

STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

Syntéza esterů porphyrinu se žlučovými kyselinami
Synthesis of porphyrin esters with bile acids

Autoři:
Kryštof Škach

Škola:
Masarykova střední škola chemická
Praha

Studijní obor:
Organická chemie
Konzultant:
prof. RNDr. Pavel Drašar, DSc.
Mgr. Lenka Cardová

Praha 2011

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou práci vypracoval samostatně a použil jsem pouze podklady (literaturu, SW atd.) uvedené v příloženém seznamu.

Nemám závažný důvod proti zpřístupnění této práce v souladu se zákonem č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) v platném znění.

V dne podpis:

Rád bych poděkoval panu profesorovi RNDr. Pavlu Drašarovi DSc. za to, že mi umožnil práci ve své laboratoři a Mgr. Lence Cardové za její trpělivost a péči, se kterou na mě dohlížela.

ANOTACE

Tato práce popisuje syntézu esterů porfyriu se žlučovými kyselinami. Prezentované molekuly byly připraveny použitím dvou stavebních bloků. Prvním z nich je žlučová kyselina, která slouží nejen jako chirální šablona v asymetrické syntéze, ale poslední dobou steroidní složky získávají na významu i v oblasti farmacie, supramolekulární chemie či nanotechnologií^[1].

Druhá část - aromatická složka - propůjčuje molekule nejen fluorescenční aktivitu, ale zároveň se očekává i aktivita biologická. Porfyriny jsou totiž již nějakou dobu studovány mimo jiné pro využití ve fotodynamické terapii^[2], či molekulárním rozpoznávání^[3].

V této práci se popisují přípravu těchto sloučenin s použitím žlučových kyselin, *meso*-(tetrahydroxyfenyl)porfyriu, mědi, niklu, gadolinia, či zinku.

Klíčová slova: porfyrin, žlučové kyseliny, syntéza, metaloporfyrin

OBSAH

1.	Úvod.....	6
2.	Teoretická část.....	7
2.1	Porfyriny	7
2.2	Využití porfyrinů	7
2.3	Žlučové kyseliny.....	8
2.4	Využití žlučových kyselin.....	8
3.	Experimentální část.....	10
3.1	Metody a materiál.....	10
4.	Diskuze a výsledky.....	17
5.	Závěr	20
6.	Zkratky	20
7.	Použitá literatura.....	21

1. Úvod

Léčba rakoviny je v současné době velice populární téma. Je to především proto, že neexistuje žádný stoprocentně účinný typ léčby. S rozvojem medicíny bylo objeveno několik způsobů, jak tuto nemoc zastavit, avšak o žádném z nich nelze říci, že je naprosto jistý.

Nejen práce Sadlerové^[4] se věnuje hypotéze, že některé porfyriny mají schopnost se v nádoru chovat odlišně v porovnání se zdravou tkání. Tyto porfyriny, pokud jsou aktivovány viditelným světlem, mohou působit jako fotosyntetizéry, čímž způsobí tvorbu kyslíkových radikálů, které zabíjí buňku rakoviny.

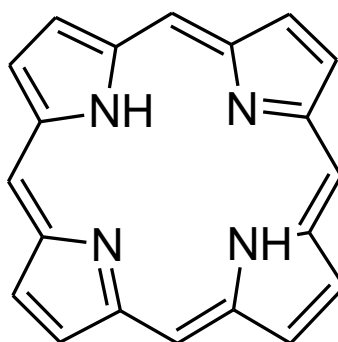
Má práce se věnuje syntéze látek podobných výše zmíněným, s tím rozdílem, že místo estrogenu byly na porfyrin vázány žlučové kyseliny – kyselina cholová a lithocholová. Poté byl připravený porfyrin metalován niklem, gadoliniem, zinkem či mědí.

2. Teoretická část

2.1 Porfyriny

V přírodě se vyskytující porfyriny jsou syntetizovány živými organismy. Mezi nejznámější přírodní struktury s využitím struktury porfyriu jsou vitamín B12, chlorofyl, uroporphyriny, koproporphyriny a hem.

Dále existuje další skupina porfyriu, které se nevyskytují v přírodě, ani v lidském těle. Jejich syntéza v laboratoři je jediný způsob, jak je získat. V dnešní době velká část známých porfyriu přišla na svět právě touto cestou. Jejich struktury jsou odvozeny od nejjednoduššího porfyriu – porfinu^[5] **Obrázek 1.**



Obrázek 1 – porfin

2.2 Využití porfyriu

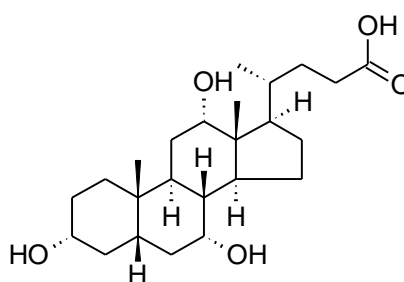
Jeden z příkladů využití porfyriu je fotodynamická terapie (PDT), která se klinicky využívá k léčbě celé řady onemocnění, včetně zhoubných nádorů^[6], a je považována za způsob léčby, který je minimálně invazivní a málo toxický. Zatímco použitelnost a potenciál PDT je znám již více než sto let^[7], vývoj moderních procesů byl postupný. Zahrnuje vědecký pokrok v oblasti fotobiologie a biologie rakoviny, stejně jako rozvoj moderních fotonických zařízení, jako jsou lasery a LED diody^[8].

