



Faculty of Chemistry and Chemical
Engineering
Babeş-Bolyai University
Cluj-Napoca, 400028
ROMANIA



BIOCHEMICALLY RELEVANT HETEROCYCLES AND COORDINATIVE COMPOUNDS

Summary

Mihai Surducan

Scientific advisors:

**Prof. Dr. Luminita Silaghi-Dumitrescu, Faculty of Chemistry and Chemical
Engineering, "Babeş-Bolyai" University, Cluj Napoca**

**Prof. Dr. Valentin Zaharia, Faculty of Pharmacy, "Iuliu Hațieganu" University of
Medicine and Pharmacy, Cluj Napoca**

Cluj-Napoca
2012

COMISIE

PREȘEDINTE

Conf. Dr. Luminița David, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, Babeș-Bolyai University, Cluj-Napoca, Romania.

CONDUCĂTORI ȘTIINȚIFICI:

Prof. Dr. Luminita Silaghi-Dumitrescu, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, “Babeș-Bolyai” University, Cluj Napoca

Prof. Dr. Valentin Zaharia, Faculty of Pharmacy, “Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy, Cluj Napoca

REFERENȚI

Prof. Dr. Paul Mezey, Memorial University of Newfoundland, Newfoundland And Labrador, Canada

Prof. Dr. Luminița Oprean, Faculty of Pharmacy, “Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania

Conf. Dr. Ing. Castelia Cristea - Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, “Babeș-Bolyai” University, Cluj-Napoca, Romania.

Data susținerii publice: **27 noiembrie 2012**

Cuprins

I.	Introducere generală	4
II.	Studii computaționale	11
II.1.	Sulfit reductaza	12
II.1.1.	Introducere	12
II.1.2.	Investigații teoretice asupra modelelor porfirină-Fe-SO	16
II.1.2.1.	Metode utilizate	16
II.1.2.2.	Rezultate	18
II.1.3.	Investigații teoretice asupra ruperii legăturii O-S in modelele Fe-OS porfirină	36
II.1.3.1.	Metode utilizate	36
II.1.3.2.	Rezultate	37
II.1.4.	Investigații teoretice asupra ruperii legăturii O-S in modelele Fe-SO porfirină	49
II.1.4.1.	Metode utilizate	49
II.1.4.2.	Rezultate și discuții	50
II.1.3.	Bibliografie	53
II.2.	Cobalamina and cobinamida	60
II.2.1.	Introducere	60
II.2.2.	Materiale și metodă	63
II.2.3.	Cobalamine canonice	67
II.2.4.	Reacții ale cobalaminelor cu sulfuri și tioli	71
II.2.5.	Reacții cu tiocianatul	79
II.2.6.	Reacții ale cobalaminelor oxigenul molecular și specii chimice înrudite	93
II.2.7.	Reacții cu oxizi de azot și oxianioni	97
II.2.8.	Studii computaționale asupra legaturii Co-C dinn metilcobalamină	101
II.2.9.	Reducerea cobalaminei cu ditionit și agenți reducători înrudiți si obținerea stării tetracoordinate a Co(I): comparații cu echivalentul cu fier, feribalamina	104
II.2.10.	Bibliografie	111
II.3.	Bleomicina: activarea oxigenului molecular la cupru	120
II.3.1.	Introducere	120

II.3.2. Metode utilizate	121
II.3.3. Rezultate	122
II.3.4. Bibliografie	126
III. Studii experimentale – Sinteza și caracterizarea unor baze Schiff și calcone tiazolice noi	129
III.1. Introducere	130
III.2. Rezultate și discuții	131
III.3. Materiale și metodă	135
III.4. Bibliografie	144
IV. Concluzii generale	146

Cuvinte cheie: sulfite reductase, sulfur monoxide, DFT, cobalamine, cobinamide, copper bleomycin, thiazole, chalcone, Schiff base

Capitolul I

Primul capitol face o scurtă introducere asupra enzimelor și proteinelor pe bază de hem, din care sunt descrise globinele (inclusiv globinele transportoare de hidrogen sulfurat) precum și citocromii P450 și hem oxigenaza.

Citocromii P450 sunt enzime capabile de a induce modificări oxidative moleculelor endogene și exogene cu scopul sintezei unor produși utili precum și al eliminării unor compuși nedorți. Aceste enzime sunt capabile de a extrage atomi de hidrogen chiar și de la unitățile C-H alifatiche. O reprezentare schematică a ciclului catalitic este dată în **Figura I**. Specia chimică responsabilă de acest proces este o unitate Fe(IV)O^{2-} legată de un radical cation porfirinic ce poartă numele de **Compusul I** (vezi **Figura I**).

