



**UNIWERSYTET MEDYCZNY**  
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

**Natura oddziaływań  
międzycząsteczkowych w układach  
o istotnym znaczeniu biologicznym**

**dokumentacja do wniosku o wszczęcie  
postępowania habilitacyjnego**

Żaneta Czyżnikowska

Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej  
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich  
we Wrocławiu

Wrocław, 24. 03. 2017

**a) Tytuł osiągnięcia naukowego**

„Natura oddziaływań międzycząsteczkowych w układach o istotnym znaczeniu biologicznym”

**b) Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art. 16 ust. 2 ustawy**

Odnośniki do prac zostały oznaczone literą [H]. Dla wszystkich 12 publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe, podaję wartości wskaźnika Impact Factor (IF) czasopism. Dane te są zgodne z Journal Citation Reports i dotyczą lat, w których ukazały się prace. Symbolem „\*” oznaczyłam wskazanych autorów do korespondencji. Prace stanowiące podstawę osiągnięcia naukowego zacytowane były 107 razy a ich sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF) wynosi 25,95

**Prace z cyklu habilitacyjnego**

**H1.** Żaneta Czyżnikowska\*, Robert Zaleśny, Marcin Ziólkowski, Robert W. Góra, Piotr Cysewski.: The nature of interactions in uracil dimer: an ab initio study *Chem. Phys. Lett.* **2007** 450 1-3; 132-137 (IF:2,207)

**H2.** Piotr Cysewski\*, Żaneta Czyżnikowska, Robert Zaleśny, Przemysław Czeleń.: The post-SCF quantum chemistry characteristics of the guanine-guanine stacking in B-DNA *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008** 10 19; 2665-2672 (IF:4,064)

**H3.** Żaneta Czyżnikowska, Robert Zaleśny, Piotr Cysewski\*.: Quantum chemical study of the nature of stacking interactions of 2-oxo-adenine with native B-DNA purines *Pol. J. Chem.* **2008** 82 12; 2269-2279 (IF:0,518)

**H4.** Żaneta Czyżnikowska\*, Robert Zaleśny.: Theoretical insights into the nature of intermolecular interactions in cytosine dimer *Biophys.Chem.* **2009** 139 2-3; 137-143 (IF: 2,276)

**H5.** Żaneta Czyżnikowska\*.: How does modification of adenine by hydroxyl radical influence the stability and the nature of stacking interactions in adenine-cytosine complex? *J. Mol. Model.* **2009** 15 6; 615-622 (IF:2,336)

**H6.** Żaneta Czyżnikowska\*.: On the importance of electrostatics in stabilization of stacked guanine-adenine complexes appearing in B-DNA crystals *J. Mol. Struct. - Theochem* **2009** 895 1-3; 161-167 (IF: 1,216)

**H7.** Żaneta Czyżnikowska\*, Robert W. Góra, Robert Zaleśny, Paweł Lipkowski, Katarzyna N. Jarzemska, Paulina M. Dominiak, Jerzy Leszczyński.: Structural variability and the nature of intermolecular interactions in Watson-Crick B-DNA base pairs *J. Phys. Chem. B* **2010** 114 29; 9629-9644 (IF: 3,603)

**H8.** Żaneta Czyżnikowska\*, Wojciech Bartkowiak\*.: Physical origins of the stability of aromatic amino acid core ring-polycyclic hydrocarbon complexes: a post-hartree-fock and density functional study *J. Comput. Chem.* **2011** 32 9; 1887-1895 (IF: 4,583)

**H9.** Żaneta Czyżnikowska\*, Robert W. Góra\*, Robert Zaleśny, Wojciech Bartkowiak, Angelika Baranowska-Łączkowska, Jerzy Leszczyński.: The effect of intermolecular interactions on the electric dipole polarizabilities of nucleic acid base complexes *Chem. Phys. Lett.* **2013** 555; 230-234 (IF: 1,991)

**H10.** Tomasz Misiaszek\*, Żaneta Czyżnikowska\*.: The nature of interactions in nicotinamide crystal *J. Mol. Graph. Model.* **2014** 51; 73- 78 (IF: 1,722)

**H11.** Przemysław Czeleń\*, Żaneta Czyżnikowska\*, Physical nature of intermolecular interactions inside Sir2 homolog active site: Molecular dynamics and ab initio study. *J. Mol. Mod.* **2016** 22; 1-7 (IF: 1,438)

**H12.** Rozdział w monografii: Żaneta Czyżnikowska\*, Robert Zaleśny, Manthos G. Papadopoulos.: Nucleic Acid Base Complexes: Elucidation of the Physical Origins of Their Stability Ed.: Jerzy Leszczyński, Manoj K. Shukla, *Practical aspects of computational chemistry: Methods, Concepts and applications* **2009**, 387-397

**c) Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania**

**Cel naukowy**

Celem przeprowadzonych badań, które zostały podsumowane w w/w pracach była charakterystyka kompleksów molekularnych odgrywających istotne znaczenie z punktu widzenia medycyny lub biochemii. Szczególne miejsce w podjętych badaniach zajmuje natura oddziaływań determinujących strukturę i dynamikę kwasów nukleinowych. Ponadto istotne dla mnie zagadnienie stanowi analiza oddziaływań będących podstawą rozpoznawania molekularnego. Ze względu na różnorodność analizowanych układów i ciągły rozwój metod chemii obliczeniowej, w cyklu przedstawionych prac podjęłam również wątek dotyczący analizy porównawczej stosowanych metod obliczeniowych.

**Wstęp**

Na osiągnięcie naukowe będące podstawą ubiegania się o stopień doktora habilitowanego składa się cykl 11 prac naukowych i rozdział w monografii. Prace te zostały przeze mnie wybrane spośród 37 artykułów naukowych, które powstały na przełomie lat 2007-2017 z moim udziałem, po uzyskaniu stopnia doktora nauk chemicznych.

Główny nurt prowadzonych przeze mnie badań dotyczył natury oddziaływań międzycząsteczkowych w szerokiej grupie związków o znaczeniu biologicznym. Tematyka, którą się zajęłam stanowi kontynuację moich wcześniejszych zainteresowań rozwijanych w trakcie realizowania pracy doktorskiej. Z tego też powodu, tuż po uzyskaniu stopnia doktora, podjęłam wątek badawczy dotyczący charakteru oddziaływań w kompleksach zasad kwasów nukleinowych, zarówno tych natywnych jak i układów zmodyfikowanych działaniem rodnika hydroksylowego [H1]-[H7], [H9], [H12].

Ze względu na ich różnorodność i istotne znaczenie w biochemii i medycynie interesującym dla mnie zagadnieniem stały się również oddziaływania stabilizujące kompleksy tworzone przez fragmenty białek, zasady azotowe DNA i RNA oraz cząsteczki związków o potencjalnym zastosowaniu w medycynie [praca 3 punktu b) wykazu innych prac opublikowanych po doktoracie], [H8], [H11]. Jest to szczególnie ważne zagadnienie ze względu na znaczenie tego typu oddziaływań między innymi w regulacji ekspresji genów, utrzymaniu integralności genomu, naprawy uszkodzeń oraz podczas opracowania leków oddziałujących w określonym miejscu genomu lub układu enzymatycznego.

W mojej ocenie, interesującym wątkiem badawczym jest również projektowanie czy modulowanie właściwości substancji leczniczych w taki sposób aby podnieść ich

aktywność i dostępność biologiczną. Dlatego też w ciągu ostatniej dekady dał się zaobserwować znaczący wzrost zainteresowania badaniami farmaceutycznych ko-kryształów. Jednym z pierwszych etapów takiego projektowania jest dokładny opis oddziaływań międzycząsteczkowych (ich siły oraz natury) pomiędzy substancją leczniczą a molekułami formy współtworzącej (ang. *co-former*). Jedną z prac cyklu habilitacyjnego wpisuje się w ten nurt badań [H10].