Zatímco termín PDT je relativně nový, tento způsob léčby nemocí můžeme vystopovat daleko do minulosti. Staří Egypťané úspěšně využívali kombinaci

orálního podání rostlin obsahující psoraleny a slunečního světla k léčení kožních nemocí, jako je například vitiligo, už před čtyřmi tisíci lety^[9].

2.3 Žlučové kyseliny

Žlučivé kyseliny vykonávají důležité fyziologické funkce: slouží k odstraňování nadbytečného cholesterolu z lidského těla, spolu s fosfolipidy rozpouštějí cholesterol ve žluči a předcházejí srážení cholesterolu ve žlučníku, v tenkém střevě působí jako emulgátory usnadňující trávení a absorpci tuků a lipofilních vitamínů^[10]. To je zaručeno amfofilním charakterem žlučových kyselin, přesněji konvexní hydrofobní a konkávní hydrofilní části v kombinaci se záporně nabitým postranním řetězcem^[1].



Strukturní vzorec kyseliny cholové

Řazení steroidů mezi přírodní látky je věcí historickou, protože dnes už je přírodních steroidů izolovaných z přírody méně než steroidů připravených v laboratořích parciální či totální syntézou^[12].

2.4 Využití žlučových kyselin

Látky vycházející ze struktury žlučových kyselin mají uplatnění zejména ve farmakologii, supramolekulární chemii, či v nanovědách^[11]. Příkladem jsou sloučeniny, které jsou schopny samoskladby nebo vážou jiné molekuly. V literatuře jsou popsány rozsáhlé možnosti využití derivátů žlučových kyselin jako preparátů k léčbě jaterních onemocnění, k rozpouštění žlučových kamenů^[13].

Žlučové kyseliny jsou farmakologicky zajímavé jako potenciální nosiče specifických léků pro játra, pro absorpci stimulantů a nově i jako látky snižující hladinu cholesterolu^[14].

Jsou známy nadějně studie antivirových vlastností žlučových kyselin a jejich sulfátových esterů^[15], antimykotické vlastnosti některých žlučových kyselin^[16], stejně jako jejich schopnost působit jako dopravci pro játra specifických léků, absorpce stimulantů, a jako látky snižující hladinu cholesterolu^[14]. Byl zmíněn potenciál léčivých aplikací žlučových kyselin, jejich konjugátů a komplexů jako bezopiátová analgetika^[17], senzibilátory Gram-negativních bakterií na antibiotika^[18-19] a radiofarmaka^[20].

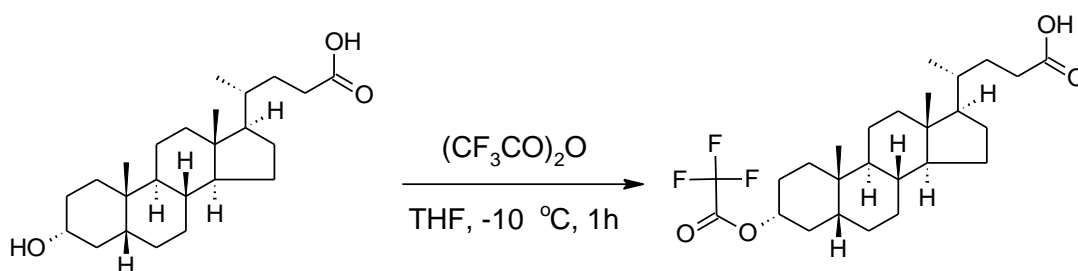
3. Experimentální část

3.1 Metody a materiál

Pro TLC byly používány hliníkové destičky potažené silikagelem pojeným škrobem pro detekci na UV světle (Merck UV 254). Vizualizace destiček byla provedena postřikem 10-ti %-ní kyselinou sírovou v metanolu a následným zahřátím. Hodnoty pH byly kontrolovány pomocí pH papírků (Lachema Brno, Merck). Roztoky byly koncentrovány na rotační vakuové odparce s vodní lázní za sníženého tlaku. Pro sloupcovou chromatografii byl používán silikagel (100-160 μm , Fluka). NMR spektra byla měřena na přístroji Varian Gemini (H-spektra 300 MHz, C spektra 75 MHz) v CDCl_3 , případně přikápnuto minimální množství CD_3OD . Infračervená spektra byla měřena na přístroji Nicolet ATR technikou, UV-Vis spektra byla pořízena na přístroji Varian Cary 50 UV-Vis spectrophotometer a k HPLC/MS analýzám byl používán kapalinový chromatograf HP 1100 s hmotnostním detektorem Agilent LC/MSD SL, s technikou ESI v pozitivním módu. Experimentální spektra byla vyhodnocována a porovnávána se spektry vypočtenými v programu SpecManager firmy ACD Labs.

