

AVANCES RECIENTES EN EL CAMPO DE LA QUÍMICA BIOINORGÁNICA

Enrique J. Baran

Centro de Química Inorgánica (CEQUINOR), Facultad de Ciencias Exactas,
Universidad Nacional de La Plata. C. de Correo 962, (1900) La Plata, Argentina.

Resumen

Se hacen algunos comentarios generales acerca de los objetivos y la problemática de la Química Bioinorgánica y luego se discuten algunos avances recientes producidos en este campo y que involucran sistemas derivados de los elementos cobre, molibdeno, hierro, vanadio, selenio y níquel. Asimismo, se comentan algunos aspectos aplicados, derivados de estos estudios, con especial énfasis en el desarrollo de nuevos fármacos inorgánicos.

Abstract

Some general comments about the objectives and the problematic of Bioinorganic Chemistry are made, followed by a discussion of some recent advances in this field, which involves systems related to the elements copper, molybdenum, iron, vanadium, selenium and nickel. Some applied aspects, derived from these studies, are also commented, with especial emphasis in the development of new inorganic pharmaceuticals.

La palabra *bioinorgánica* parece encerrar una contradicción profunda ya que el prefijo *bio* significa vida e *inorgánico* es todo lo no viviente, una situación que apunta a una temática fuertemente interdisciplinaria.

Y así es en efecto, ya que la llamada Química Bioinorgánica es una rama interdisciplinaria de la Química que se ocupa de una amplia gama de problemas ubicados en la interfase entre la Química y las Ciencias Biológicas y que ha tenido un rápido y explosivo

desarrollo en las últimas dos décadas, causando un profundo impacto en las Ciencias Naturales [4,8,49].

El hecho de que en los sistemas vivos predominan básicamente los elementos carbono, hidrógeno, nitrógeno y oxígeno, que son también los constituyentes esenciales de las moléculas orgánicas, creó muchas veces, inconscientemente, la suposición de que sólo los compuestos orgánicos eran esenciales para los seres vivos y que los elementos y compuestos comúnmente llamados "inorgánicos" tenían escasa o ninguna significación para ellos. Sólo muy lentamente se fue tomando conciencia cabal de que diversos sistemas inorgánicos, muchas veces presentes sólo

Conferencia pronunciada en su incorporación como Académico Titular, el 30 de mayo de 1997.

agregar algunos otros sistemas que también contienen metales y que cumplen funciones diferentes a las recién mencionadas. Tales son los casos de los sistemas que participan en la captación, el transporte y la acumulación de metales, los involucrados en procesos fotoquímicos y los que participan en procesos y mecanismos de detoxificación así como los sistemas catiónicos que realizan funciones de control, regulación y transmisión.

Un aspecto sumamente importante de reconocer y de recalcar es la idea de que en los complejos de coordinación ordinarios y simples que habitualmente manejamos en el laboratorio, las características del catión son las que controlan los aspectos estructurales y electrónicos del sistema. En cambio, en las metaloenzimas estos aspectos están condicionados, en gran medida, por los ligandos. Es decir, las diferencias entre las propiedades de una metaloenzima y un complejo de coordinación ordinario, conteniendo el mismo metal, son un reflejo de las condiciones que la estructura secundaria y terciaria de la proteína imponen a las cadenas laterales de aminoácidos que, en última instancia, son los ligandos que se unen al metal. De esta forma, se llegan a forzar geometrías poco comunes y hasta inusuales en torno a determinados centros metálicos. Esta situación llevó a Vallee y Williams a formular la idea de "estado entáxico" [66], para describir un sitio metálico sometido a fuertes tensiones, que llegan a exaltar notablemente su reactividad [8,72].

También resulta interesante remarcar que una de las grandes limitaciones que se han tenido para avanzar más rápidamente en el conocimiento de las propiedades y características estructurales de muchas metalobiomoléculas reside en la dificultad de cristalizar muchos de estos sistemas y de obtener cristales de características adecuadas para su estudio cristalográfico [35,37,51]. En muchos casos pues, la información estructural disponible está basada en un análisis crítico y comparativo de diverso tipo de mediciones y estudios espectroscópicos. De hecho, la mayoría de los avances recientes más espectaculares que comentaremos a continuación, estuvieron ligados a la posibilidad de realizar por primera vez, estudios cristalográficos directos de varios sistemas de gran interés en

este campo.

Algunos avances importantes recientes

En esta sección comentaremos algunos resultados de investigaciones recientes, obtenidos por diversos grupos de trabajo, que constituyen avances valiosos para el mejor conocimiento de aspectos fundamentales de la bioquímica de algunos de los elementos traza esenciales para los organismos vivientes.

1. *Sistemas dependientes de cobre*

El cobre es uno de los elementos metálicos más ampliamente difundidos entre los seres vivos y aparece involucrado en una gran variedad de funciones que abarcan, entre otras, el transporte de electrones, la reducción de oxígeno, el transporte y activación de oxígeno, la dismutación de superóxido, etc. [8,45,59,60]. Se han reconocido tres tipos diferentes de complejos de cobre involucrados en metaloproteínas, a los que se suelen llamar corrientemente cobres de tipo 1, 2 y 3 respectivamente y que están caracterizados por presentar propiedades espectroscópicas y magnéticas bien diferenciadas [8]. Asimismo, se ha determinado que en muchos sistemas biológicos dependientes de cobre, suelen aparecer involucrados simultáneamente más de uno de estos tipos de cobres.

