuos. Su remoción no fue posible a pesar de secar en estufa a 150 °C durante 12 horas, sin embargo, para los demás compuestos fue removido por una simple liofilización.

TABLA 1  
Resultados de microanálisis

Compuestos	% Carbono		% Hidrógeno		% Nitrógeno	
	calc.	Exp-	calc.	exptal.	calc.	exptal.
Rh <sub>2</sub> (Gli) <sub>4</sub> 4 H <sub>2</sub> O	27,22	27,41	4,95	4,93	-	-
Rh <sub>2</sub> (Lab) <sub>4</sub> 13 H <sub>2</sub> O	30,83	30,83	5,93	5,53	-	-
Rh <sub>2</sub> (Lac) <sub>4</sub> 2 H <sub>2</sub> O	24,10	23,91	4,04	3,66	-	0,43

### B) ANÁLISIS UV-VISIBLE

Las cuatro bandas características de los carboxilatos de rodio fueron observadas para los 3 compuestos sintetizados, confirmando la estructura propuesta en la Fig.1. La tabla 2 relaciona estas bandas y sus respectivas transiciones [20-24].

RCOO = ligantes ecuatoriales

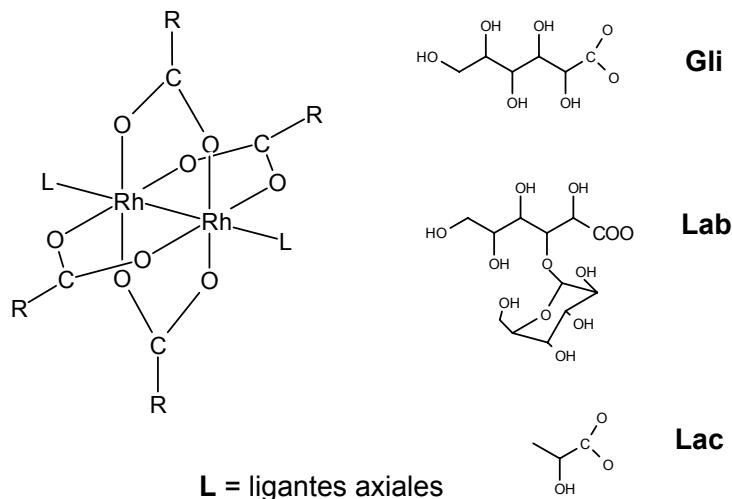


Fig. 1 - Estructura de los carboxilatos de rodio.

TABLA 2

*Análisis por espectrofotometría UV-visible*

BANDA 1 (MAS INTENSA)	~ <b>590 nm</b>	TRANSICIÓN $\pi^*$ Rh-Rh $\rightarrow$ $\sigma^*$ Rh-Rh
BANDA 2	~ <b>460 nm</b>	TRANSICIÓN $\pi^*$ Rh-Rh $\rightarrow$ $\sigma^*$ Rh-O
BANDA 3 (HOMBRO)	~ <b>240 nm</b>	TRANSICIÓN $\sigma$ Rh-Rh $\rightarrow$ $\sigma^*$ Rh-Rh
BANDA 4	~ <b>200 nm</b>	TRANSICIÓN $\sigma$ Rh-O $\rightarrow$ $\sigma^*$ Rh-Rh

**C) ANÁLISIS INFRARROJO**

Algunas bandas importantes observadas en el infrarrojo para nuestros compuestos:  $\text{Rh}_2(\text{Gli})_4$ ,  $\text{Rh}_2(\text{Lab})_4$  e  $\text{Rh}_2(\text{Lac})_4$  aparecen reportadas en la tabla 3. Las diferencias entre las vibraciones de estiramiento asimétrico e simétrico en estos compuestos indican que la interacción rodio-carboxilato es bastante fuerte y según Deacon y col. [25], si las diferencias fueran menores que  $200 \text{ cm}^{-1}$ , los ligandos deben funcionar como bidentados (Tabla 3).