### **Natura oddziaływań międzycząsteczkowych natywnych par zasad kwasów nukleinowych**

Wykonane w ostatnich dwóch dekadach obliczenia *ab initio* dla izolowanych kompleksów natywnych zasad kwasów nukleinowych pozwoliły ugruntować wiedzę o ich strukturze oraz stabilności. Przy użyciu metod chemii kwantowej wyznaczone zostały dokładne energie oddziaływania dla par zasad Watsona-Cricka, dla niekanonicznych par (purynowych oraz pirymidynowych) stabilizowanych wiązaniami wodorowymi oraz dla układów stabilizowanych oddziaływaniami warstwowymi (ang. *stacking interactions*) [1-4].

Należy w tym miejscu nadmienić, iż zdecydowana większość badań przeprowadzona była jedynie dla pojedynczych struktur wybranych z bazy danych krystalograficznych, struktur o "uśrednionej" geometrii bądź też struktur zoptymalizowanych metodami obliczeniowymi chemii kwantowej [5-7]. Początkowo stosunkowo niewiele uwagi poświęcono systematycznej analizie zależności właściwości energetycznych kompleksów zasad kwasów nukleinowych od parametrów opisujących ich wzajemne ułożenie w nici DNA [8-9]. Późniejsze badania pokazały, iż geometria kompleksów ma znaczny wpływ między innymi na procesy transportu nośników ładunku w DNA [10].

Jedne z najważniejszych w tym kontekście prac dotyczących natury oddziaływań międzycząsteczkowych w kompleksach zasad kwasów nukleinowych zostały opublikowane przez Toczyłowskiego i Cybulskiego [7, 11]. W pracach przeanalizowano około 30 kompleksów, ale parametry opisujące międzycząsteczkowe geometrie odbiegały od tych dostępnych w bazach krystalograficznych. W tym kontekście należy wspomnieć, że w roku 2006 Hesselmann przeprowadził badania fizycznych źródeł oddziaływania w kompleksach zasad kwasów nukleinowych, jednakże liczba struktur jakie uwzględnił była stosunkowo niewielka, biorąc pod uwagę znaczącą swobodę konformacyjną w tej klasie kompleksów. Niezadawalająca ilość danych dotyczących natury oddziaływań międzycząsteczkowych dla kompleksów zasad nukleinowych stanowiła jeden

z najważniejszych impulsów do kontynuacji omawianego wątku. W uzupełnieniu tej luki niezwykle cenna była dla mnie pomoc dr hab. Roberta Góry z Politechniki Wrocławskiej, który jest autorem oprogramowania pozwalającego na dekompozycję energii oddziaływania wyznaczonej metodą Møllera-Plessetta w oparciu o schemat wariacyjno-perturbacyjny [12-15].

W podejściu tym całkowitą energię oddziaływania wyznacza się supermolekularnie jako różnicę pomiędzy energią kompleksu a energiami izolowanych monomerów. Całkowitą energię oddziaływania obliczoną metodą rachunku zaburzeń Møllera-Plessetta  $\Delta E^{MP2}$  w dimerze podzielić można na następujące składowe o dobrze zdefiniowanej interpretacji fizycznej [12-15]:

$$\begin{aligned} \Delta E^{MP2} &= \Delta E^{HF} + \Delta E_{MP}^2 & 1. \\ \Delta E^{HF} &= \Delta E^{HL} + E_{del}^{HF} = \varepsilon_{el}^{(10)} + \varepsilon_{ex}^{HL} + \Delta E_{del}^{HF} & 2. \\ \Delta E_{MP}^2 &= \varepsilon_{el,r}^{(12)} + \varepsilon_{disp}^{(20)} + \Delta E_{del}^{(2)} + \Delta E_{ex}^{(2)} & 3. \end{aligned}$$

Energia ta ( $\Delta E^{MP2}$ ) jest sumą energii Hartree-Focka analizowanego układu ( $\Delta E^{HF}$ ) wartości energii i korelacji kulombowskiej ruchu elektronów ( $\Delta E_{MP}^2$ ). ( $\Delta E^{HF}$ ) stanowi sumę składowych elektrostatycznej ( $\varepsilon_{el}^{(10)}$ ) i wymiennej ( $\varepsilon_{ex}^{HL}$ ) oraz energii delokalizacji ( $\Delta E_{del}^{HF}$ ). Składowa korelacyjna drugiego rzędu ( $\Delta E_{MP}^2$ ) stanowi sumę poprawki elektrostatycznej ( $\varepsilon_{el,r}^{(12)}$ ), składowej delokalizacyjnej ( $\Delta E_{del}^{(2)}$ ) i wymiennej ( $\Delta E_{ex}^{(2)}$ ) wyznaczonych w drugim rzędzie rachunku zaburzeń oraz energii dyspersyjnej ( $\varepsilon_{disp}^{(20)}$ ).

Ponadto w analizie natury oddziaływań międzycząsteczkowych wykorzystałam metodę DFT-SAPT (ang. *Symmetry-Adapted Perturbation Theory*) [16-18], którą można stosować dla molekuł oddziałujących ze sobą na średnich odległościach. Rachunek zaburzeń o adaptowanej symetrii w oparciu o opis energii monomerów metodą Kohna-Shama pozwala na następujące zdefiniowanie całkowitej energii oddziaływania DFT-SAPT:

$$E^{SAPT-DFT} = E_{el}^{(1)} + E_{ex}^{(1)} + E_{ind}^{(2)} + E_{ex-ind}^{(2)} + E_{disp}^{(2)} + E_{ex-disp}^{(2)} \quad 4.$$

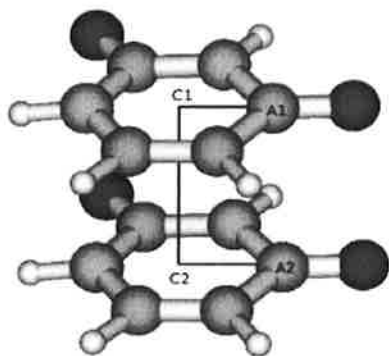
W pierwszym rzędzie rachunku zaburzeń dla stanu podstawowego molekuł otrzymuje się energię oddziaływania elektrostatycznego odpowiadającą oddziaływaniu kulombowskiemu rozkładów gęstości ładunku molekuł. W drugim rzędzie rachunku zaburzeń dostajemy sumę energii indukcyjnej i dyspersyjnej. Dodatkowo w rachunku zaburzeń o adaptowanej symetrii otrzymujemy człony typu wymiennego w każdym rzędzie rachunku zaburzeń.

W pracach [H1]-[H6] przeanalizowałam naturę oddziaływań dla następujących par U-U [H1], G-G [H2], C-C [H4], G-A [H6] oraz G-C i A-T [H7] i [H9]. W dalszej części tej sekcji omówione zostaną najważniejsze rezultaty uzyskane w wyniku przeprowadzonych badań.