El primero de los hallazgos interesantes recientes relacionados a este elemento es la demostración de la existencia de sitios trinucleares de cobre, conformando una novedosa especie de cúmulos metálicos ("clusters"), en diversas oxidasas [54,62]. En la Figura 2 se muestran las características de coordinación de los tres iones cobre involucrados, siendo especialmente remarcable el hecho de que todas las distancias Cu-Cu en este sitio son menores de 4 Å.

El segundo hallazgo muy interesante vinculado al cobre es la caracterización precisa del sitio de activación y transporte de oxígeno en las hemocianinas. Este metaloproteína, utilizado por artrópodos y moluscos, es una de las más complejas que se conocen debido a sus altos pesos moleculares y sus intrincadas estructuras cuaternarias [53] lo que complicó muchísimo las posibilidades de realizar estu-

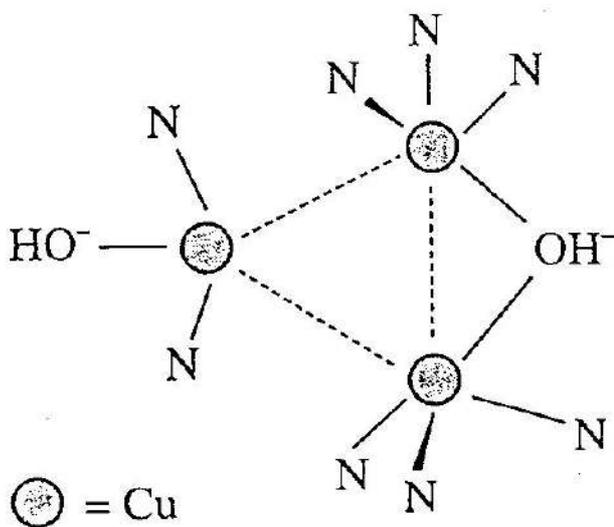


Fig. 2: Esquema de los sitios trinucleares de Cu(II) presentes en algunas oxidasas.

dios cristalográficos.

Casi toda la información que hasta hace poco manejábamos estaba originada en estudios basados en experiencias EXAFS y en análisis espectroscópicos de resonancia Raman [8,15,48], que sugerían, para la forma oxigenada la ubicación de un grupo peroxo, en forma de puente, entre dos iones Cu(II) como se muestra en la Figura 3. Sin embargo, recientemente un estudio cristalográfico de mediana resolución sugiere por primera vez una estructura diferente y un tanto inespera-

da, con el oxígeno intercalado, tal como se muestra en la Figura 4 [52,62]. Esta novedosa estructura permite, sin embargo, explicar mucho más satisfactoriamente algunos aspectos del comportamiento fisicoquímico de este complejo sistema, que los modelos anteriores no habían logrado justificar cabalmente [52].

2. Sistemas dependientes de molibdeno

El descubrimiento reciente más importante en este campo es, sin lugar a dudas, la determinación de la estructura del llamado "cofactor de hierro y molibdeno" (FeMoco), que juega un papel central en el mecanismo de acción de las nitrogenasas, capaces de transformar el nitrógeno atmosférico en amoníaco y acerca del cual hubo toda clase de especulaciones, durante los últimos veinte años [8].

Kim y Rees lograron cristalizar las dos componentes proteicas de la nitrogenasa, aisladas de *Azotobacter vinelandii*, de forma adecuada para un estudio cristalográfico [46], demostrando que el FeMoco es una unidad inorgánica de composición Fe_7S_8Mo , la que se esquematiza en la Figura 5. Este cofactor se une a la cadena proteica a través de dos residuos de aminoácidos, uno de cisteína, ligada al hierro y el otro de histidina, ligado al molibdeno. La esfera de coordinación del molibdeno se completa con dos uniones Mo-O, provistas por una molécula de ácido

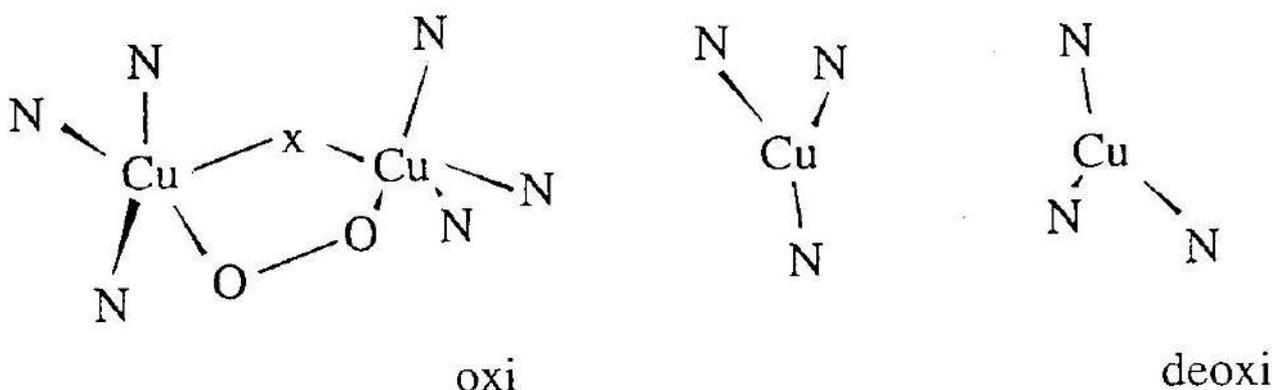


Fig. 3: Modelo sugerido para el sitio transportador de O_2 en las hemocianinas, basado en estudios espectroscópicos.