En relación a las bandas de estiramiento OH, se observó un desplazamiento en las frecuencias de mayor energía en comparación con sus análogos iónicos. Estas bandas son fuertemente influenciadas por la carga y el grado de covalencia del enlace M-L, de forma tal que los valores observados fueron más parecidos a los valores de los derivados ácidos de los ligandos utilizados que a los valores de los derivados iónicos de sodio o de calcio ( $\sim 3600 \text{ cm}^{-1}$ ) [26,27]. Este hecho caracteriza el carácter covalente del enlace Rh-O, mostrando que las interacciones intermoleculares de los grupos OH de estos complejos no se diferencian mucho de aquellas del ácido libre ( $\sim 3400 \text{ cm}^{-1}$ ) [26].

TABLA 3  
*Bandas importantes para carboxilatos hidroxilados de rodio*  
*(cm<sup>-1</sup>)*

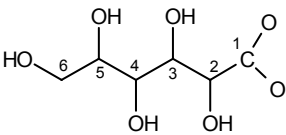
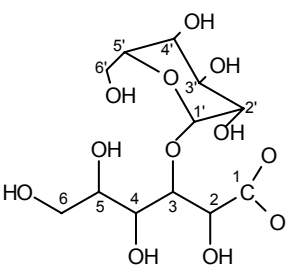
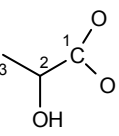
<b>Rh<sub>2</sub>(Lac)<sub>4</sub></b>	<b>Rh<sub>2</sub>(Gli)<sub>4</sub></b>	<b>Rh<sub>2</sub>(Lab)<sub>4</sub></b>	<b>ATRIBUCIONES</b>
3420	3397	3397	v O-H
1602	1600	1602	v OCO <sup>-</sup> ass
1421	1418	1415	v OCO <sup>-</sup> sim
<b>181</b>	<b>182</b>	<b>187</b>	<b>Δ (v ass-v sim)</b>

#### D) ESPECTROMETRÍA DE RMN

Fueron observados algunos desdoblamientos en los espectros de RMN <sup>1</sup>H de los complejos comparados con sus respectivos ligantes libres [16], lo cual es debido a las diferentes conformaciones de los ligantes [26-31]. Los desplazamientos químicos obtenidos para los complejos con ligantes derivados de carbohidratos (Tabla 4) presentan baja resolución debido a la similitud de las vecindades químicas tanto para los protones como para los carbonos, de modo que muchas señales se encuentran sobrepuestas. Una observación importante es que el carbono carboxílico presenta un desplazamiento hacia campo bajo debido al efecto atrayente de los oxígenos enlazados en el, en comparación con sus respectivos análogos iónicos, donde la resonancia de la carga negativa de compuestos iónicos produce un efecto de protección [19, 27-31].



**TABLA 4**  
*Desplazamientos de  $^{13}\text{C}$  y  $^1\text{H}$  RMN observados para carboxilatos hidroxilados de rodio*

<b>Rh<sub>2</sub>(Gli)<sub>4</sub></b>	
RMN $^1\text{H}$ (D <sub>2</sub> O, $\delta$ )	7,24 (OH), 4,00 (H2), 3,87 (H3), 3,63-3,53 (H6,H5), 3,46-3,23 (H4, H6)
RMN $^{13}\text{C}$ (D <sub>2</sub> O, $\delta$ )	191,92 (C1), 72,88 (C2), 72,04 (C3), 70,64-70,47 (C4,C5), 62,27-62,00 (C6)
<b>Rh<sub>2</sub>(Lab)<sub>4</sub></b>	
RMN $^1\text{H}$ (D <sub>2</sub> O, $\delta$ )	4,27 (H1), 4,16(H2), 3,77-3,71(H6, H5, H4, H3, H5'), 3,61-3,25(H2', H3', H4', H5', H6), 2,02-2,01 (d, H6')
RMN $^{13}\text{C}$ (D <sub>2</sub> O, $\delta$ )	191,65 (C1), 103,23(C1'), 80,49(C4), 74,88(C2'), 72,29-71,17(C3,C2), 70,75-70,58(C5', C4'), 68,26 (C5), 61,65 (C6'), 60,59 (C6)
<b>Rh<sub>2</sub>(Lac)<sub>4</sub></b>	
RMN $^1\text{H}$ (D <sub>2</sub> O, $\delta$ )	3,97-3,94 (m, H2), 0,96 (d, H3)
RMN $^{13}\text{C}$ (D <sub>2</sub> O, $\delta$ )	195,35 (C1), 67,19 (C2), 19,79 (C3)