Pierwszym kompleksem szczegółowo przeze mnie przeanalizowanym był dimer uracylu w ułożeniu warstwowym, który stanowi układ modelowy dla oddziaływań zasad azotowych w cząsteczkach kwasów nukleinowych. Pierwsza praca z cyklu habilitacyjnego [H1] stanowi podsumowanie badań dla tego układu i zawiera systematyczną analizę wpływu wzajemnej orientacji cząsteczek w dimerze na wartość całkowitej energii oddziaływania, ale przede wszystkim na jej składowe. Obliczenia zostały wykonane w funkcji dwóch parametrów strukturalnych warunkujących wzajemne rozmieszczenie podukładów w kompleksie. Taki wybór pozwolił w przybliżony sposób opisać wzajemne ułożenie zasad oddziałujących ze sobą w warstwach. Parametr *twist* określał wzajemne skrócenie płaszczyzn zasad względem siebie a *rise* odpowiadała odległości pomiędzy oddziałującymi cząsteczkami [Rycina 1].

Całkowita energia oddziaływania w tym układzie została wyznaczona w oparciu o metodę supermolekularną z uwzględnieniem poprawki równoważenia bazowego (ang. *counterpoise correction*) [19].

Ważnym wnioskiem wynikającym z uzyskanych rezultatów było wykazanie, iż składowe międzycząsteczkowej energii oddziaływania w dużo większym stopniu zależą od wzajemnego ułożenia zasad niż całkowita energia. Szczególnie istotna kierunkowość oddziaływań została zaobserwowana w przypadku składowej elektrostatycznej. Zmiana położenia monomerów w kompleksie nie wpływa natomiast znacząco na wartość pozostałych składowych stabilizujących układ tj. drugorzędowej energii dyspersyjnej oraz energii związanej z delokalizacją.

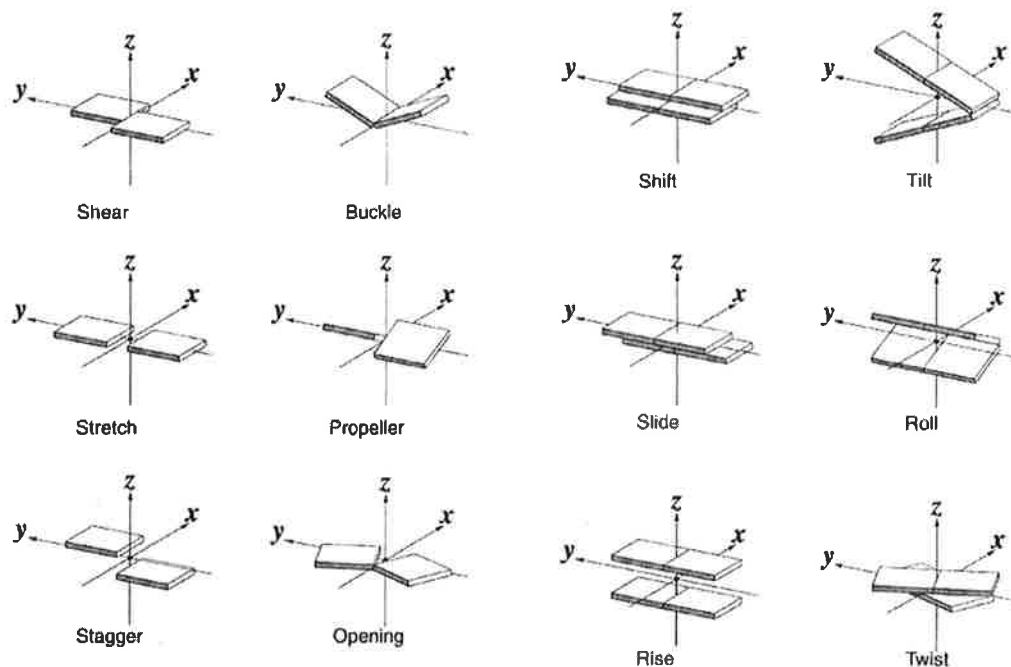


Rycina 1. Dimer uracylu. Odcinek C1-C2 określa odległość pomiędzy pierścieniami (parametr *rise*). A2-C2-C1-A1 definiuje *twist*.

Kolejne prace [H2]-[H7] są próbą systematycznego opisu wpływu geometrii na energetykę kompleksów natywnych zasad kwasów nukleinowych w szerokiej i zróżnicowanej grupie układów. Analiza obejmowała kompleksy dwuciałowe (pary zasada azotowa - zasada azotowa) głównie w geometriach odpowiadających rezultatom pomiarów rentgenograficznych zarówno stabilizowane wiązaniem wodorowym jak i oddziaływaniami warstwowymi.

Dostępne dane literaturowe wskazują jednoznacznie, iż B-DNA i inne formy kwasów nukleinowych wykazują znaczącą konformacyjną różnorodność [20]. Właśnie ta strukturalna różnorodność kwasów nukleinowych odgrywa kluczową rolę w przenoszeniu informacji podczas translacji oraz w procesie rozpoznawania molekularnego. Jednym z celów moich badań było zbadanie zależności składowych energii oddziaływania międzycząsteczkowego od wyznaczonych eksperymentalnie (metodami krystalografii rentgenowskiej) parametrów strukturalnych opisujących wzajemne ułożenie zasad w B-DNA [21]. Parametry te zostały zaprezentowane na Rycinie 2.

Wspomniane wyżej prace [H2], [H4], [H6], [H7], [H12] dostarczyły szczegółowych informacji o energetyce szerokiej grupy kompleksów. W sumie przebadane zostało około 130 par w ułożeniu warstwowym oraz blisko 100 par stabilizowanych wiązaniem wodorowym.

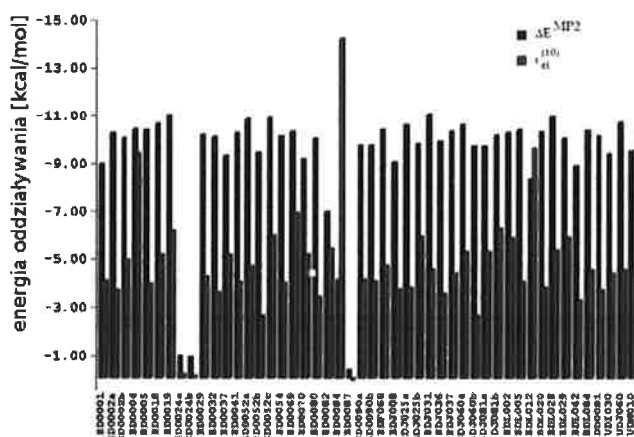


Rycina 2. Parametry strukturalne opisujące wzajemne ułożenie zasad kwasów nukleinowych w parze Watsona-Cricka i w ułożeniach warstwowym.



W znakomitej większości analizowanych przypadków całkowita energia oddziaływania i jej składowe były wyznaczone w oparciu o metodę MP2 i bazę funkcyjną aug-cc-pVDZ. Powszechnie wiadomo, że metoda MP2 przeszacowuje dyspersyjną część oddziaływań, dlatego też w wielu wypadkach zastosowano metody SCS-MP2 oraz CCSD. Dla wybranych układów przeprowadzono obliczenia stosując większe bazy funkcyjne, ale model, który został przeze mnie wybrany dawał jakościowo poprawne rezultaty. Ponadto należy nadmienić, iż w stosowanej przeze mnie metodzie DFT-SAPT uwzględnione są już efekty relaksacyjne.