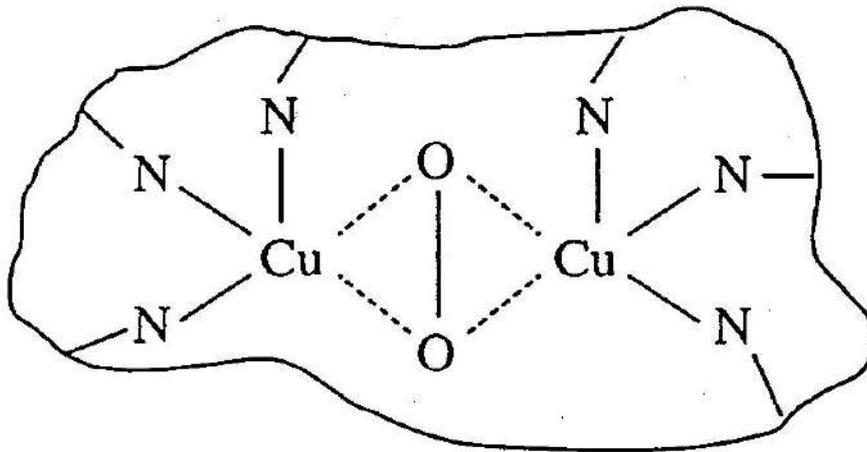
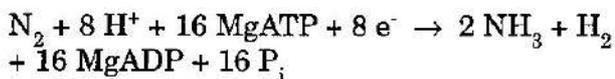


Fig. 4: Modelo sugerido para el sitio transportador de O₂ en las hemocianinas, a partir del estudio cristalográfico.

homocéntrico.

Existen evidencias firmes de que sobre este cúmulo metálico tienen lugar tanto la evolución de H₂ como la reducción del N₂, de acuerdo a la estequiometría global propuesta para este proceso [8]:



Como puede verse en la Figura 5, la estructura del FeMoco está conformada por dos subcúmulos. Uno de ellos tiene una estructura Fe₄S₃, es decir, es idéntica a una estructura de ferredoxina 4:4, con uno de los vértices S desocupados. El segundo, tiene una estructura MoFe₃S₃ similar, con el anión homocitrato y la histidina unidos al Mo. Ambos subcúmulos se unen eclipsando sus caras Fe₃ y están puenteados por dos (o eventualmente por tres) iones sulfuro. Este esquema muestra que todos los hierros interiores están potencialmente insaturados desde el punto de vista de su coordinación, sugiriendo de esta manera un sitio de coordinación múltiple para el N₂ [19,21,64]. Este aspecto también ha comenzado a discutirse muy intensamente a partir de la descripción estructural de este sitio [19,21,64].

El otro aspecto muy interesante vinculado con la nitrogenasa, es el hallazgo de las llamadas "nitrogenasas alternativas", sis-

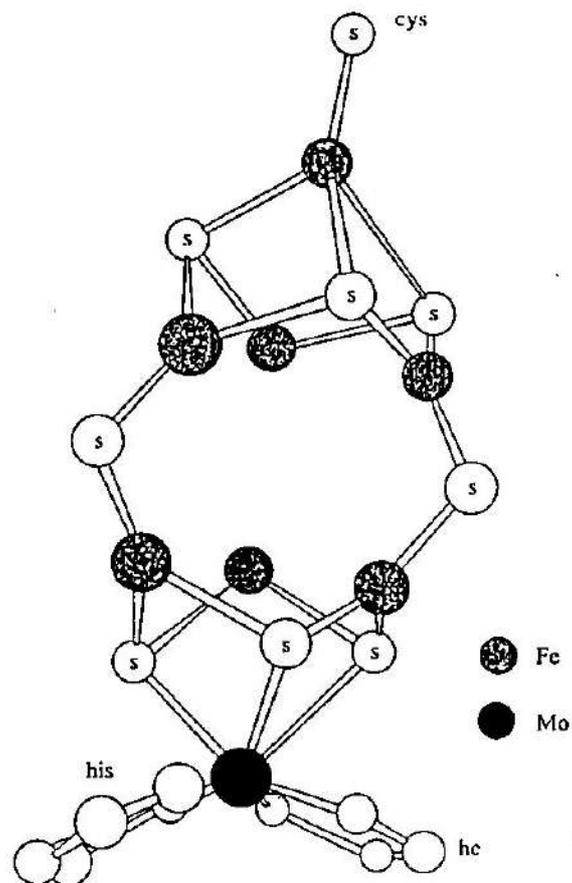


Fig. 5: Estructura del cofactor de hierro y molibdeno, presente en las nitrogenasas (cys se refiere al residuo de cisteína unida por su átomo de azufre al Fe; his representa al grupo imidazol de un resto de histidina unido por su N, y hc al homocitrato, unido por un carboxilo y un hidroxilo, al Mo).

temas en los cuales se ha demostrado la sustitución del molibdeno por vanadio o hierro en el FeMoco [23,24], resultados que tienen interesantes implicancias desde el punto de vista evolutivo de estas especies [8,24].