**E) ENSAYOS DE CITOTOXICIDAD *in vitro***

Los resultados, medias de tres ensayos, son presentados en la Tabla 5. El test estadístico X<sup>2</sup> ha demostrado que tanto para Rh<sub>2</sub>(Gli)<sub>4</sub> quanto para Rh<sub>2</sub>(Lac)<sub>4</sub> la citotoxicidad fue estadísticamente significativa con relación al grupo control. Las bajas actividades de los compuestos derivados de carbohidratos pueden ser debidas a dos factores: baja lipofilicidad (necesaria para atravesar la membrana lipoproteica), y el efecto estérico, sobretudo para el lactobionato que se ve limitado por su gran volumen desde el punto de vista estérico [30-33]. Por otra parte, la buena actividad del lactato confirma los datos descritos previamente en la literatura [14], y al parecer este compuesto reúne adecuadamente los tres parámetros: estéricos, electrónicos y de solubilidad, o sea presenta volumen molecular pequeño, buena hidrosolubilidad y algo de lipofilicidad. Además la fuerza del enlace axial con el amoníaco relacionada anteriormente podría ser correlacionada a su carácter electro-atrayente.

TABLA 5  
*Cuadro de citotoxicidad dos compuestos in vitro*

Compuestos	Células muertas <sup>a</sup> (x10 <sup>4</sup> )		Células vivas <sup>a</sup> (x10 <sup>4</sup> )		Células totales <sup>a</sup> (x10 <sup>4</sup> )		Células muertas (%)	
	dose 132	dose 266	dose 132	dose 266	dose 132	dose 266	dose 132	dose 266
<b>Rh<sub>2</sub>(Lab)<sub>4</sub></b>	1	1	19	15	20	16	5	6
<b>Rh<sub>2</sub>(Gli)<sub>4</sub></b>	1	1	6	5	7	6	14*	17*
<b>Rh<sub>2</sub>(Lac)<sub>4</sub></b>	5	8	5	0	10	8	50*	100*
<b>Control</b>	1		39		40		5	

<sup>a</sup> media de 3 ensayos; p<0,05 en comparación con el control

## F) ENSAYOS PRELIMINARES DE TOXICIDAD *in vivo*

Para los compuestos derivados de carbohidratos no se observó muerte, ni ninguna evidencia de toxicidad aguda en un periodo de 60 días. En el mismo periodo de observación, el lactato produjo la muerte de 5 ratones cuando fue administrado en la mayor concentración y de 3 en la menor concentración. Cabe resaltar que el DL<sub>50</sub> no fue preciso determinarla para el caso de los compuestos derivados de carbohidrato debido a que no se produjeron muertes a pesar de que se utilizaron concentraciones bastante elevadas [19].

Los resultados para el lactato ya fueron descritos en la literatura [14] y en nuestro caso estas experiencias se hicieron para efectos de comparación. Por otro lado, a pesar de la baja actividad antitumoral (presentada en los resultados de citotoxicidad, Tabla 5) de los compuestos derivados de carbohidratos, estos pueden ser usados como transportadores de fármacos, sobretodo de los anticancerígenos de baja solubilidad [18,19].

## AGRADECIMIENTOS

A Maité Iyarreta Veitía, nuestros agradecimientos por la revision del español

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) ROSENBERG, B. (1985) *Cancer* 55: 2303.
- (2) ROSENBERG, B., VAN CAMP, L., TROSKO, J.E., MANSOUR, V.H. (1969) *Nature* 222: 385-386.
- (3) ROSENBERG, B, VAN CAMP, L., KRIGAS, T. (1965) *Nature* 205:698-699.
- (4) CRACIUNESCU, D.G., DOADRIO L.A., DOWERAH, D., GOSWAMI, A.C., SINGH, M.M., GHIRVU, C. (1985) *An. R. Acad. Farm.* 51: 653-658.
- (5) CRACIUNESCU, D.G., GHIRVU, C., DOADRIO, A. (1983) *An. R. Acad. Farm.* 49: 515-530.
- (6) CRACIUNESCU, D.G. (1972) *Ion* 32, 367: 78-89.