Na uwagę zasługuje fakt, iż całkowita energia oddziaływania w znacznym stopniu zależy od sekwencyjnego położenia zasad azotowych w badanym dimerze. Jak już zostało to wcześniej potwierdzone przez innych autorów [1-5] pary zasad w ułożeniu warstwowym stabilizuje przede wszystkim składowa dyspersyjna. Wyznaczona w pierwszym rzędzie rachunku zaburzeń energia elektrostatyczna odgrywa także znaczącą rolę (pary T/A, A/A, A/G i G/A), ale w większości analizowanych przypadków jest kompensowana przez energię wymienną o destabilizującym charakterze. Należy tutaj podkreślić szczególny wpływ wzajemnego ułożenia zasad kwasów nukleinowych w warstwach na wartość składowej elektrostatycznej. Rycina 3 przedstawia pierwszorzędową składową elektrostatyczną oraz całkowitą energię oddziaływania wyznaczone dla 54 krystalograficznych struktur w kompleksie guanina-adenina. Średnia wartość elektrostatycznej składowej energii oddziaływania w tej grupie wynosiła -4,7 kcal/mol podczas gdy największa wartość tej energii wynosiła aż -14,2 kcal/mol.



Rycina 3. Całkowita energia oddziaływania i składowa elektrostatyczna dla 54 struktur guanina-adenina.

Rezultaty jakie uzyskałam dla większości analizowanych kompleksów stabilizowanych oddziaływaniami warstwowymi wykazały, iż różne składowe energii oddziaływania międzycząsteczkowego w różny sposób zależą od parametrów strukturalnych warunkujących położenie zasad w dimerze. Parametry *slide*, *twist* i *rise* w znacznym stopniu wpływają na wartość składowej elektrostatycznej. Znaczna kierunkowość charakteryzuje oddziaływania dyspersyjne w przypadku kiedy zmianom ulegają parametry *tilt*, *rise* and *shift*.

W pracy oznaczonej jako [H7] razem ze współpracownikami z Zakładu Chemii Teoretycznej Politechniki Wrocławskiej i Laboratorium Krystalochemii Uniwersytetu Warszawskiego przeprowadziliśmy systematyczną analizę anizotropii składowych energii oddziaływania względem parametrów strukturalnych zaczerpniętych z bazy danych krystalograficznych. Ponadto, aby zbadać wpływ strukturalnej różnorodności par Watsona-Cricka na siłę wiązań wodorowych wykonaliśmy analizę topologiczną gęstości elektronowej badanych kompleksów przy użyciu metody AIM (ang. *Atoms in Molecules*) zaproponowanej przez Badera [22]. Rezultaty moich obliczeń pokazały, że pierwszorzędowa energia elektrostatyczna jest największą co do wartości bezwzględnej składową stabilizującą, która jest jednak całkowicie kompensowana przez oddziaływania wymienne. W związku z powyższym całkowita stabilizacja analizowanych par Watsona-Cricka pochodzi głównie od składowej delokalizacyjnej związanej z wpływem wzajemnej polaryzacji gęstości ładunków monomerów i związanego z tym odpychania Pauliego. Na stabilność analizowanych układów ma wpływ w niewielkim stopniu także składowa dyspersyjna, której znaczenie nie jest jednak istotne ze względu na efekty korelacyjno-wymienne. W przypadku par tworzonych przez guaninę i cytozynę zaobserwowaliśmy większą anizotropię składowych energii oddziaływania. Największy wpływ na zmianę wartości energii mają parametry związane z przesunięciem zasad, za które odpowiadają parametr *stretch* i *shear* (Rycina 2). Przeprowadzona analiza topologiczna parametrów wiązań wodorowych na analizowanej grupie kompleksów wykazała ich częściowo kowalencyjny charakter dla małych odległości międzycząsteczkowych.

Kolejny artykuł z cyklu [H9] jest kontynuacją prowadzonych wcześniej badań dla wszystkich przeanalizowanych przeze mnie par Watsona - Cricka oraz dla dimerów cytozyny w ułożeniu warstwowym. W pracy tej przeprowadzoną wcześniej analizę rozszerzyliśmy o właściwości elektrooptyczne indukowane oddziaływaniami. Jest to pierwsza systematyczna analiza tego typu dla dwóch odmiennych motywów strukturalnych kompleksów zasad kwasów nukleinowych.

Oddziałujący układ umieszczony w jednorodnym zewnętrznym polu elektrycznym charakteryzuje zależna od pola energia oddziaływania ( $\Delta E$ ), którą można wyrazić rozwijając ją w szereg Taylora:

$$\Delta E(F) = \Delta E(0) - \Delta\mu_1 F_1 - \frac{1}{2} \Delta\alpha_{ij} F_i F_j - \frac{1}{6} \Delta\beta_{ijk} F_i F_j F_k - \dots \quad 5.$$

Jako kolejne pochodne energii oddziaływania względem natężenia przyłożonego pola wyraża się nadmiarowe statyczne dipolowe właściwości elektryczne:

$$\Delta\mu_i = - \left( \frac{\partial \Delta E}{\partial F_i} \right)_{F_i=0} \quad 6.$$

$$\Delta\alpha_{ij} = - \left( \frac{\partial^2 \Delta E}{\partial F_i \partial F_j} \right)_{F_i=F_j=0} \quad 7.$$

$$\Delta\beta_{ijk} = - \left( \frac{\partial^3 \Delta E}{\partial F_i \partial F_j \partial F_k} \right)_{F_i=F_j=F_k=0} \quad 8.$$

$\Delta\mu_i$  opisuje składowe wektora indukowanego oddziaływaniami międzycząsteczkowymi momentu dipolowego natomiast  $\Delta\alpha_{ij}$  i  $\Delta\beta_{ijk}$  są odpowiednio składowymi tensorów nadmiarowej polaryzowalności i pierwszej hiperpolaryzowalności. W metodzie VP-EDS zaimplementowanej przez dr hab. Roberta Górę własności te obliczane są jako suma odpowiednich pochodnych składowych energii oddziaływania przy użyciu metody MP2.

$$\Delta P^{MP2} = \underbrace{\Delta P_{el}^{(10)} P_{ex}^{HL}}_{\Delta P^{HL}} + \Delta P_{del}^{HF} + \underbrace{\Delta P_{el,r}^{(12)} + \Delta P_{disp}^{(20)} + \Delta P_{ex-del}^{(2)}}_{\Delta P_{corr}^{MP2}} \quad 9.$$

Wyniki przeprowadzonych badań pozwoliły wyjaśnić źródła indukowanych oddziaływaniami polaryzowalności w kompleksach zasad kwasów nukleinowych. Zaskakujące rezultaty otrzymaliśmy dla par cytozyny gdzie oddziaływania elektrostatyczne zmieniają w znaczący sposób polaryzowalność analizowanych kompleksów oraz wpływają na nadmiarowe polaryzowalności. Ponadto wielkość indukowanej polaryzowalności wzrasta wraz ze wzrostem oddziaływań dyspersyjnych a maleje ze wzrostem oddziaływań odpychająco-wymiennych pomiędzy monomerami. Zgoła odmienną zależność zaobserwowano dla par Watsona-Cricka. Oddziaływania elektrostatyczne, indukcyjne i indukcyjno-wymienne zwiększają średnią polaryzowalność badanych kompleksów podczas gdy składowa wymienna konsekwentnie ją obniża.

Oprócz wartości czysto poznawczej, w wyniku przeprowadzonych badań udało się wyciągnąć kilka istotnych wniosków o charakterze metodologicznym. Najważniejszy z nich można sformułować następująco: choć do opisu energii oddziaływania kompleksów zasad kwasów nukleinowych w ułożeniach warstwowych wymagane są metody uwzględniające korelację ruchu elektronów, to w przypadku analizy polaryzowalności indukowanych oddziaływaniem jakościowo poprawne rezultaty można uzyskać stosując metodę Hartree-Focka. Wynik ten choć z pozoru dość zaskakujący, jest logiczną konsekwencją odmiennych źródeł stabilizacji i właściwości elektrycznych kompleksów. W zewnętrznym polu elektrycznym zmienia się rozkład gęstości ładunku i konsekwentnie najbardziej zmienia się składowa elektrostatyczna a pozostałe składowe energii oddziaływania zmieniają się w znacznie mniejszym stopniu.