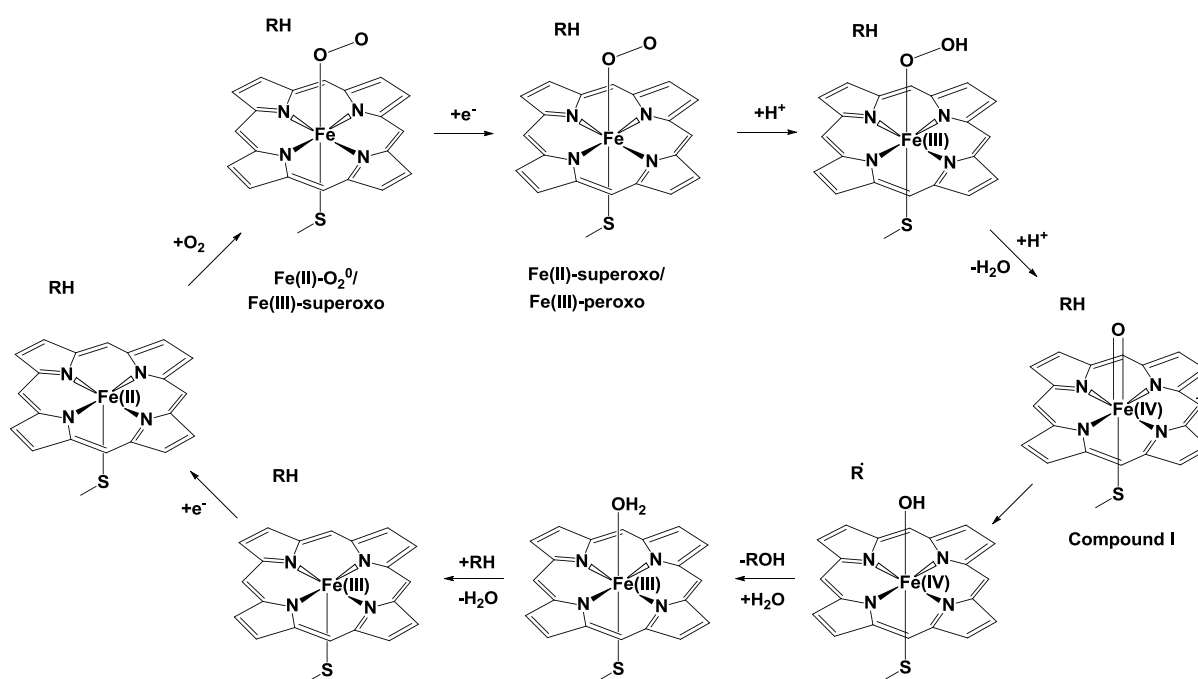


Figura I. Reprezentarea schematică a ciclului catalitic al cytP450 obținută din referințele [1, 2] (ligandul axial cisteinat este înlocuit cu un metiltiolat).

Degradarea hemului în corpul uman este făcută de către enzimele hem oxigenaze și duce la fier, bilirubină și CO. Procesul de degradare decurge prin activarea oxigenului și autooxidare în poziția *mezo* a hemului (gruparea metilen ce leagă inelele pirolice) și este catalizată de hemul însuși [3]. Mai multe detalii ale reacțiilor de tip hem oxigenază sunt date în text. De asemenea, fiecare secțiune relevantă conține o introducere proprie.

Capitolul II

Capitolul II descrie studii computaționale asupra centrului activ al sulfit reductazei, urmate de studii asupra interacțiunii cobalaminelor și cobinamidelor cu o serie de liganzi diferiți. Ultima parte a capitolului ofera un studiu al activării oxigenului molecular și a unor specii înrudite de către bleomicinele cu cupru.

Secțiunea II.1.1.

Sulfit reductaza conține un centru activ pe bază de sirohem și catalizează la nivelul fierului heminic o reducere de șase electroni a sulfitului la sulfură. [4-8]. Astfel, s-a propus un mecanism [9] pentru acest proces, bazat pe informații spectroscopice precum și pe informații oferite de structura cristalină a unor aducți ai sulfit reductazei [4-8]. După primii pași care constau în dehidratări dependente de protoni și electroni, ciclul catalitic continuă cu patru aducți ai SO la nivelul fierului (cu starea de oxidare formală I, II, III și IV).