Výchozí látky a používaná činidla jsou dobře dostupná. Všechna použitá rozpouštědla byla sušena a destilována. Názvy pro označení připravených látek byly z důvodů jednoznačnosti generovány programem ACD/Labs Name.

Příprava (3 α ,5 β)-3-[(trifluoroacetyl)oxy]cholan-24-oic acid (1)



Kyselina litocholová (1,00 g, 2,66 mmol) rozpuštěna suchém THF (25 mL) a celý roztok byl v ledové solné lázni ochlazen na $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Do roztoku byla pomalu přikapávána kyselina trifluoroctová (6mL, 42mmol) po dobu patnácti minut a za stálého udržování na $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ledová lázeň byla po 1h odstraněna a reakce byla míchána další hodinu. Poté byla nalita do kádinky s ledem a vytřepána do Et₂O. Organická vrstva byla promývána slabým roztokem NaHCO₃ (20mL) do neutrálního pH. Následně byla organická vrstva vysušena MgSO₄. Bylo získáno 0,78 g, 2,07 mmol (výtěžek 77,8 %) triflátu kyseliny litocholové. Analytická data se shodovala s literaturou. ^[11]

Příprava 4-[10, 15, 20-tris(4-hydroxyphenyl)porfyrin-5-yl]phenyl (3 α ,5 β)-3-hydroxycholan-24-oate

Látka **1** (23 mg, 48,7 μmol) byla rozpuštěna v toluenu (5 mL). Po rozpuštění přidán oxalyl chlorid (1 mL). Reakční směs ponechána 1 hodinu reagovat za laboratorní teploty. Reakční směs byla vysušena na vakuové odparce. K reakční směsi bylo naváženo porfyrin (33 mg, 48,62 μmol), přidán pyridin (0,3 mL) a 5 ml CHCl₃. Celá reakční směs byla na 24 hodin nechána reagovat. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (CH₂Cl₂-MeOH 10:1, R_f=0,75). Produkt byl vysušen na vakuové odparce a následně rozpuštěn v toluenu. Byl protřepán s nasyceným roztokem NaHCO₃ (3 \times 50 mL) a vodou až do mírně bazického pH, čímž byla ochráněna hydroxy- skupina na C3. Organický produkt byl vytřepán do směsi THF, Et₂O a vysušen na vakuové odparce. Produkt byl podroben sloupcové chromatografii na silikagelu (eluce CH₂Cl₂-MeOH 20:1). Bylo získáno 15 mg, 14,46 μmol (výtěžek 25,7 %) finálního produktu.

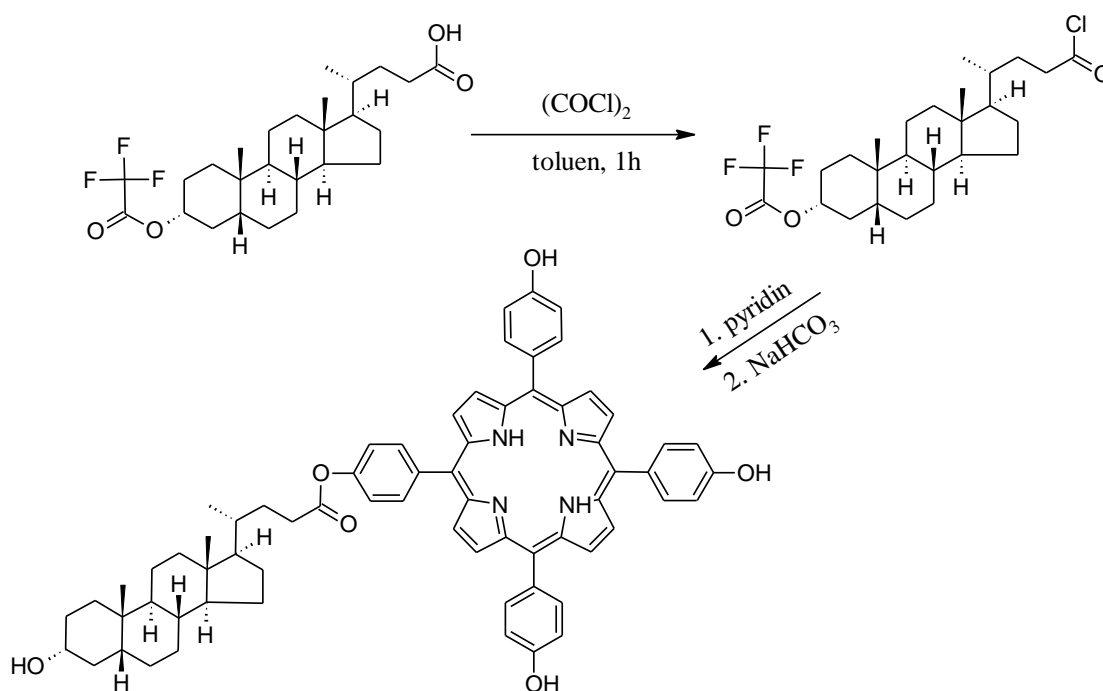
¹H NMR (CDCl₃-CD₃OD; 300 MHz): -2,90 (bs, 2H, pyrrole NH); 0,63 (s, 3H, 18-CH₃); 0,78 (s, 3H, 19-CH₃); 0,86 - 2,46 (m, steroidal skeleton); 3,25 - 3,37 (m, 1H, (3-H)); porfyrin skeleton 7,13 (m, 6H); 7,33 (m, 2H); 7,87 - 7,94 (m, 6H); 8,05 (m, 2H); 8,70 (m, 2H) 8,79 (m, 6H) 9,13 (br. s., 3H)