#### **Natura oddziaływań międzycząsteczkowych par zasad kwasów nukleinowych zmodyfikowanych działaniem rodnika hydroksylowego**

Pomimo licznych dowodów na istnienie bezpośredniej korelacji pomiędzy zmianami mutagennymi a obecnością w B-DNA niekanonicznych zasad kwasów nukleinowych brakuje kompleksowych i systematycznych danych teoretycznych, które pozwoliłyby określić źródła stabilizacji wpływające na zdolność zmodyfikowanych analogów zasad azotowych do tworzenia kompleksów z zasadami niezmodyfikowanymi wewnątrz nici DNA. Pochodne te ze względu na częstość występowania mutacji oraz poważne następstwa biomedyczne zostały uznane za markery stosowane do określenia stadium chorób o podłożu wolnorodnikowym [23,24].

Spośród grona licznych produktów wolnorodnikowych uszkodzeń DNA przeanalizowałam zdolność zmodyfikowanej pochodnej adeniny do tworzenia kompleksów stabilizowanych oddziaływaniami warstwowymi. Mutagenny charakter tej pochodnej związany jest przede wszystkim ze zdolnością do tworzenia innych niż kanoniczne (A-T) par zasad. Takie niestandardowe parowanie może prowadzić do powstawania mutacji punktowych [25].

Rezultaty uzyskane dla par tworzonych przez zmodyfikowaną adeninę w ułożeniu warstwowym razem z cytozyną i guaniną w różnym ułożeniu sekwencyjnym zostały opublikowane w pracach [H3] i [H5]. Ważną obserwacją wynikającą z uzyskanych rezultatów jest istotne znaczenie sekwencyjnego położenia oksydowanej adeniny w dimerze.

W przypadku par tworzonych z guaniną tylko w jednym z analizowanych

przypadków (5'-guanina/2-oxoadenina-3') doszło do zwiększenia stabilności dimeru w całym zakresie zmienności parametrów strukturalnych, przy czym wzrost ten jest w całości wywołany zwiększonym udziałem pierwszorzędowej składowej elektrostatycznej w stabilizacji omawianego kompleksu. Jest to niewątpliwie związane z obecnością dodatkowego tlenu w pozycji 2 zmodyfikowanej adeniny, który w tym ułożeniu sekwencyjnym w znacznym stopniu oddziałuje z pierścieniem sąsiadującej guaniny w całym zakresie zmienności parametrów określających geometrię układu.

W przypadku par tworzonych z cytozyną obraz oddziaływań ma bardziej złożony charakter. Dla sekwencji zasad 5'-cytozyna/2-oksoadenina-3' niemalże w całym zakresie zmienności wyznaczonych eksperymentalnie parametrów strukturalnych modyfikacja wywołuje osłabienie oddziaływań (średnio 1,5 kcal/mol) a przebieg krzywych przecięć powierzchni energii potencjalnej jest w obu przypadkach identyczny.

W przypadku par 5'-2-oksoadenina/cytozyna-3' zaobserwowałam znaczną kierunkowość. Przede wszystkim wartość energii oddziaływania międzycząsteczkowego nie zmienia się po modyfikacji w funkcji parametrów strukturalnych *rise*, *tilt* i *slide*. W przypadku parametrów *twist*, *roll* i *shift* dochodzi do przesunięcia minimum i zmiany kształtu krzywej energii oddziaływania. Może to tłumaczyć dlaczego po modyfikacji dochodzi do znacznych odkształceń uszkodzonej nici DNA. Na uwagę zasługuje również fakt, iż również w tym wypadku daje się zaobserwować znaczący wpływ oksydacji na wzrost energii elektrostatycznej (por. Tabela 1 w pracy [H5]). Wzrost ten jednak nie wpływa na całkowitą energię oddziaływania międzycząsteczkowego bowiem oddziaływania odpychająco-wymienne znoszą przyciąganie elektrostatyczne trwałych momentów elektrycznych oddziałujących zasad kwasów nukleinowych.

### **Natura oddziaływań międzycząsteczkowych w innych układach o znaczeniu biologicznym.**

Mechanizm molekularnego rozpoznawania nie został jeszcze do końca wyjaśniony. Wiadomo jednak, iż głównym czynnikiem biorącym udział w rozpoznawaniu są wiązania wodorowe pomiędzy polarnymi grupami łańcuchów bocznych białek a zasadami kwasów nukleinowych [26]. Ze względu na złożoność numeryczną, podejmowane w ostatniej dekadzie próby modelowania właściwości bioukładów wymagały stosowania szeregu uproszczeń w modelach ich opisu [27]. Z tego też powodu niewiele jest w literaturze przedmiotu szczegółowych analiz natury

oddziaływań kompleksów biorących udział na przykład w procesach naprawy DNA czy oddziaływań RNA z białkami [28].

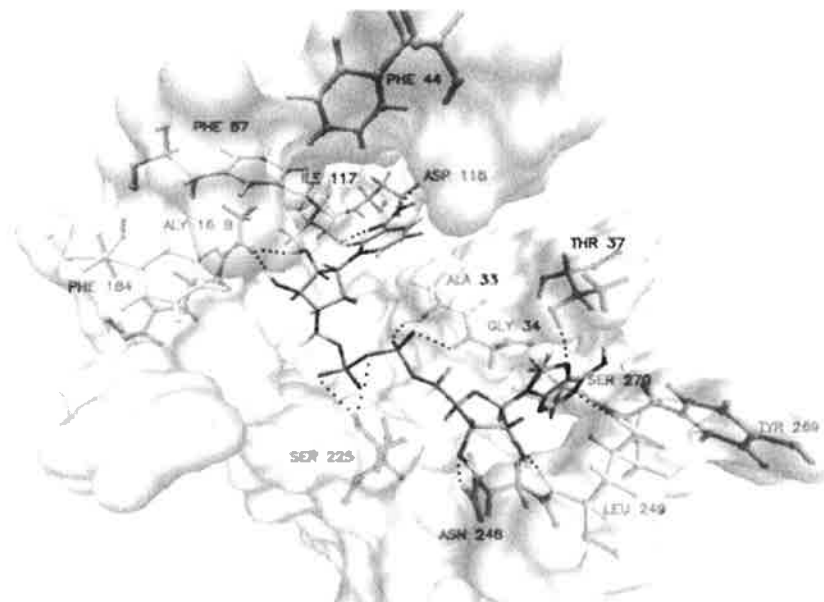
W ten nurt badań wpisuje się moja kolejna praca [praca 3 punktu b) wykazu innych prac opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora], w której razem ze współpracownikami z Zakładu Chemii Teoretycznej Politechniki Wrocławskiej przeanalizowaliśmy 20 kompleksów tworzonych przez zasady kwasu rybonukleinowego i fragmenty łańcuchów bocznych aminokwasów wchodzących w skład białek naprawczych i regulatorowych. Publikacja ta nie została ujęta w cyklu habilitacyjnym ze względu na brak oświadczenia jednego ze współautorów dr Alana Chenga (oświadczenia pozostałych współautorów zostały załączone do wniosku). Głównym celem tej pracy była przede wszystkim analiza źródeł stabilizacji takich układów. Dodatkowo dr Paweł Lipkowski przeprowadził analizę topologiczną gęstości elektronowej przy użyciu metody AIM. Wyniki uzyskane w omawianej pracy (por. Ryc. 2) jednoznacznie wskazują na dominujący udział składowej delokalizacyjnej w przypadku kompleksów o charakterze obojętnym co podkreśla znaczną wzajemną polaryzację oddziałujących podukładów. Pozostałe pary zawierające dodatnio bądź ujemnie naładowane reszty aminokwasowe są stabilizowane dzięki składowej Heitlera-Londona energii oddziaływania. Również energia dyspersyjna pomimo niższych wartości ma istotne znaczenie. Użytecznym narzędziem w interpretacji wyników podziału energii oddziaływania są mapy różnicowe gęstości elektronowej pozwalające na analizę zmian gęstości elektronowej indukowanych oddziaływaniem. Wielkość ta zdefiniowana jest jako różnica jednocząstkowych gęstości elektronowych kompleksu AB i jego składowych.

$$\Delta\rho = \rho_{AB}(\mathbf{r}) - \rho_A(\mathbf{r}) - \rho_B(\mathbf{r}) \quad 10.$$

W przypadku analizowanych układów zmiany gęstości elektronowej po utworzeniu obojętnych kompleksów mają charakter lokalny i dotyczą głównie obszarów zaangażowanych w tworzenie wiązań wodorowych.