Acest subcapitol tratează caracterizarea DFT a acestor aducți, concentrându-se în special asupra structurii electronice și geometrice. În acest scop s-au construit o serie de modele ce conțin fier-porfirine legate de axial cu un rest metiltiolat. Trans față de tiolat, s-a legat o moleculă SO neutră, coordonarea făcându-se pe de o parte prin atomii de oxigen și pe de alta prin sulf. Calculele au fost facute cu ajutorul BP86/6-31G**, B3LYP/6-31G* (Spartan 06) și M06-L/6-31G** (Gaussian 09).

O primă observație care poate fi făcută este că diferențele de energie relativă prezise de către cele trei funcționale utilizate aici – B3LYP, BP86 și M06L, sunt în unele cazuri destul de mari – aproape de 20 kcal/mol – chiar și dacă luăm în considerare preferințele pentru o anumită stare de spin sau pentru un anumit izomer de legătură. Acest fapt aduce în vedere necesitatea de a examina întotdeauna tendințe în cadrul unor compuși similari și nu doar cazuri singulare, cel puțin în cazul izomeriei sau al preferinței pentru o anumită stare de spin.

O altă observație generală este că izomerii Fe-SO sunt cei mai probabili să apară în timpul ciclului catalitic – ciclu care este inițiat când o moleculă de sulfit se atașează la fier prin sulf și nu prin oxigen [4-8] – în ciuda faptului că izomerii Fe-SO și Fe-OS sunt adesea degenerați în energie, sugerând ca ar putea fi amândoi observabili și ca o conversie din unul în

altul este facilă termodinamic (calculule facute asupra modelelor cu Fe(II)-SO indică o barieră ce trece foarte puțin de 20 de kcal/mol).

Dintre modelele studiate aici, stările formal descrise ca Fe(I)-SO/OS sunt prezise ca fiind de spin jos. Structura electronică a modelelor Fe(I)-OS/SO este descrisă cel mai bine ca posedând un ligand SO^- de tip superoxo și un cation radical porfirinic, destul de diferit de modelele Fe(I)-O₂, care la un nivel similar de teorie [10] au fost descrise ca Fe(II)-superoxo, fără să conțină un radical pe porfirină. Calcululele arată ca aducții Fe(II)-SO și Fe(II)-OS se comportă în mod esențial izoelectronic cu Fe(II)-O₂, incluzând aici tendința de a favoriza electromerul ce prezintă Fe(III) legat de un SO^- similar cu superoxidul. În privința stărilor formal Fe(III), acestea prezintă legături semnificativ mai slabe între liganzi și atomul de fier (mai ales datorita preferinței pentru stări de spin mai înalte) comparativ cu cele observate la Fe(I)-SO sau Fe(II)-SO. De asemenea, în afară de Fe(III)-SO⁰ nu s-a observat nici un alt electromer care să contribuie semnificativ la structura electronică. Modelele Fe(IV)-SO par să prezinte cele mai slabe legături Fe-S dintre toate cele patru stări de oxidare examinate aici, iar starea de spin înalt favorizată fiind un factor cheie pentru acest fapt. Stările de spin mai joase ale Fe(IV)-SO și Fe(IV)-OS par să conțină niște structuri neîntâlnite anterior, cu ligandul SO atașat ori de azotul porfirinic (astfel de structuri nemaifiind observate experimental anterior [11]) sau la carbonul *mezo* al macrociclului porfirinic, așa cum se poate observa în **Figura II**.

Secțiunea II.1.2.

Acest subcapitol tratează interacțiunea dintre sulfurile anorganice și structurile de tip Compus I ca o încercare teoretică pentru a descrie calea alternativă ultimilor pași ai ciclului catalic al sulfitei reductazei. De asemenea, cu importanță practică sunt indiciile în privința formării sulfhemului, al cărui mecanism de sinteză nu a fost elucidat complet și care a fost propus să apară în urma reacției sulfurii de hidrogen cu hem activat cu oxigen [12-14].

Precum în capitolul anterior, s-au construit o serie de modele ce conțin Fe(III)-porfirină legată axial cu un metiltiolat (pentru sulfite reductază) și cu un imidazol (pentru Compusul I al mioglobinei). Trans față de acești liganzi s-a legat prin oxigen o altă serie de liganzi (sarcinile sunt date în paranteză): OS (2-), OSH (-), OSH₂ (0) and OHSH (0). În continuare s-au făcut optimizări de geometrie utilizând BP86/6-31G** și distanțe O-S fixe pentru a simula asocierea/disocierea fragmentelor ce conțin sulf și oxigen.