Syntéza esterů porfyriu se žlučovými kyselinami ŠKACH Kryštof

^{13}C NMR ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$; 75 MHz): 12,65 (18-C); 17,50 (21-C); 22,56 (19-C); 23,38 (15-C); 26,42 (7-C); 26,48 (9-C); 27,77 (16-C); 28,25 (11-C) 30,16 (23-C); 31,16 (24-C) 31,72 (2-C); 34,66 (C-10); 34,89 (6-C); 35,54 (20-C); 39,52 (4-C); 40,16 (12-C); 41,54 (8-C) 41,79 (14-C) 46,59 (13-C); 47,20 (17-C); 71,81 (3-C); porphyrin 113,93; 118,49; 119,89; 120,42; 120,66; 133,63; 133,69; 135,37; 135,95; 139,81; 150,60; 156,93; 173,42 (24-C)

IR (BaCl_2 , cm^{-1}): 3318,5 (-OH), 2929,5, 2863,5 ($\text{CH}_3\text{-CH}_2$), 1713,4 (C=O)

MS: Pro $\text{C}_{68}\text{H}_{68}\text{N}_4\text{O}_6$ monoisotopická hmotnost 1036,5; MS – ESI změřeno: 1037,6 (M+H).



Příprava 4-[10,15,20-tris(4-hydroxyphenyl)porfyrin-5-yl]phenyl (3a,5 β ,7a,12a)-3,7,12-trihydroxycholan-24-oate (2)

Bylo naváženo EDAC (20 mg, 0,104 mmol), HOBt (14 mg, 0,104 mmol) a lithocholová kyselina (21 mg, 55,76 μmol). Látky byly rozpuštěny v CH_2Cl_2 (2 mL)

Syntéza esterů porfyriu se žlučovými kyselinami
ŠKACH Kryštof

a ponechány reagovat 1h na magnetické míchačce. Do reakční směsi byl přisypán porfyrin (35 mg, 51,56 μmol). Celá reakční směs byla ponechána reagovat dalších 24 hodin. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC ($\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$ 10:1, $R_f=0,75$). Produkt byl vysušen na vakuové odparce následně rozpuštěn v roztoku $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$ (20:1). Produkt byl podroben sloupcové chromatografii (50 g silikagelu, roztok $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$ 20:1). Bylo získáno 18 mg, 16,83 μmol (výtěžek 32,6 %) finálního produktu, který byl použit v následujících reakcích.