3. *Sistemas dependientes de hierro*

En este campo uno de los hallazgos más interesantes se relaciona al descubrimiento de nuevos y variados sistemas bioinorgánicos que presentan la unidad estructural Fe-O-Fe. Hasta hace relativamente poco tiempo se suponía que el único sistema biológico que contenía este tipo de unidades eran las hemeritrinas, un transportador de oxígeno presente en varios organismos marinos primitivos [8]. En años recientes se ha hecho evidente que estos centros dinucleares están ampliamente difundidos en la Naturaleza y son sumamente versátiles ya que no sólo pueden participar de la activación y el transporte de oxígeno, sino que aparecen involucrados también en el transporte de electrones, son capaces de insertar oxígeno en un enlace C-H y aún de hidrolizar ésteres fosfóricos a valores de pH relativamente bajos [8,67].

La abundancia y estabilidad de este tipo de sitios binucleares, hace pensar que probablemente esta unidad estructural sea mucho más corriente de lo que hasta ahora sabemos y es muy probable que esté presente en otros sistemas bioinorgánicos [8]. Asimismo, se ha sugerido que este tipo de complejos podría tener también algún papel relevante en la bioinorgánica del manganeso, en forma de unidades Mn-O-Mn [8].

4. *Sistemas dependientes de vanadio*

Si bien la esencialidad del vanadio para las formas más desarrolladas de vida, incluyendo al Hombre, sigue siendo motivo de variadas controversias, se han acumulado crecientes evidencias acerca de esa posibilidad [12,56].

Nuestro grupo de investigación viene haciendo aportes continuados a este campo de la Química Bioinorgánica desde hace más de una década. Algunas contribuciones recientes al mismo han sido comentadas en un artí-

culo precedente [7]. En especial, nuestros esfuerzos han estado centrados inicialmente en torno a la interacción de especies de vanadio con nucleótidos y sistemas relacionados, temática que ha sido recientemente resumida en forma detallada [9] y más recientemente al estudio de modelos vinculados al metabolismo de este elemento en organismos superiores. En este contexto, hemos analizado los siguientes problemas y sistemas: los procesos de reducción biológica de vanadio (V) a VO^{2+} ; la interacción del catión oxovanadio (IV) así generado con diferentes tipos de biomoléculas; la acumulación de vanadio en tejidos duros y sistemas conexos. Así, hemos analizado la reducción de vanadatos (V) por glutatión, ácido L-ascórbico (vitamina C) y cisteína y la posterior interacción de VO^{2+} con exceso de estos reductores o con sus productos de oxidación [13,30-33]. Por otro lado, hemos logrado reunir una abundante cantidad de información en torno a la interacción de VO^{2+} con azúcares [27,28,71] y fosfatos [55,70] y hemos analizado la interacción del mismo catión con constituyentes básicos de la matriz orgánica de tejidos duros [25,26]. En el contexto de estos trabajos, hemos iniciado también estudios vinculados a la detoxificación de este elemento [11] y a su posible actividad farmacológica [10].

En otro orden de cosas hemos investigado también complejos simples de vanadio (V), vanadio (IV) y vanadio (III), con ligandos conteniendo O y N como átomos donores [38-40,43,44] con el objetivo final de avanzar en el conocimiento de las características estructurales y espectroscópicas de los sitios activos de las recientemente descubiertas haloperoxidasas vegetales, dependientes de vanadio [68], sistemas en torno de los cuales estamos también intentando realizar estudios mecanísticos detallados [65].

5. *Sistemas dependientes de selenio*

En años recientes se ha hablado mucho acerca de los efectos benéficos del selenio, por su acción antioxidante y por su pretendida acción anticancerígena. En estos últimos años, se ha avanzado en el mejor conocimiento de enfermedades de animales, claramente relacionables a deficiencias de este elemento

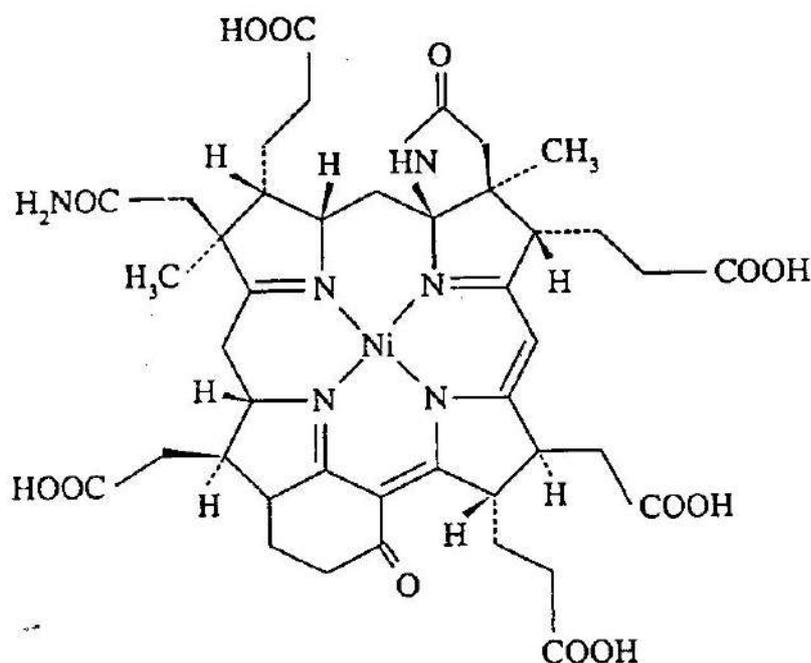


Fig. 6: Estructura del cofactor F-430.