Astfel, s-au obținut o serie de rezultate interesante. S-a observat că unele din modele dau reacții de tipul hem oxigenazei în timpul optimizării de geometrie, așa că s-a procedat

spre a compara modelele cu modelele similare Fe-O₂. De asemenea, acest subcapitol conține detalii despre barierele energetice ale proceselor de asociere/disociere, influența trans a ligandului axial (imidazol sau metiltiolat) precum și comparații cu structurile electronice a unor compuși similari prezente în literatură. În încheiere este prezentată o explicație legată de formarea sulfhemului și detalii legate de mecanismul sulfit reductazei.

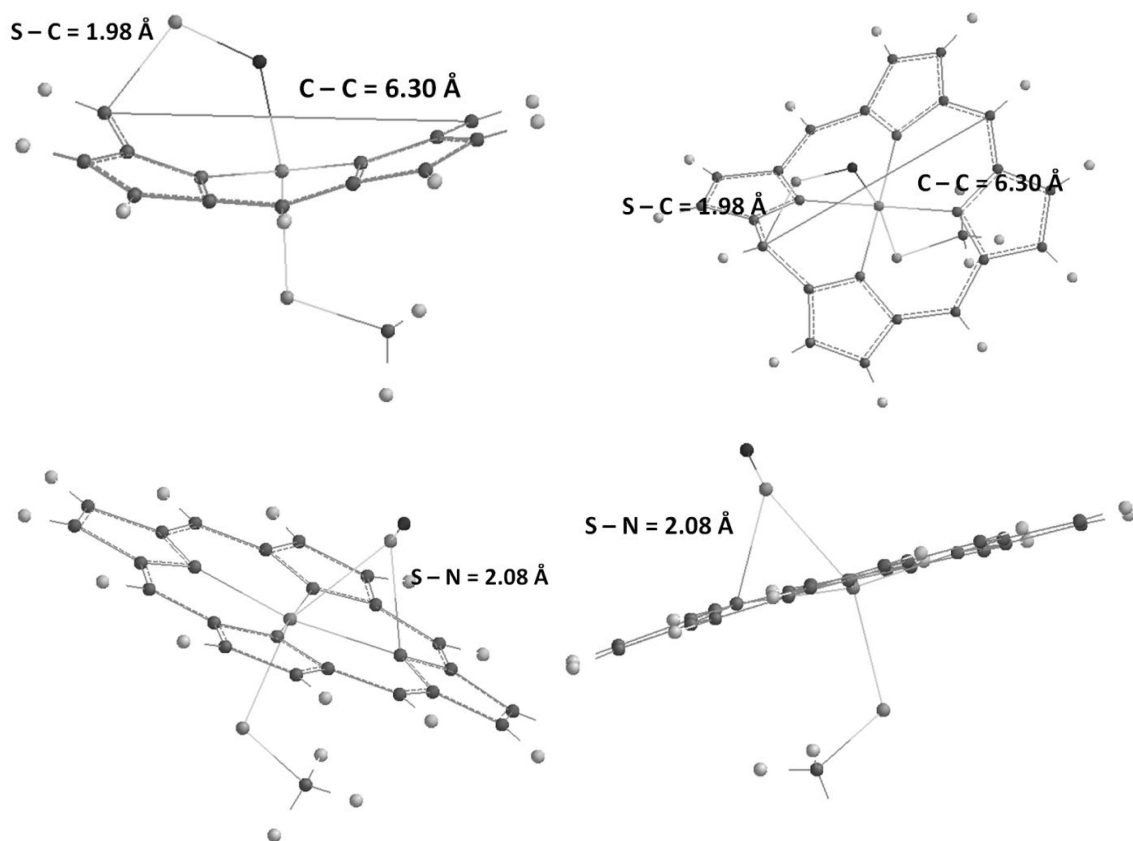


Figura II. Geometrii optimizate pentru Fe(IV)-OS singlet (primul rând, din două perspective) și pentru Fe(IV)-SO triplet (al doilea rând, din două perspective). În figură se pot observa trecute câteva distanțe cheie (distanța C-C meso-spre-meso pentru hemul distorsionat și S-N pentru compusul cu sulf în punte).

Secțiunea II.1.3.