- (7) BEAR, J.L. (1975) *Cancer Chemother. Rep.* 59 (1): 611.
- (8) BEAR, J.L. (1985) Precious Met. Proc. Met. Inst. conf. 9<sup>th</sup>, New York.
- (9) BEAR, J.L., HOWARD, R.A., KORN, J.E. (1979) *Inorg. Chim. Acta* 32: 123-126.
- (10) NAJJAR, R. (1992) *Quím. Nova* 15 (4): 323-327.
- (11) GIL, E.S., NAJJAR, R.; KUBOTA, L.T. (1998) *Quím. Nova* 21: 755.
- (12) NOTHENBERG, M.S., ZYNGIER, S., GIESBRECHT, A.M., GAMBARDILLA, M.T.P., SANTOS, R.H.A., KIMURA, E., NAJJAR, R. (1994) *J. Braz. Chem. Soc.* 5 (1): 23-29.
- (13) NOTHENBERG, M.S., TAKEDA, G.K.F., NAJJAR, R. (1991) *J. Inorg. Biochem.* 42: 217-229.
- (14) PRUCHNIK, F.P., DANUTA, D. (1996) *J. Inorg. Biochem.* 61: 55-61.
- (15) ESPOSITO, B.P., ZYNGIER, S.B., NAJJAR, R., PAES, R.P., UEDA, S.M.Y., BARROS, J.C. (1999) *Metal Based Drugs* 6 (1): 17-18.
- (16) ESPOSITO, B.P.; ZYNGIER, S.B.; SOUZA, A.P.; NAJJAR, R.. (1998) *Metal Based Drugs* 4 (6): 333-338.
- (17) SOUZA, A.P., NAJJAR, R., GLILKMANAS, S., ZYNGIER, S.B. (1996) *J. Inorg. Biochem.* 64:1-5.
- (18) JOESTEN, M.D., NAJJAR, R., HEBRANK, G. (1982) *Polyhedron* 1, (7-8): 637-639.
- (19) GIL, E.S., GONÇALVES, M.I.A., FERREIRA, E.I., ZYNGIER, S. B., NAJJAR, R. (1999) *Metal Based Drugs* 6: 19-24.
- (20) FARRELL N., HACKER, M. (1989) *Inorg. Chim. Acta* 166: 35-37.
- (21) PRUCHNIK, F.P. (1989) *Pure Appl. Chem.* 61 (5): 795-804.
- (22) DRAGO, R.S., LONG, J.R., COSMANO, R. (1981) *Inorg. Chem.* 20: 2920-2927.
- (23) HOUSECROFT, C. E. (1996) *Coord. Chem. Rev.* 115: 191-230.
- (24) STRANGER, R. (1996) *Inorg. Chem.* 35 (8): 2268.
- (25) DEACON, G.B., HUBER, F., PHILIPS, R.J. (1985) *J. Inorg. Chim. Acta* 104: 41-45.
- (26) TAJMIR-RIAHI, H.A. (1983) *Carboh. Res.* 122: 241-248.
- (27) TAJMIR-RIAHI, H.A. (1984) *Carboh. Res.* 125: 13-20.
- (28) HORTON, D., WALASZEK, Z., EKIEL, I. (1983) *Carbohydr. Res.* 119: 263-268.
- (29) COFFIN, D.B.; CARPER, W.R. (1988) *Magn. Reson. Chem.* 26: 591-594.
- (30) HORTON, D.; WALASZEK, Z.; EKIEL, I. (1983) *Carbohydr. Res.* 119: 263-268.
- (31) HOWARD, R.A., KIMBALL, A.P., BEAR, J.L. (1979) *Cancer Res.* 39: 2568-2573.

- (32) TSELEPI-KALOULI, E., KATSAROS, N. (1990) *J. Inorg. Biochem.* 40 (2): 95-102.
- (33) WAYSBORT, D., TARIEN, E., EICHHORN, G.L. (1993) *Inorg. Chem.* 32: 4774-4779.