[5] así como en torno al funcionamiento de la glutatión peroxidasa, el sistema enzimático dependiente de selenio, mejor conocido hasta el presente [8]. Por otro lado, también se ha establecido claramente la presencia y esencialidad del selenio en varias hidrogenasas. Y, por otra parte, se han ido acumulando mayores evidencias acerca de la actividad anticancerígena de este elemento, por ejemplo a partir del hallazgo de que las muertes por cánceres, son marcadamente menores en regiones del Mundo con suelos ricos en este elemento [17].

Recientemente, se ha informado también que pacientes afectados de SIDA presentan claras evidencias de deficiencias de selenio y una marcada disminución en la actividad de glutatión-peroxidasa [22] y algunos estudios de suplementación de selenio a este tipo de enfermos han mostrado algunos efectos altamente positivos sobre su estado general [5,57].

6. Sistemas dependientes de níquel

Hacia fines de la década de los sesen-

ta empezó a reconocerse claramente la esencialidad del níquel en diferentes sistemas bacterianos [8]. Este campo de la bioinorgánica es uno de los que más interesantes y continuados avances ha venido mostrando desde entonces [47,61].

Un descubrimiento fascinante en este campo, fue el hallazgo de la presencia en ciertos sistemas bacterianos de lo que dio en llamarse el "factor F-430" y que contiene al níquel asociado a un ligando tetrapirrólico muy peculiar (Figura 6) al que suele denominarse "corfina", para remarcar su relación con la porfina y la corrina. Este sistema cumple un papel central en la conversión de CO_2 en CH_4 por parte de las bacterias metanogénicas [74].

Entre los descubrimientos más recientes en este campo podemos mencionar dos, que han tenido muy importante impacto. Por un lado, la determinación de las características del sitio activo de la ureasa y por el otro la caracterización estructural del cúmulo de Fe/Ni en una hidrogenasa.

La ureasa es, por muchas razones, un sistema enzimático muy peculiar [50]. Fue la primera enzima que logró cristalizarse (1926)

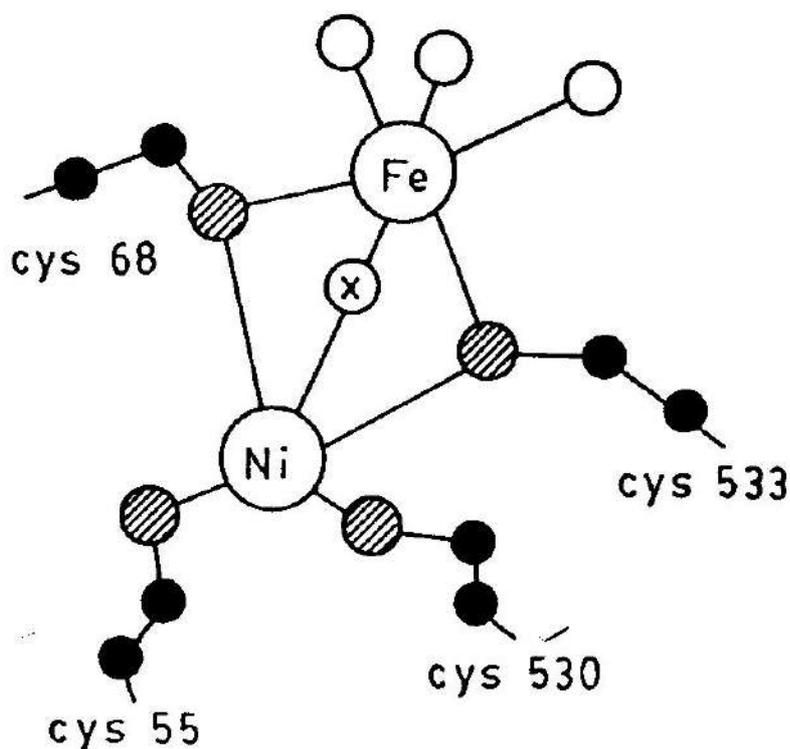
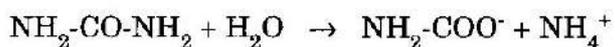


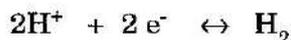
Fig. 7: Esquema del sitio bimetálico de la hidrogenasa de *Desulfovibrio gigas* (cys se refiere a los diferentes residuos de cisteína involucrados en la coordinación, a través de sus átomos de azufre).