Acest subcapitol tratează ultimele etape ale ciclului catalitic al sulfit reductazei, similar cu subcapitolul anterior, dar studiind în acest caz liganzii legați prin sulf. Din nou, s-au construit modele ce conțin Fe(III)-porfirină cu liganzii SO (2-), SOH (-), SOH₂ (0), SHOH (0) și metiltiolat legat trans față de cei prezentați anterior. În continuare s-au făcut optimizări

de geometrie utilizând BP86/6-31G** și distanțe O-S fixate, în mod similar cu subcapitolul precedent. Toate rezultatele sunt prezentate în detaliu în textul tezei.

Capitolul II.2.

Cobalamina (vitamina B₁₂) este cofactor pentru două enzime prezente în mamifere și conține un macrociclu corinic coordinat cu cobalt [15, 16]. Procesele redox care implică cobalamina și compușii înrudiți, mai exact procesele între Co(III), Co(II) și Co(I), conțin schimbări de coordinare similare cu cele cunoscute în complexii heminici. Coordinarea axială în cazul cobaltului legat de corină depinde de starea formală de oxidare a ionului metalic. Astfel, ca regulă generală, numărul de liganzi axiali scade proporțional cu numărul de oxidare: doi liganzi sunt legați de Co(III), unul singur de Co(II), iar Co(I) nu leagă absolut nici un ligand axial.

Acest capitol tratează reactivitatea cobalt-corinelor cu diferiți liganzi prin prisma metodelor DFT și cineticii chimice determinate prin UV-VIS. Pentru calculele DFT (BP86 și B3LYP folosind 6-31G** ca set de bază) s-au construit modele în care atomul de cobalt (I, II sau III) a fost legat de un macrociclu corinic nesubstituit. Un rest benzimidazolic a fost legat axial pentru a simula forma „base-on” a cobalaminelor. Un set suplimentar de liganzi axiali au fost utilizați, dintre care se pot menționa: apă, hidroxid, cianat, metil, sulfuri și tioli, tiocianat și izotiocianat, oxizi și oxoanioni de azot, dioxid și specii chimice similare, precum și sulfoxilati.

Rezultatele DFT prezentate conțin parametrii geometrici (lungimi de legătură), precum și sarcini parțiale și densități de spin conținute pe diferitele subunități ale modelelor (corină, cobalt, ligand). Din punct de vedere energetic, s-au calculat și energiile de asociere cu liganzii (inclusiv cu benzimidazolul), afinitățile pentru protoni și electroni, precum și preferințele termodinamice între diferiții izomeri în cazul în care acești izomeri există.

Fiecare subsecțiune conține și comparații cu parametrii geometrici cunoscuți din cristalografia de raze X [17-25], energii de reacție determinate experimental [26-31] și rezultate obținute cu metode DFT în alte studii [32-36].

Ca și concluzie generală, s-a observat că BP86 descrie mai bine (dar nu cu foarte mult) geometriile complexelor și afinitățile pentru liganzi dacă se compară cu rezultatele experimentale. De asemenea, s-au obținut rezultate interesante în cazul modelelor formal Co(II) hexacoordinate. Toate detaliile procedurilor experimentale sunt conținute în text.

Capitolul II.3.

Bleomicina este un medicament a cărui acțiune implică chelatarea unui centru metalic urmată de afectarea ADN-ului din celulele vii. Un intermediar cheie în acțiunea anti-ADN a bleomicinei este o specie cunoscută ca bleomicina activată (ABLM), care, pe baza studiilor spectroscopice și teoretice a fost stabilită ca fiind un aduct bleomicină-ferică-peroxo. Datorită instabilității sale, ABLM nu a putut fi caracterizată structural corespunzător [37-39]. Cuprul poate activa și el bleomicina pentru atacul asupra ADN-ului într-un fel similar (dar mult mai puțin eficient) comparativ cu fier-bleomicina [40]. Informațiile privind structura Cu-bleomicinei arată că acest metal se leagă într-un mod foarte similar cu fierul [41, 42].

Capitolul prezentat aici descrie un studiu DFT al activării cupru-bleomicinei de către oxigenul molecular și specii chimice similare utilizând B3LYP cu 6-31G** ca și set de bază. Modelele utilizate sunt descrise în întregime în text împreună cu rezultatele obținute: parametrii geometrici, sarcini parțiale și densități de spin.

Rezultatele obținute arată ca modelele studiate se comportă într-un mod complet diferit comparativ cu aducții ferici în privința coordinării dar și al electromerilor preferați, oferind probabil o cale alternativă pentru afectarea ADN-ului.

Capitolul III.