Interesujące rezultaty z punktu widzenia mechanizmów molekularnego rozpoznawania wyzyskałam we współpracy z dr. Przemysławem Czeleniem dla kompleksu utworzonego przez NAD<sup>+</sup>-zależną deacetylazę (Sir 2) i karbanikotynoamid dinukleotydu adeniny [H11]. Ze względu na ich biochemiczne właściwości ta grupa białek regulatorowych jest uwikłana w szereg procesów biologicznych takich jak metabolizm DNA czy regulacja i naprawa uszkodzeń nici [29, 30]. Liczne badania sugerują, że ich aktywność może być modulowana przez stężenie nikotynamidu w komórce, który oddziałuje wewnątrz hydrofobowej wnęki

deacetylazy dzięki obecności cząsteczek fenylalaniny (Rycina 4). Wykonane przez dr. Przemysława Czelenia symulacje dynamiki molekularnej wykazały, iż każdy z fragmentów oddziałującego z białkiem liganda odgrywa znaczącą rolę w stabilizacji natywnego kompleksu.



Rycina 4. Graficzna reprezentacja centrum aktywnego kompleksu NAD<sup>+</sup>-zależnej deacetylazy (Sir 2) i karbanikotynoamidu dinukleotydu adeniny.

Najsilniejsze oddziaływania zachodzą w przestrzeni utworzonej przez sąsiadujące ze sobą ILE117, ASP118, i ALY16 gdzie dominujące są wiązania wodorowe. Oddziaływania hydrofobowe są natomiast głównym źródłem stabilizacji w okolicach występowania PHE44 i PHE67. Wykonana przeze mnie analiza składowych energii oddziaływania wykazała, że oddziaływania elektrostatyczne oraz składowa indukcyjna odgrywają kluczowe znaczenie w stabilizacji tego układu.

Istnieją doniesienia, iż materiały węglowe (powierzchnie grafenowe, funkcjonalizowane nanorurki węglowe) mogą zostać zastosowane jako podstawa do tworzenia biosensorów i bionanomateriałów, które z kolei mogą być wykorzystywane w procesach molekularnego rozpoznawania [31,32]. Ponadto, takie funkcjonalizowane nanostruktury mogą być wykorzystywane jako powierzchnie umożliwiające transport peptydów do układu immunologicznego organizmu [33]. Dlatego też postanowiłam zająć się zagadnieniem oddziaływań w tego typu układach. Rezultaty moich badań zostały zaprezentowane w pracy oznaczonej w cyklu jako [H8]. W pracy tej wspólnie z prof. dr. hab. Wojciechem Bartkowiakiem

przeanalizowaliśmy oddziaływania łańcuchów bocznych pierścieniowych aminokwasów (fenyloalaniny, tyrozyny, tryptofanu, histydyny) z policyklicznymi fragmentami warstw grafenowych. Dostępne wówczas dane literaturowe opisujące tego typu układy pozwoliły przyjąć, że źródłem ich stabilizacji są głównie oddziaływania elektronów typu  $\pi$ . Istotnie, źródeł stabilizacji takich układów należy upatrywać w oddziaływaniach związanych z korelacją ruchu elektronów wzajemnie oddziałujących ze sobą powierzchni węglowych i pierścienia aminokwasu aromatycznego. Wartość energii dyspersyjnej w tego typu kompleksach jest średnio trzy razy większa od wartości składowej elektrostatycznej wyznaczonej w pierwszym rzędzie rachunku zaburzeń, która dodatkowo jest kompensowana przez wzajemne odpychanie molekuł. Niewielki udział w stabilizacji ma energia indukcyjna. Z uwagi na fakt, iż oddziaływania dyspersyjne odgrywają kluczową rolę w stabilizacji takich kompleksów postanowiłam zweryfikować użyteczność dostępnych w tamtym czasie funkcjonałów korelacyjno-wymiennych. Wnioski z tych badań opiszę dalej w osobnej sekcji.

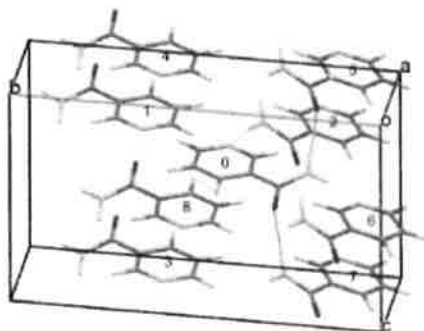
Równie interesująca w kontekście omawianych zagadnień jest w moim przekonaniu wnikliwa analiza nieaddytywności oddziaływań międzycząsteczkowych w kryształach związków stosowanych w medycynie. Zagadnienie to jest jak dotąd stosunkowo mało rozpoznane, wiadomo jednak, że wiele zbadanych układów wykazuje dużą kooperatywność oddziaływań.

Pojawiające się w literaturze przedmiotu wzmianki dotyczące kooperatywności bądź nieaddytywności oddziaływań w badanych układach są ograniczone zwykle do analizy całkowitej energii oddziaływania bądź ograniczone są do relatywnie małych układów [34, 35]. Ze względu na wzrost zainteresowania projektowaniem nowych substancji o określonych właściwościach leczniczych i znaczącej dostępności biologicznej przedmiotem moich kolejnych badań stały się właściwości strukturalne i energetyczne substancji o potencjalnych zastosowaniach w terapii. Kluczowym elementem takiego projektowania jest wiedza na temat niekowalencyjnych oddziaływań międzycząsteczkowych takiego związku, odpowiedzialnych za stabilizację jego kryształów. Często stabilizacja ta pochodzi od silnych wiązań wodorowych, oddziaływań typu  $\pi$ - $\pi$  lub oddziaływań elektrostatycznych. Przedmiotem mojej kolejnej pracy z cyklu habilitacyjnego, oznaczonej jako [H11] stały się kryształy nikotynamidu. Znane są istotne biochemiczne właściwości nikotynamidu (prekursor koenzymów odpowiedzialnych za procesy oksydoredukcyjne w wątrobie, mózgu i erytrocytach) oraz jego stosowalność w medycynie (depresja, insulino-zależna cukrzyca, inhibicja uszkodzeń oksydacyjnych) [36-39]. Ostatnio szczególną uwagę poświęca się zdolności



nikotynamidu do tworzenia ko-kryształów ze względu na jego strukturę dzięki której posiada zdolność do tworzenia syntonów z wieloma aktywnymi składnikami farmaceutycznymi [40].