y fue también el primer sistema bioinorgánico que se demostró dependiente de níquel (1975). Finalmente, ahora, ha sido posible determinar las características del sitio activo de esta enzima, a través de un estudio cristalográfico de mediana resolución [42]. Se trata de un sitio bimetálico, con dos iones Ni(II), separados unos 3.5 Å y puenteados por dos oxígenos de un resto carbamato. Uno de los iones metálicos presenta una geometría aproximadamente bipiramidal trigonal (dos N imidazolónicos de sendos residuos de histidina y un O de una molécula de agua en posición ecuatorial y las posiciones apicales ocupadas por otros dos átomos de O, uno proveniente de un residuo de aspartato y el otro, el perteneciente al ya mencionado puente de carbamato). El segundo centro metálico aparece claramente insaturado ya que su esfera de coordinación está conformada por el oxígeno del puente y dos N imidazolónicos. Este sitio es, evidentemente, el lugar donde debe fijarse el sustrato, mientras que la molécula de agua posicionada en el otro sitio, seguramen-

te participa en el proceso hidrolítico catalizado por esta enzima [8,50]:



El segundo de los descubrimientos está vinculado con las hidrogenasas. Estas enzimas catalizan la generación o el consumo de H_2 gaseoso, con la participación de donores o aceptores electrónicos [8]:



jugando un papel esencial en el metabolismo de numerosas bacterias. Se conocen hidrogenasas dependientes únicamente de hierro, otras dependientes de hierro y níquel y, las más complejas, dependientes de hierro, níquel y selenio [8].

En 1995, logró determinarse la estructura cristalina de una hidrogenasa dependiente de Fe/Ni, aislada de la bacteria *Desulfovibrio gigas* [69]. Como en otros casos, la estructura del sitio activo muestra algunas particu-

laridades inesperadas [34,41]. Se trata de un sitio bimetálico, con los átomos de Fe y Ni muy próximos (ca. 2.8 Å). El níquel aparece coordinado por cuatro azufres de residuos de cisteína, dos de los cuales lo puentean con el otro centro metálico, tal como se esquematiza en la Figura 7. Los ligandos sobre el hierro parecen ser de naturaleza no proteica y, aparentemente, también existe un puente adicional, X, entre los dos centros metálicos no claramente identificado aún. También se ha especulado sobre la posibilidad de que en las hidrogenasas conteniendo selenio, uno de los residuos de cisteína ubicados sobre el Ni, sea reemplazado por uno de selenocisteína [41].

Algunos aspectos aplicados de la Química Bioinorgánica

Para finalizar con este breve análisis, vale la pena enfatizar muy especialmente que en los últimos años se ha notado una creciente serie de derivaciones y aplicaciones de los sistemas y modelos desarrollados en estos estudios.

Así, comienza ya a hablarse de una catálisis bioinorgánica [58] cuyo campo se centra en la posible utilización de sistemas similares a los biológicos para aplicarlos en el campo de la catálisis industrial. Asimismo, se han llevado ya a escala industrial sistemas enzimáticos inmovilizados capaces de catalizar muy eficientemente ciertos procesos de gran importancia económica [8,16,73] y se van produciendo avances notables con los llamados procesos de biolixiviación, o lixiviación microbiana que tienen ya notable impacto en la metalurgia extractiva [8,29].

Por otro lado, la medicina y la farmacología se han visto notablemente beneficiadas por estos estudios y está en pleno desarrollo una nueva forma de encarar la Farmacología Inorgánica, a través de la Química Bioinorgánica. En este campo se han logrado avances valiosos en lo que hace a la remoción de elementos, tanto tóxicos como esenciales en exceso ("quelatoterapias") a través de un mejor conocimiento de los ligandos involucrados en el manejo natural de esos elementos [8,63]. Asimismo, la suplementación de elementos esenciales, tanto en medicina humana como en medicina veterinaria, ha comen-

zando a transitar por carriles con una más sólida y ordenada base científica [8].

También debe destacarse la creciente utilización de complejos de diversos metales con determinadas y bien definidas acciones farmacológicas [8], como lo son por ejemplo la utilización de compuestos de metales pesados, especialmente del platino [2,3], en los tratamientos de cánceres de diverso tipo [2,3,36] o los fármacos a base de oro (crisoterapias) [8] que se utilizan en los tratamientos de cuadros de artritis crónicas [1] o el descubrimiento más reciente de la importante actividad farmacológica de algunos polioxometalatos [6]. Y no debe dejar de mencionarse también el nuevo interés despertado por ciertos fármacos a base de bismuto para el tratamiento de úlceras gástricas [14] o los efectos insulino-miméticos de complejos de vanadio [10,18].

Agradecimientos

El autor desea expresar su sincero y profundo agradecimiento a los maestros que encauzaron su vocación y lo iniciaron y orientaron en el campo académico-científico; a sus padres que con sus consejos y ejemplos le abrieron el camino a la Vida; a su esposa e hijas por su comprensión, constante aliento, incondicional apoyo y afecto y a sus colaboradores y discípulos por compartir con interés y alegría la diaria aventura de la discusión enriquecedora y la labor creativa. Todos ellos han hecho posible esta importante distinción personal y con todos ellos la comparte.