Tiazolii, calconele și bazele Schiff sunt grupări importante prezente în compuși activi farmacologic [43-55]. În acest capitol este descrisă sinteza inelului tiazolic folosind metoda Hantzsch, urmată de obținerea unei serii de compuși noi: trei calcone tiazolice noi și patru noi baze Schiff tiazolice. De asemenea, capitolul conține caracterizarea RMN și prin spectrometrie de masă a acestor compuși și ai precursorilor utilizați.

References

1. Silaghi-Dumitrescu, R., Cooper, C.E., *Transient species involved in catalytic dioxygen/peroxide activation by hemoproteins: possible involvement of protonated Compound I species*. Dalton Trans., 2005: p. 3477-3482.

2. Meunier, B., S.P. de Visser, and S. Shaik, *Mechanism of oxidation reactions catalyzed by cytochrome p450 enzymes*. Chem Rev, 2004. **104**(9): p. 3947-3980.
3. Kikuchi, G., T. Yoshida, and M. Noguchi, *Heme oxygenase and heme degradation*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2005. **338**(1): p. 558-567.
4. Crane, B.R., L.M. Siegel, and E.D. Getzoff, *Sulfite reductase structure at 1.6 Å: evolution and catalysis for reduction of inorganic anions*. Science, 1995. **270**(5233): p. 59-67.
5. Crane, B.R., L.M. Siegel, and E.D. Getzoff, *Probing the catalytic mechanism of sulfite reductase by X-ray crystallography: structures of the Escherichia coli hemoprotein in complex with substrates, inhibitors, intermediates, and products*. Biochemistry, 1997. **36**(40): p. 12120-37.
6. Crane, B.R., L.M. Siegel, and E.D. Getzoff, *Structures of the siroheme- and Fe4S4-containing active center of sulfite reductase in different states of oxidation: heme activation via reduction-gated exogenous ligand exchange*. Biochemistry, 1997. **36**(40): p. 12101-19.
7. Crane, B.R., H. Bellamy, and E.D. Getzoff, *Multiwavelength anomalous diffraction of sulfite reductase hemoprotein: making the most of MAD data*. Acta Crystallogr D Biol Crystallogr, 1997. **53**(Pt 1): p. 8-22.
8. Crane, B.R. and E.D. Getzoff, *The relationship between structure and function for the sulfite reductases*. Curr Opin Struct Biol, 1996. **6**(6): p. 744-56.
9. Silaghi-Dumitrescu, R. and S.V. Makarov, *Siroheme-containing sulfite reductase: a density functional investigation of the mechanism*. Int. J. Quant. Chem., 2012. **112**(3): p. 900-908.
10. Silaghi-Dumitrescu, R. and C.E. Cooper, *Transient species involved in catalytic dioxygen/peroxide activation by hemoproteins: possible involvement of protonated Compound I species*. Dalton Trans., 2005: p. 3477-3482.
11. Silaghi-Dumitrescu, R., *Fe(IV)-Fe(II) electromerism in hemoprotein complexes: implications for ferryl chemistry*. Proc. Rom. Acad. Series B, 2006. **2-3**: p. 95-101.
12. Scharberg, M.A. and G.N. La Mar, *Sulfmyoglobin Derived from Deuterohemin Reconstituted Protein. 2. Molecular and Electronic Structure Determination of Two Extracted Prosthetic Groups*. J. Am. Chem. Soc., 1993. **115**: p. 6522-6528.
13. Chatfield, M.J. and G.N. La Mar, *¹H Nuclear Magnetic Resonance Study of the Prosthetic Group in Sulfhemoglobin*. Arch. Biochem. Biophys., 1992. **295**(2): p. 289-296.
14. Chatfield, M.J., G.N. La Mar, and R.J. Kauten, *Proton NMR Characterization of Isomeric Sulfmyoglobins: Preparation, Interconversion, Reactivity Patterns, and Structural Features*. Biochemistry, 1987. **26**: p. 6939-6950.
15. Brown, K.L., *Chemistry and Enzymology of Vitamin B12*. Chemical Reviews, 2005. **105**(6): p. 2075-2150.
16. Dorweiler, J.S., R.G. Finke, and R.G. Matthews, *Cobalamin-Dependent Methionine Synthase: Probing the Role of the Axial Base in Catalysis of Methyl Transfer between Methyltetrahydrofolate and Exogenous Cob(I)alamin or Cob(I)inamide[†]*. Biochemistry, 2003. **42**(49): p. 14653-14662.
17. Kratky, C., et al., *Accurate Structural Data Demystify B12: High-Resolution Solid-State Structure of Aquacobalamin Perchlorate and Structure Analysis of the Aquacobalamin Ion in Solution*. Journal of the American Chemical Society, 1995. **117**(16): p. 4654-4670.
18. Mebs, S., et al., *Electron Densities of Three B12 Vitamins*. The Journal of Physical Chemistry A, 2009. **113**(29): p. 8366-8378.
19. Randaccio, L., et al., *Similarities and Differences between Cobalamins and Cobaloximes. Accurate Structural Determination of Methylcobalamin and of LiCl- and KCl-Containing Cyanocobalamins by Synchrotron Radiation*. Inorganic Chemistry, 2000. **39**(15): p. 3403-3413.
20. Ouyang, L., et al., *Electronic structure and bonding in hydroxocobalamin*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2005. **61**(7): p. 1647-1652.
21. Perry, Christopher B., et al., *Probing the Nature of the CoIII Ion in Cobalamins – Spectroscopic and Structural Investigations of the Reactions of Aquacobalamin (Vitamin B12a) with*