Zasadniczym elementem moich badań były obliczenia całkowitej energii oddziaływania oraz podział tej energii na składowe w kryształach nikotynamidu (Rycina 5 [H11]). Uwzględnione zostały również wkłady wielociałowe. Dodatkowo dr Tomasz Misiaszek wykonał topologiczną analizę gęstości elektronowej. Rezultaty obliczeń DFT-SAPT wykazały, że składowe: dyspersyjna, indukcyjna i elektrostatyczna odgrywają istotną rolę w stabilizacji omawianych kompleksów. Należy jednak nadmienić, iż wkład pierwszorzędowej składowej elektrostatycznej jest w większości badanych kompleksów kompensowany całkowicie przez odpychającą składową wymienną związaną z odpychaniem Pauliego. Również stabilizująca składowa indukcyjna była silnie tłumiona przez efekty indukcyjno-wymienne i decydującą rolę w stabilizacji badanych układów odgrywały oddziaływania dyspersyjne. Co ciekawe analiza nieaddytywności w kryształach wykazała, iż efekty wielociałowe są niemalże całkowicie zaniedbywalne.



Rycina 5. Struktura kompleksów uwzględnianych w obliczeniach podziału energii oddziaływania.

### **Analiza przydatności wybranych metod chemii kwantowej w analizie struktury i stabilności cząsteczek o znaczeniu biologicznym**

Ze względu na różnorodność analizowanych przeze mnie układów i ciągły rozwój metod chemii obliczeniowej, w cyklu przedstawionych prac podjęłam również wątek dotyczący analizy porównawczej stosowanych metod obliczeniowych.

Z uwagi na fakt, iż oddziaływania dyspersyjne odgrywają kluczową rolę

w stabilizacji badanych przeze mnie kompleksów molekularnych jednym z celów moich badań stała się weryfikacja użyteczności dostępnych funkcjonałów korelacyjno-wymiennych. Problem ten został szerzej ujęty we wspomnianej już wcześniej pracy oznaczonej jako [H8].

Rezultaty uzyskane dla blisko 100 różnych konformacji kompleksów łańcuchów bocznych pierścieniowych aminokwasów z policyklicznymi fragmentami warstw grafenowych wykazują, iż najmniejszy średni błąd energii oddziaływania w stosunku do referencyjnej metody SCS-MP2 daje funkcjonał M06. Najlepszą zgodność z dostępnymi danymi referencyjnymi uzyskaliśmy natomiast dla funkcjonału B97-D. Dla tych układów zaobserwowaliśmy znaczącą korelację pomiędzy siłą oddziaływań a rozmiarem oddziałującej z aminokwasem powierzchni węglowej. Należy tutaj nadmienić, iż w pracy przeanalizowano różne warianty rozszerzenia atomowej bazy funkcyjnej o funkcje dyfuzyjne (rozmyte). Funkcje te jak wiadomo są niezwykle istotne w celu poprawnego opisu oddziaływań międzycząsteczkowych, aczkolwiek w dużych układach mogą prowadzić do liniowych zależności, a w konsekwencji do trudności w uzbieźnianiu obliczeń metodą pola samouzgodnionego. Przeprowadzone przeze mnie obliczenia pokazały, że zasadne jest przypisywanie funkcji dyfuzyjnych tylko w obszarze wzajemnego nakładania się oddziałujących ze sobą molekuł. Pozwala to na uniknięcie problemów ze zbieżnością przez usunięcie niepożądanych liniowych zależności i pozwala na bardzo dokładne odtworzenie wartości energii oddziaływania przy jednoczesnej znacznej redukcji czasu obliczeń.

### **Opis pozostałych osiągnięć naukowych nie wchodzących w skład rozprawy habilitacyjnej**

W 2010 roku rozpoczęłam współpracę naukową z pracownikami Katedry i Zakładu Chemii Nieorganicznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu i zajęłam się zagadnieniami związanymi z opisem układów bionieorganicznych. Szczególnie ciekawym i trudnym zagadnieniem jest prawidłowy opis kompleksów zawierających metale przejściowe ze względu na fakt, iż w literaturze przedmiotu niewiele jest wyczerpujących danych teoretycznych na ten temat.

Przedmiotem badań była charakterystyka właściwości koordynacyjnych związków peptydowych i ich oddziaływania z metalami (około 15 różnych układów). Rezultaty moich badań zostały zaprezentowane w pracach 6, 9-13, 15-17, 20 podanych w punkcie b) dorobku nie wchodzącego w skład osiągnięcia naukowego opublikowanego po doktoracie. W pracach tych przeprowadziłam szczegółową analizę konformacyjną dla kompleksów związków peptydowych z miedzią i cynkiem

w środowisku wodnym przy użyciu dostępnych funkcjonalów korelacyjno-wymiennych między innymi: M05, M06, M06-2X i M06-HF oraz w oparciu o metody półempiryczne. Wyzaczyłam parametry geometryczne analizowanych układów i określiłam sposób wiązania metalu na różnych stopniach uprotonowania kompleksu.

Ponadto dla części analizowanych związków wykonałam pomiary spektroskopii fluorescencyjnej (prace 9 i 12), oceniając wpływ wiązania metalu na intensywność fluorescencji oraz jej wygaszanie na skutek zmiany stężenia jonów.

Dzięki współpracy z dr. Tomaszem Jankiem rozpoczęłam badania właściwości strukturalnych naturalnych związków powierzchniowo aktywnych produkowanych przez szczepy bakteryjne. W oparciu o półempiryczną metodę PM6 wykonałam analizę konformacyjną pseudofaktyny II. Określiłam sposób wiązania metali dwuwartościowych takich jak miedź, wapń, cynk i magnez (praca oznaczona jako 19 w punkcie b) dorobku nie wchodzącego w skład osiągnięcia naukowego opublikowanego po doktoracie). Jest to szczególnie interesujące ze względu potwierdzoną zdolność wielu związków lipopeptydowych (polimyksyna B, daptomycyna) do wiązania jonów metali i wspomagania ich transportu przez błony biologiczne oraz przeciwwirusowe i przeciwwirusowe i przeciwwirusowe właściwości tego typu połączeń chelatowych [41,42]. Badania będą kontynuowane w ramach programu polsko-portugalskiej wymiany osobowej.

Czyżwikowska  
Wrocław, 20.04.2012

**Bibliografia****Prace z cyklu habilitacyjnego**

- H1.** Żaneta Czyżnikowska, Robert Zaleśny, Marcin Ziółkowski, Robert W. Góra, Piotr Cysewski\*.: „The nature of interactions in uracil dimer: an ab initio study” *Chem. Phys. Lett.* **2007** 450 1-3; 132-137
- H2.** Piotr Cysewski\*, Żaneta Czyżnikowska, Robert Zaleśny, Przemysław Czeleń.: The post-SCF quantum chemistry characteristics of the guanine-guanine stacking in B-DNA *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008** 10 19; 2665-2672
- H3.** Żaneta Czyżnikowska\*, Robert Zaleśny, Piotr Cysewski.: Quantum chemical study of the nature of stacking interactions of 2-oxo-adenine with native B-DNA purines *Pol. J. Chem.* **2008** 82 12; 2269-2279
- H4.** Żaneta Czyżnikowska\*, Robert Zaleśny.: Theoretical insights into the nature of intermolecular interactions in cytosine dimer *Biophys. Chem.* **2009** 139 2-3; 137-143
- H5.** Żaneta Czyżnikowska\*.: How does modification of adenine by hydroxyl radical influence the stability and the nature of stacking interactions in adenine-cytosine complex? *J. Mol. Model.* **2009** 15 6; 615-622
- H6.** Żaneta Czyżnikowska\*.: On the importance of electrostatics in stabilization of stacked guanine-adenine complexes appearing in B-DNA crystals *J. Mol. Struct. - Theochem* **2009** 895 1-3; 161-167
- H7.** Żaneta Czyżnikowska\*, Robert W. Góra, Robert Zaleśny, Paweł Lipkowski, Katarzyna N. Jarzemska, Paulina M. Dominiak, Jerzy Leszczyński.: Structural variability and the nature of intermolecular interactions in Watson-Crick B-DNA base pairs *J. Phys. Chem. B* **2010** 114 29; 9629-9644
- H8.** Żaneta Czyżnikowska\*, Wojciech Bartkowiak.: Physical origins of the stability of aromatic amino acid core ring-polycyclic hydrocarbon complexes: a post-hartree-fock and density functional study *J. Comput. Chem.* **2011** 32 9; 1887-1895