Referencias

- [1] BARAN, E.J., Acta Farm.Bonaerense, 5, 21 (1986).
- [2] BARAN, E.J., Acta Farm.Bonaerense, 5, 97 (1986).
- [3] BARAN, E.J., Acta Farm.Bonaerense, 5, 175 (1986).
- [4] BARAN, E.J., Ciencia Hoy, 2, 50 (1990).
- [5] BARAN, E.J., Acta Farm.Bonaerense, 9, 175 (1990).
- [6] BARAN, E.J., Acta Farm.Bonaerense, 11, 155 (1992).
- [7] BARAN, E.J., An.Acad.Nac.Cs.Ex.Fis.Nat., 46, 35 (1994).
- [8] BARAN, E.J., "Química Bioinorgánica",

- McGraw-Hill Interamericana de España S.A., Madrid, 1995.
- [9] BARAN, E.J., en "Metal Ions in Biological Systems" (H. SIGEL and A. SIGEL, Eds.), Vol. 31, 129, Marcel Dekker, N. York, 1995.
- [10] BARAN, E.J., *Acta Farm.Bonaerense*, 16, 43 (1997).
- [11] BARAN, E.J., en "Advances in Environmental Science and Technology" (J.O. NRIAGU, Ed.), Vol. 31, 317, J. Wiley, N. York, 1998.
- [12] BARAN, E.J., *Anales Soc.Cientif.Argent.*, 228, 61 (1998).
- [13] BARAN, E.J.; FERRER, E.G. y WILLIAMS, P.A.M., *J.Inorg.Biochem.*, 59, 600 (1995).
- [14] BARAN, E.J. y TOBON-ZAPATA, G.E., *Acta Farm.Bonaerense*, 14, 133 (1995).
- [15] BROWN, J.M.; POWERS, L.; KINKAID, B.; LARRABEE, J.A. y SPIRO, T.G., *J. Am. Chem. Soc.*, 102, 4210 (1980).
- [16] CHIBATA, J.; TOSA, T. y SATO, T., *J. Mol. Catal.*, 37, 1 (1986).
- [17] COMBS, G.F., *Bull.Selenium-Tellurium Developm.Assoc.*, 1997, 1.
- [18] CRANS, D.; MAHROOF-TAHIR, M. y KERAMIDAS, A.D., *Mol. Cell Biochem.*, 153, 17 (1995).
- [19] DANCE, J., *J. Biol. Inorg. Chem.*, 1, 581 (1996).
- [20] DARNALL, D.W. y WILKINS, R.G., "Methods for Determining Metal Ion Environment in Proteins", Elsevier/North Holland, N. York, 1980.
- [21] DENG, H. y HOFFMANN, R., *Angew. Chem. internat. edit. engl.*, 32, 1062 (1993).
- [22] DWORKIN, B.M.; ROSENTHAL, W.S.; WORMSER, G.P.; WEISS, C., NUNEZ, M.; LOLINE, C. y HERP, A., *Biol.Trace Elem.Res.*, 15, 167 (1988).
- [23] EADY, R.R. y LEIGH, G.F., *J. Chem. Soc. Dalton Transact.*, 1994, 2739.
- [24] ERFKAMP, J. y MULLER, A., *Chem. Unserer Zeit*, 24, 267 (1990).
- [25] ETCHEVERRY, S.B.; WILLIAMS, P.A.M. y BARAN, E.J., *Biol.Trace Elem.Res.*, 42, 43 (1994).
- [26] ETCHEVERRY, S.B.; WILLIAMS, P.A.M. y BARAN, E.J., *Biol.Trace Elem.Res.*, 51, 169 (1996).
- [27] ETCHEVERRY, S.B.; WILLIAMS, P.A.M. y BARAN, E.J., *J.Inorg. Biochem.*, 63, 285 (1996).
- [28] ETCHEVERRY, S.B.; WILLIAMS, P.A.M. y BARAN, E.J., *Carbohydr. Res.*, 302, 131 (1997).
- [29] EWART, D.K. y HUGHES, M.N., *Adv. Inorg. Chem.*, 36, 103 (1991).
- [30] FERRER, E.G.; WILLIAMS, P.A.M. y BARAN, E.J., *Biol.Trace Elem.Res.*, 30, 175 (1991).
- [31] FERRER, E.G.; WILLIAMS, P.A.M. y BARAN, E.J., *J.Inorg.Biochem.*, 50, 252 (1993).
- [32] FERRER, E.G.; WILLIAMS, P.A.M. y BARAN, E.J., *Z.Naturforsch.* 53b, 256 (1998).
- [33] FERRER, E.G.; WILLIAMS, P.A.M. y BARAN, E.J., *J.Trace Elem.Med.Biol.* 12, 56 (1998).
- [34] FONTECILLA CAMPS, J.C., *J. Biol. Inorg. Chem.*, 1, 91 (1996).
- [35] FOURMET, R. y JANIN, N., *La Recherche*, 226, 1358 (1990).
- [36] FRICKER, S.P. (Ed.), "Metal Compounds in Cancer Therapy", Chapman & Hall, London, 1994.
- [37] GIEGE, R.; LORBER, B. y THEOBALD-DIETRICH, A., *Acta Cryst.*, D 50, 339 (1994).
- [38] GONZALEZ-BARO, A.C., Tesis Doctoral, UNLP, La Plata, 1997.
- [39] GONZALEZ-BARO, A.C. y BARAN, E.J., *Monatsh.Chem.*, 128, 323 (1997).
- [40] GONZALEZ-BARO, A.C. y BARAN, E.J., *Transit.Metal Chem.*, 43, 335 (1998).
- [41] HALCROW, M.A., *Angew. Chem. internat. edit. engl.*, 34, 1193 (1995).
- [42] JABRI, E.; CARR, M.B.; HAUSINGER, R.P. y KARPLUS, P.A., *Science*, 268, 998 (1995).
- [43] JUBERT, A.H.; GONZALEZ-BARO, A.C., BARAN, E.J. y SALA, O., *J. Raman Spectr.*, 20, 555 (1989).
- [44] JUBERT, A.H.; GONZALEZ-BARO, A.C.; PIS-DIEZ, R. y BARAN, E.J., *J.Raman Spectr.*, 23, 273 (1992).
- [45] KAIM, W. y RALL, J., *Angew. Chem. internat. edit.engl.*, 35, 43 (1996).
- [46] KIM, J. y REES, D., *Science*, 257, 1677 (1992).
- [47] LANCASTER jr., J.R. (Ed.), "The Bioinorganic Chemistry of Nickel", Verlag Chemie, N.York, 1988.
- [48] LARRABEE, J.A. y SPIRO, T.G., *J. Am. Chem. Soc.*, 102, 4217 (1980).
- [49] LIPPARD, S.J., *Science*, 261, 699 (1993).
- [50] LIPPARD, S.J., *Science*, 268, 996 (1995).
- [51] McPHERSON, A., *J. Cryst. Growth*, 110, 1 (1991).
- [52] MAGNUS, K.; TON-THAT, H., y CARPENTER J.E., *Chem.Rev.*, 94, 727 (1994).
- [53] MARKL, J., *Chem.unserer Zeit*, 30, 6 (1996).
- [54] MESSERSCHMIDT, A.; ROSSI, A.; LADENSTEIN, R.; HUBER, R.; BOLOGNESI, M.; GATTI, G.; MARCHESINI, A.; PETRUZELLI, R. y FINAZZI-AGRO, A., *J.Mol.Biol.*, 206, 513