- Ambident Nucleophiles*. European Journal of Inorganic Chemistry, 2003. **2003**(11): p. 2095-2107.
22. Garau, G., et al., *Crystal chemistry and binding of NO₂, SCN and SeCN to Co in cobalamins*. Acta Crystallographica Section B, 2003. **59**(1): p. 51-59.
 23. Hannibal, L., et al., *Nitroxylcob(III)alamin: Synthesis and X-ray Structural Characterization*. Angewandte Chemie International Edition, 2007. **46**(27): p. 5140-5143.
 24. Hassanin, H.A., et al., *Redetermination of the X-ray structure of nitroxylcobalamin: base-on nitroxylcobalamin exhibits a remarkably long Co-N(dimethylbenzimidazole) bond distance*. Dalton Transactions, 2010. **39**(44): p. 10626-10630.
 25. Rossi, M., et al., *The structure of a B12 coenzyme: methylcobalamin studies by x-ray and NMR methods*. Journal of the American Chemical Society, 1985. **107**(6): p. 1729-1738.
 26. Wolak, M., et al., *Kinetics and mechanism of the reversible binding of nitric oxide to reduced cobalamin B(12r) (Cob(II)alamin)*. J Am Chem Soc, 2001. **123**(40): p. 9780-91.
 27. Martin, B.D. and R.G. Finke, *Cobalt-carbon homolysis and bond dissociation energy studies of biological alkylcobalamins: methylcobalamin, including a.g.toreq.1015 Co-CH₃ homolysis rate enhancement at 25.degree. following one-electron reduction*. Journal of the American Chemical Society, 1990. **112**(6): p. 2419-2420.
 28. Martin, B.D. and R.G. Finke, *Methylcobalamin's Full- vs. Half-Strength Cobalt-Carbon sigma Bonds and Bond Dissociation Enthalpies: A>10¹⁵ Co-CH₃ Homolysis Rate Enhancement following One-Antibonding-Electron Reduction of Methlycobalamin*. Journal of the American Chemical Society, 1992. **114**(2): p. 585-592.
 29. Hung, R.R. and J.J. Grabowski, *Listening to Reactive Intermediates: Application of Photoacoustic Calorimetry to Vitamin B12 Compounds*. Journal of the American Chemical Society, 1999. **121**(6): p. 1359-1364.
 30. Joerin, E., A. Schweiger, and H.H. Guenthard, *Single-crystal EPR of the oxygen-17-enriched dioxygen adduct of vitamin B12r: reversible oxygen bonding, electronic and geometric structure and molecular dynamics*. Journal of the American Chemical Society, 1983. **105**(13): p. 4277-4286.
 31. Van Doorslaer, S., A. Schweiger, and B. Kräutler, *A Continuous Wave and Pulse EPR and ENDOR Investigation of Oxygenated Co(II) Corrin Complexes*. The Journal of Physical Chemistry B, 2001. **105**(31): p. 7554-7563.
 32. Rutkowska-Zbik, D., M. Jaworska, and M. Witko, *Application of the DFT Theory to Study Cobalamin Complexes*. Structural Chemistry, 2004. **15**(5): p. 431-435.
 33. Rutkowska-Zbik, D., M. Witko, and G. Stochel, *Ligand binding properties of cobalamins*. Theoretical Chemistry Accounts: Theory, Computation, and Modeling (Theoretica Chimica Acta), 2008. **120**(4): p. 411-419.
 34. Selçuki, C., R. van Eldik, and T. Clark, *NO Binding to Cobalamin: Influence of the Metal Oxidation State*. Inorganic Chemistry, 2004. **43**(9): p. 2828-2833.
 35. Kuta, J., et al., *Performance of DFT in modeling electronic and structural properties of cobalamins*. Journal of Computational Chemistry, 2006. **27**(12): p. 1429-1437.
 36. Jensen, K.P. and U. Ryde, *Theoretical Prediction of the Co-C Bond Strength in Cobalamins*. The Journal of Physical Chemistry A, 2003. **107**(38): p. 7539-7545.
 37. Decker, A., et al., *Direct hydrogen-atom abstraction by activated bleomycin: an experimental and computational study*. J Am Chem Soc, 2006. **128**(14): p. 4719-33.
 38. Kemsley, J.N., et al., *Spectroscopic studies of the interaction of ferrous bleomycin with DNA*. J Am Chem Soc, 2003. **125**(36): p. 10810-21.
 39. Lehnert, N., et al., *Electronic structure and reactivity of low-spin Fe(III)-hydroperoxo complexes: comparison to activated bleomycin*. J Am Chem Soc, 2002. **124**(36): p. 10810-22.
 40. Suzuki, T., J. Kuwahara, and Y. Sugiura, *Copper-bleomycin has no significant DNA cleavage activity*. Biochemistry, 1985. **24**(18): p. 4719-21.