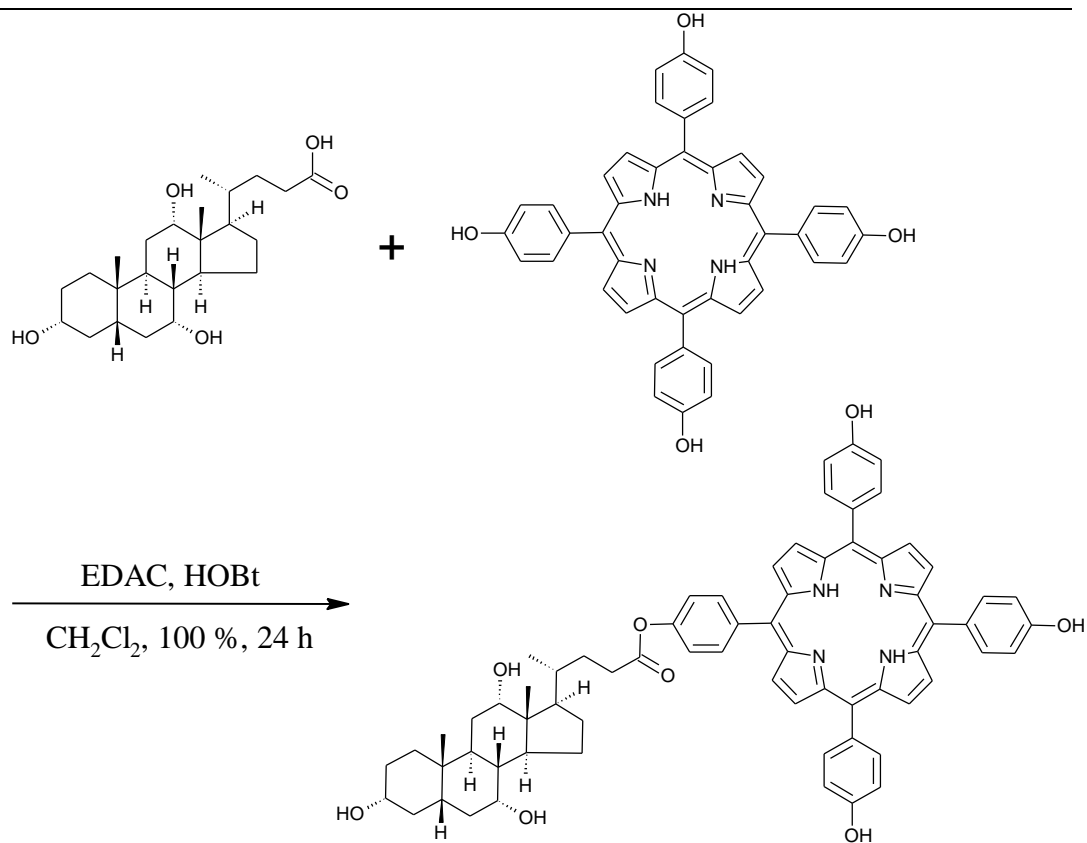
^1H NMR ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$; 300 MHz): -2,90 (bs, 2H, pyrrole NH); 0,63 (s, 3H, 18-CH₃); 0,78 (s, 3H, 19-CH₃); 0,86 - 2,46 (m, steroidal skeleton); 3,25 - 3,37 (m, 1H, (3-H)); 3,72 (m, 1H 7-H); 3,90 (m, 1H 12-H); porphyrin skeleton 7,13 (m, 6H); 7,33 (m, 2H); 7,87 - 7,94 (m, 6H); 8,05 (m, 2H); 8,70 (m, 2H) 8,79 (m, 6H) 9,13 (br. s., 3H)

^{13}C NMR ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$; 75 MHz): 12,65 (18-C); 17,50 (21-C); 22,56 (19-C); 23,38 (15-C); 26,48 (9-C); 27,77 (16-C); 28,25 (11-C) 30,16 (23-C); 31,16 (24-C) 31,72 (2-C); 34,66 (C-10); 34,89 (6-C); 35,54 (20-C); 39,52 (4-C); 41,54 (8-C) 41,79 (14-C) 46,59 (13-C); 47,20 (17-C); 68,55 (7-C); 71,81 (3-C); 73,24 (12-C); porphyrin 113,93; 118,49; 119,89; 120,42; 120,66; 133,63; 133,69; 135,37; 135,95; 139,81; 150,60; 156,93; 173,42 (24-C)

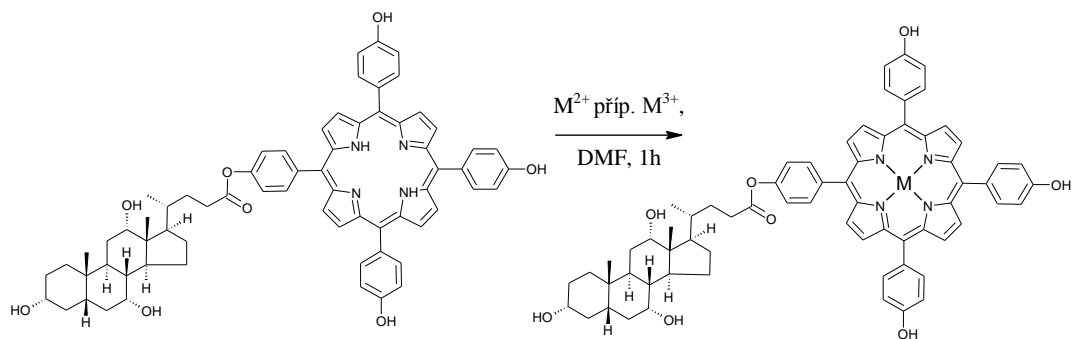
IR (BaCl_2 , cm^{-1}): 3318,5 (-OH), 2929,5, 2863,5 (CH₃-CH₂), 1713,4 (C=O)

MS: Pro $\text{C}_{68}\text{H}_{68}\text{N}_4\text{O}_8$ vypočteno: monoisotopická hmotnost 1068,5; MS – ESI změřeno: 1069,4 (M+H)

Syntéza esterů porfyrinu se žlučovými kyselinami ŠKACH Kryštof



Příprava metaloporfyrinů



2 - Zn

Pro látku **2** (30 mg, 28,05 μmol) byl navážen chlorid zinečnatý (50 mg, 0,036 mmol). Reakční směs rozpuštěna v DMF (2 mL) a 1 hodinu ponechána reagovat na magnetické míchače. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (CH_2Cl_2 -MeOH 10:1). Reakční směs byla vysušena na vakuové odparce a poté podrobena chromatografii (20 g silikagelu, roztok CH_2Cl_2 -MeOH 17:1). Bylo získáno 16 mg, 0,014 mmol (výtěžek 50,3 %) finálního produktu.