**H9.** Żaneta Czyżnikowska\*, Robert W. Góra\*, Robert Zaleśny, Wojciech Bartkowiak, Angelika Baranowska-Łączkowska, Jerzy Leszczyński.: The effect of intermolecular interactions on the electric dipole polarizabilities of nucleic acid base complexes *Chem. Phys. Lett.* **2013** 555; 230-234

**H10.** Tomasz Misiaszek\*, Żaneta Czyżnikowska\*.: The nature of interactions in nicotinamide crystal *J. Mol. Graph. Model.* **2014** 51; 73-78

**H11.** Przemysław Czeleń\*, Żaneta Czyżnikowska\*, Physical nature of intermolecular interactions inside Sir2 homolog active site: Molecular dynamics and ab initio study. *J. Mol. Mod.* **2016** 22; 1-7

**H12.** Monografia: Żaneta Czyżnikowska\*, Robert Zaleśny, Manthos G. Papadopoulos.: Nucleic Acid Base Complexes: Elucidation of the Physical Origins of Their Stability Ed. Jerzy Leszczyński, Manoj K. Shukla, *Practical aspects of computational chemistry: Methods, Concepts and applications* **2009**, 387-397

### Inne prace

1. P. Jurecka, J. Sponer, J. Cerny, P. Hobza; *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2006** 8; 1985
2. J. Rejnek, P. Hobza; *J. Phys. Chem. B* **2007** 111; 641
3. P. Hobza, J. Sponer, *Chem. Rev.* **1999** 99; 3247
4. J. Sponer, K.E. Riley, P. Hobza, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008** 10; 2595
5. K. M. Langner, W. A. Sokalski, J. Leszczyński, *J. Chem. Phys.* **2007** 127; 111102
6. Hesselmann A, Jansen G, Schütz M. *J Am Chem Soc.* **2006** 128; 11730
7. R. Toczyłowski and S. M. Cybulski. *J. Phys. Chem. A.* **2003** 107; 418
8. I. Dąbkowska, H. V. Gonzalez, P. Jurecka, P. Hobza, *J. Phys. Chem. A* **2005** 109; 1131
9. P. Cysewski, Ż. Czyżnikowska-Balcerak, *J. Mol. Struc. THEOCHEM* **2005** 757; 29
10. A. Sadowska-Aleksiejew, J. Rak, A. A. Voityuk, *Chem. Phys. Lett.* **2006** 429; 546
11. Toczyłowski, R. R.; Cybulski, S. *J. Chem. Phys.* **2005** 123; 154312
12. W.A. Sokalski, S. Roszak, K. Pecul, *Chem. Phys. Lett.* **1988** 153; 153
13. Chałasinski, M.M. Szczesniak, *Mol. Phys.*, **1988** 63; 205
14. G. S.M. Cybulski, G. Chałasiński, R. Moszyński, *J. Chem. Phys.* **1990** 92; 4357
15. G. Chałasiński, M.M. Szczęśniak, *Chem. Rev.* **1994** 94; 1723

16. B. Jeziorski, R. Moszyński, K. R. Szalewicz, *Chem. Rev.* **1994** 94; 1887,
17. A. J. Misquitta, R. Podeszwa, B. Jeziorski, and K. Szalewicz, *J. Chem. Phys.* **2005** 123; 214103
18. G. Jansen and A. Hesselmann, *J. Phys. Chem. A* **2001** 105; 646
19. S. Boys i F. Bernardi, *Mol. Phys.* **1970** 19; 553
20. R. Dickerson, *Nucleic Acids Res.* **1989** 17; 1797
21. H.M. Berman, W.K. Olson, D.L. Beveridge, J. Westbrook, A. Gelbin, T. Demeny, S.H. Hsieh, A.R. Srinivasan, B. Schneider *Biophys. J.* **1992** 63; 751
22. R. F. F. Bader, Atoms In Molecules, A Quantum Theory, *Oxford University Press: Oxford, UK, 1990*
23. J. Cadet, T. Douki, D. Gasparutto, J. L. Ravanat, *Mutation Research* **2003** 531; 5
24. L.L. De Zwart, J. H. N. Meerman, J. N. M. Commandeur, N. P. E. Vermeulen, *Free Radical Biology & Medicine* **1999** 26; 202
25. H. Kamiya, H. Kasai, *FEBS Lett.* **1996** 391; 113
26. N. C. Seeman, J. M. Rosenberg, A. Rich, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1976** 73; 804
27. A. C. Cheng, W. W. Chen, C. N Fuhrmann, A. D. Frankel, *J. Mol.Biol.* **2003** 327; 781
28. L. R. Rutledge, S. D. Wetmore, *J. Am. Chem. Soc.* **2011** 133; 16258
29. S. Gottlieb, R. E. Esposito *Cell.* **1989** 56; 771
30. C. B. Bennett, J. R. Snipe, J. W. Westmoreland, M. A. Resnick. *Mol. Cell Biol.* **2001** 21; 5359
31. F. Balavoine, P. Schultz, C. Richard, V. Mallouh, T. W. Ebbesen, C. Mioskowski, *Angew Chem. Int. Ed. Engl.* **1999** 38; 1912
32. S. S. Tsang, Z. Guo, Y. K. Chen, M. L. H. Green, H. A. O. Hill, T. W. Hambley, P. J. Sadler, *Angew Chem*, **1997** 109; 2291
33. M. Zheng, A. Jagota, M. S. Strano, A. P. Santos, P. Barone, S. G. Chou, B. A. Diner, M. S. Dresselhaus, R. S. McLean, G. B. Onoa, G. G. Samsonidze, E. D. Semke, M. Usrey, D. J. Walls, *Science*, **2003** 302; 1545
34. A.V. Morozov, K. Tsemekhman, D. Baker, *J. Phys. Chem. B*, **2006** 110; 4503
35. J. Sponer, J.V. Burda, P. Mejzlik, J. Leszczynski, P. Hobza, *J. Biomolecular Struct. & Dyn.* **1997** 14; 613
36. O. Warburg *Biochem.* **1936** 287; 291
37. Y. Tian, D. Li, Q. Ma, X. Gu, M. Guo, Y. Lun, W. Sun, X. Wang, Y. Cao, S.

Zhou, *Acta Physiol. Sin.* **2013** 65; 33

38. H. Elliott, R.B. Chase, *Diabet.* **1991** 34; 362

39. J. Kamat, T. Devasagayam, *Redox Rep.* **1999** 4; 179

40. L. Benyong, H. Shuling, *J. Chem. Crystallogr.* **2011** 41; 1663

41. G. Lavery, S. P. Gorman, B. F. Gilmore, *Int. J. Mol. Sci.* **2011** 12; 6566

42. T. Kelesidis, R. Humphries, D. A. Uslan, *Clin. Infect. Dis.* **2011** 52; 228