41. Sugiyama, M., et al., *The 1.6-Å crystal structure of the copper(II)-bound bleomycin complexed with the bleomycin-binding protein from bleomycin-producing Streptomyces verticillus*. J Biol Chem, 2002. **277**(3): p. 2311-20.
42. Danshiitsoodol, N., et al., *The mitomycin C (MMC)-binding protein from MMC-producing microorganisms protects from the lethal effect of bleomycin: crystallographic analysis to elucidate the binding mode of the antibiotic to the protein*. J Mol Biol, 2006. **360**(2): p. 398-408.
43. Block, J. and J.M. Beale, *Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*. Eleventh Edition ed2003: Lippincott Williams and Wilkins. 303-14, 265, 381, 507, 671-2, 721.
44. da Silva, C.M., et al., *Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities*. Journal of Advanced Research, 2011. **2**(1): p. 1-8.
45. Kumar, S., D.N. Dhar, and P.N. Saxena, *Applications of metal complexes of Schiff bases-A review*. Journal of Scientific & Industrial Research, 2009. **68**: p. 181-187.
46. Ngameni, B., et al., *Inhibition of MMP-2 secretion from brain tumor cells suggests chemopreventive properties of a furanocoumarin glycoside and of chalcones isolated from the twigs of Dorstenia turbinata*. Phytochemistry, 2006. **67**(23): p. 2573-2579.
47. Wirasathien, L., et al., *Cytotoxic C-benzylated chalcone and other constituents of Ellipeiopsis cherreensis*. Arch Pharm Res, 2006. **29**(6): p. 497-502.
48. Wei, B.-L., et al., *Synthetic 2',5'-dimethoxychalcones as G2/M arrest-mediated apoptosis-inducing agents and inhibitors of nitric oxide production in rat macrophages*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2007. **42**(5): p. 660-668.
49. De Vincenzo, R., et al., *In vitro evaluation of newly developed chalcone analogues in human cancer cells*. Cancer Chemotherapy and Pharmacology, 2000. **46**(4): p. 305-312.
50. Zhang, X.-W., et al., *Synthesis and evaluation of antiinflammatory activity of substituted chalcone derivatives*. Medicinal Chemistry Research, 2010. **19**(4): p. 403-412.
51. Yang, H.-M., et al., *Structural requirement of chalcones for the inhibitory activity of interleukin-5*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2007. **15**(1): p. 104-111.
52. Simiti, I., et al., *Heterocyclen, 67. Mitt.: Darstellung und Charakterisierung einiger 2-(2-Aryl-thiazol-4-yl)-3-hydroxy-chromone*. Archiv der Pharmazie, 1991. **324**(11): p. 913-915.
53. Awasthi, S., et al., *Potent antimalarial activity of newly synthesized substituted chalcone analogs in vitro*. Medicinal Chemistry Research, 2009. **18**(6): p. 407-420.
54. Jayasinghe, L., et al., *Geranyl chalcone derivatives with antifungal and radical scavenging properties from the leaves of Artocarpus nobilis*. Phytochemistry, 2004. **65**(9): p. 1287-1290.
55. Shukla, P., et al., *Chalcone based aryloxypropanolamines as potential antihyperglycemic agents*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2007. **17**(3): p. 799-802.