- (1989).
- MUGLIA, C.I.; FERRER, E.G. y BARAN, E.J., enviado a publicación.
- [6] NIELSEN, F.H., *FASEB J.*, 5, 2661 (1991).
- [57] OLMSTED, L.; SCHRAUZER, G.N.; FLORES-ARCE, M. y DOWD, J., *Biol.Trace Elem.Res.*, 20, 59 (1989).
- [58] REEDIJK, J. (Ed.), "Bioinorganic Catalysis", Marcel Dekker, N.York, 1993.
- [59] SIGEL, H. (Ed.), "Metal Ions in Biological Systems", Vol.12, Marcel Dekker, N.York, 1981.
- [60] SIGEL, H. (Ed.), "Metal Ions in Biological Systems", Vol.13, Marcel Dekker, N.York, 1981.
- [61] SIGEL, H. y SIGEL, A. (Eds.), "Metal Ions in Biological Systems", Vol.23, Marcel Dekker, N.York, 1988.
- [62] SOLOMON, E.J. y LOWERY, D.D., *Science*, 259, 1575 (1993).
- [63] TAYLOR, D.M. y WILLIAMS, D.R., "Trace Elements, Medicine and Chelation Therapy", Royal Soc.Chem., London, 1995.
- [64] THORNELEY, R.N.F. y LOWE, D.J., *J.Biol.Inorg.Chem.*, 1, 576 (1996).
- [65] TOTARO, R.M., Tesis Doctoral, UNLP, en preparación.
- [66] VALLEE, B.L. y WILLIAMS, R.J.P., *Proc. Natl. Acad. Sci.USA*, 59, 498 (1968).
- [67] VINCENT, J.B.; OLIVIER-LILLEY, G.L. y AVERILL, B.A., *Chem. Rev.*, 90, 1447 (1990).
- [68] WEVER, R. y KUSTIN, K., *Adv. Inorg. Chem.*, 35, 81 (1990).
- [69] VOLBEDA, A.; CHARON, M.E.; PIRAS, C.; HATCHIKIAN, E.C.; FREY, M. y FONTECILLA CAMPS, J.C., *Nature*, 378, 580 (1995).
- [70] WILLIAMS, P.A.M. y BARAN, E.J., *Biol. Trace Elem.Res.*, 36, 143 (1993).
- [71] WILLIAMS, P.A.M.; ETCHEVERRY, S.B. y BARAN, E.J., *J. Inorg. Biochem.*, 65, 133 (1997).
- [72] WILLIAMS, R.J.P., *J. Mol. Catal.*, 30, 1 (1985).
- [73] WISEMAN, A., *J.Chem.Ed.*, 73, 55 (1996).
- [74] WON, H.; OLSON, K.D.; SUMMERS, M.S. y WOLFE, R.S., *Comm. Inorg.Chem.*, 15, 1 (1993).
- [75] WRIGHT, J.R.; HENDRICKSON, W.A.; OSAKI, S. y JAMES, J.T., "Physical Methods for Inorganic Biochemistry", Plenum Press, N.York, 1986.

Manuscrito recibido en julio de 1997.