2 - Ni

Látky **2** (29 mg, 0,027 mmol) a octan nikelnatý (50 mg, 0,283 mmol) byly rozpuštěny v DMF (2 mL) a ponechány hodinu reagovat na magnetické míchače. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (CH_2Cl_2 -MeOH 10:1). Reakční směs byla odpařena na vakuové rotační odparce a následně podrobena sloupcové chromatografii (20 g silikagelu, roztok CH_2Cl_2 -MeOH 15:1). Bylo získáno 5 mg, 0,044 mmol (výtěžek 16,4 %) finálního produktu.

2 - Cu

Látky **2** (40 mg, 0,037 mmol) a octan měďnatý (15 mg, 0,083 mmol) byly rozpuštěny v DMF (2 mL) a na 1 hodinu dány reagovat na magnetickou míchačku. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (CH_2Cl_2 -MeOH 10:1). Reakční směs byla vysušena na vakuové odparce a rozpuštěna v CH_2Cl_2 -MeOH (14:1) a podrobena sloupcové chromatografii (20 g silikagelu, roztok CH_2Cl_2 -MeOH 17:1). Hmotnost finální látky byla 31 mg, 0,027 mmol (výtěžek 73,3 %).

2 - Gd

Látka **2** (41 mg, 0,038 mmol) a chlorid gadolinia (20 mg, 0,088 μmol) byly rozpuštěny v DMF (2 mL) a na 1 hodinu ponechány reagovat na magnetické míchače. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (CH_2Cl_2 -MeOH 10:1). Reakční směs byla vysušena na vakuové odparce a následně podrobena sloupcové

Syntéza esterů porfyrinu se žlučovými kyselinami
ŠKACH Kryštof

chromatografii (20 g silikagelu, roztok CH_2Cl_2 -MeOH 15:1, později 10:1).
Hmotnost finální látky byla 24 mg, 0,02 mmol (výtěžek 51,2 %).

Analytická data pro metaloporfyriny

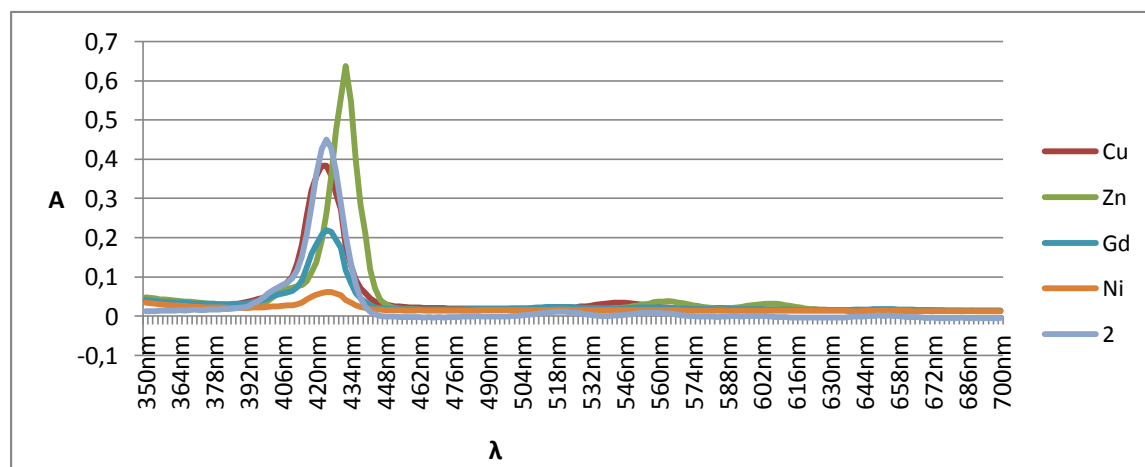
^1H NMR (CDCl_3 - CD_3OD ; 300 MHz): 0,63 (s, 3H, 18- CH_3); 0,78 (s, 3H, 19- CH_3); 0,86 - 2,46 (m, steroidal skeleton); 3,25 - 3,37 (m, 1H, (3-H)); 3,72 (m, 1H 7-H); 3,90 (m, 1H 12-H); porphyrin skeleton 7,13 (m, 6H); 7,33 (m, 2H); 7,87 - 7,94 (m, 6H); 8,05 (m, 2H); 8,70 (m, 2H) 8,79 (m, 6H) 9,13 (br. s., 3H)

IR (BaCl_2 , cm^{-1}): 3318,5 (-OH), 2929,5, 2863,5 (CH_3 - CH_2), 1713,4 ($\text{C}=\text{O}$)

4. Výsledky a diskuze

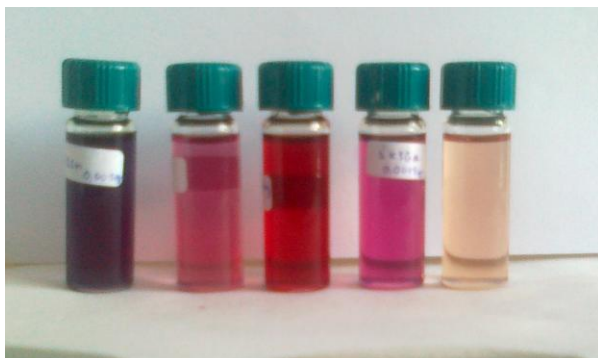
Na základě reakcí ve výše uvedené literatuře bylo připraveno několik nových látek. V případě přípravy triflátu kyseliny lithocholové a jeho následné reakce s *meso*-(tetrahydroxyfenyl)porfyrinem (příprava látky **1**, **2**) bylo postupováno v souladu s postupem podle E. Kolehmainena^[11]. Průběh reakce i výtěžek **1** se shodovali s daty uváděnými v literatuře, pro látku **2** byl výtěžek nižší než je uváděno v literatuře, což mohlo být způsobeno nepřesností v laboratorní práci. Syntéza látky **3** proběhla s přihlédnutím ke článku S. Sadlerové^[4] Později byla reakce modifikována a obměněna činidla. Příprava metaloporfyrinů je velmi dobře popsána a obecně známá reakce. V našem případě byla provedena podle článku Yuhua Shi^[21].

Ze syntetizovaných látek byly připraveny 1 μ molární roztoky, které byly měřeny UV-vis spektrometrií. Měření ukázalo (**Obr. 2**), že kovy uvnitř porfyrinů mění oblast, ve které dochází k absorpci záření. Změny viditelné pouhým okem je tak možné pozorovat i pomocí přístrojů (**Graf 1**).



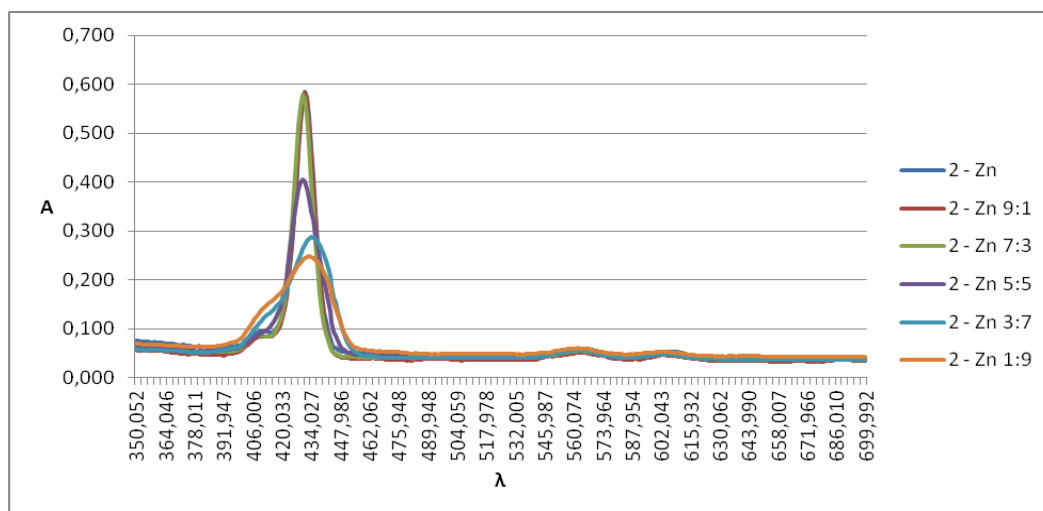
Graf 1

Syntéza esterů porfyrinu se žlučovými kyselinami ŠKACH Kryštof



Obr. 2 Zleva – Zn – Cu – Ni – Gd – 2

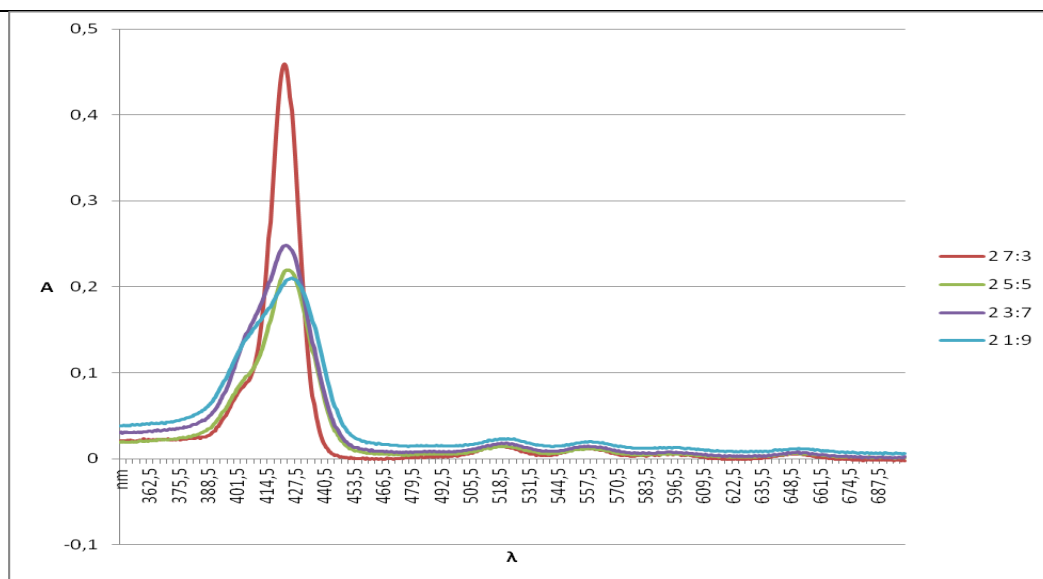
Dále byly s látkou **2** (Graf 3) a **2-Zn** (Graf 2) prováděny agregační studie. Látky byly při zachování koncentrace 1 μmol rozpuštěny ve směsi DMSO : H₂O. Přídavek vody, ve které je daná látka nerozpustná způsobuje vhodné podmínky pro agregaci molekul.



Graf 2

Syntéza esterů porfyriu se žlučovými kyselinami

ŠKACH Kryštof



Graf 3

5. Závěr

Syntéza esterů porfyrinu se žlučovými kyselinami proběhla dle plánů. Bylo připraveno celkem šest dosud nepopsaných látek, které byly charakterizovány pomocí NMR, případně hmotnostní, infračervené a UV-Vis spektroskopie.

6. Zkratky

THF – tetrahydrofuran

EDAC - N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride

HOBt - 1-hydroxybenzotriazole DMF - N,N-dimethylformamide

DMSO - dimethyl sulfoxide

TLC - thin layer chromatography – chromatografie na tenké vrstvě

PDT – fotodynamická terapie

7. Literatura

1. Virtanen E. et al.: *Eur. J. Org. Chem.*, **16**, 3385 (2004).
2. Swamy N. et al.: *Bioorg. Med. Chem.*, **10**, 3237 (2002).
3. Dukh M. et al.: *Org. Biomol. Chem* **1**, 3458 (2003).
4. Sadler S., Persons S. K., Jones B. G., Rahul R.: *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **21**, 4638-4641 (2011).
5. V. Král, J. Králová, R. Kaplánek, T. Bříza, P. Martásek: *Physiol. Res.* **55** (Suppl. 2) S3-S26, 2006.
6. Wang, SS (2002). *New technology for deep light distribution in tissue for phototherapy. Cancer Journal* **8** (2): 154–63.
7. Moan, J; Q Peng (2003). *An outline of the hundred-year history of PDT. Anticancer Res* **23** (5A): 3591–600.
8. Aronoff, BL (1997-01). *Lasers: reflections on their evolution. J Surg Oncol* **64** (1): 84–92.
9. Edelson MF: Light-activated drugs. *Sci Am* **68**: 68-75, 1988.
10. Lubanda H., Vecka M. *Chem. Listy*, **103**, 40 – 51, (2009).
11. Kolehmainen, E. et al.: *Synthesis* **9**, 1082 (1996).
12. Kasal A., *Chem. Listy*, **97**, 921-941, (2003).
13. A. F Hofmann, *Ital. J. Gastroenterol.*, **27**, 106-113, 1995.
14. Enhsen, A., Kramer, W., Wess, G. *Drug Discovery Today*, **3**, 409-418, (1998).
15. F. Berlati, G. Ceschel, C. Clerici, R. Pellicciari, A. Roda, C. Ronchi, *WO 9400126* 1994.
16. B. A. Marples, R. J. Stretton, *WO 9013298* 1990.
17. M. R. Ruff, J. M. Hill, L. D. Kwart, C. B. Pert, *US 5446026* 1995.
18. C. Li, A. S. Peters, E. L. Meredith, G. W. Allman, P. B. Savage, *J. Am. Chem. Soc.* 1998, **120**, 2961-2962.
19. C. Li, L. P. Budge, C. D. Driscoll, B. M. Willardson, G. W. Allman. P. B. Savage, *J. Am. Chem. Soc.* 1999, **121**, 931-940.

20. Campazzi, E., Cattabrita, M., Marvelli, L., Marchi, L., Rossi, R., Pieragnoli, M. R., Fogagnolo, M. *Inorg. Chim. Acta*, **286**, 46,-54, (1999).
21. Shi Y., Tang X., Sun E., Cheng X., Wang D., Yu S., Shi. T, *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry*, **38**:431-438, 2008.