

Martinek Tamás: "Peptid foldamerek: szerkezet és alkalmazás" című MTA Doktori értekezésének bírálata

Martinek Tamás MTA Doktori értekezésének központi témáját a „designer” biomimetikus láncmolekulák, azaz a foldamerek képezik. A foldamerek kutatása tulajdonképpen azt a gyógyszerkutatási szempontból is igen jelentős problémát feszegeti, hogy lehet-e utánózni a biomolekulák szerkezeti tulajdonságait szintetikus szekvenciákkal, továbbá lehet-e térszerkezetüket előre „programozni” azzal a céllal, hogy biológiailag aktív molekulákat állítsunk elő. Napjainkban a foldamer kémia a fejlődésének rendkívül izgalmas, és kutatói szemmel nézve sok tekintetben ideális szakaszában van. Ugyanis a terület mára már kellően megalapozottá vált és nemzetközi szinten is megfelelően nagy figyelmet kap ahhoz, hogy a kémia önálló ágának tekinthessük. Ugyanakkor, rendkívül fiatal tudományágról lévén szó, a biomimetikus molekulák térszerkezetének vagy térszerkezeti elemeinek racionális, esetleg *de novo* tervezhetőségéről még nagyon keveset tudunk, így tehát a területben rejlő kutatási lehetőségek óriásiak. Jelölt témaválasztása tehát nagyon időszerű és indokolt, azon kutatási célkitűzése pedig, hogy „bővítsük ismereteinket a foldamerek feltekeredésének szabályairól és a tervezési alapelvekről” teljes mértékben megfelel a foldamer kémia jelenlegi tudományfejlődési állapotának. Ezen általános célkitűzésen belül Jelölt kutatási eredményei négy főbb területre oszthatók: a foldamerek szerkezetének sztereokémiai szabályozása; az oldalláncok alakjának és térkitöltésének hatása a másodlagos szerkezetre; lánc hossz-függés vizsgálatok és konformációs polimorfia; foldamer építőelemekből konstruált nanostrukturált rendszerek.

Martinek Tamás 103 oldalas MTA doktori disszertációjának alapját a Jelölt 14, rangos folyóiratban megjelent közleménye képezi. Kutatómunkájának eredményei meggyőzőek és nemzetközi szinten is sikeresen járulnak hozzá a foldamer kémia fejlődéséhez, valamint tovább bővítik azt a szerkezetvizsgálati „know-how” készletet, amelynek segítségével ezen a téren a különböző számítási és spektroszkópiai módszerek hatékonyan alkalmazhatók. Itt mindenképpen ki kell emelni, hogy Jelölt a szerkezeti problémákat a számítási és műszeres módszerek impresszív színes palettájával kezelte (ebbe tartozik számos NMR módszer valamint HPLC-MS, ECD, VCD, transzmissziós elektronmikroszkópia).

A dolgozat formailag és tartalmilag is logikusan van felépítve, nyelvezete világos, célrátörő. A dolgozat szerkesztése, stílusa, az abban foglalt munka mennyisége és minősége teljes mértékben meggyőzőek arra nézve, hogy Jelölt nemcsak kiváló kutató, de eredményeit kiválóan is tudja megjeleníteni. Nekem különösen tetszett az a megoldás, hogy Jelölt a dolgozatban szereplő külső hivatkozásokat felső indexbe írta, míg a saját munkáira vonatkozó hivatkozásokat kapcsos zárójelbe helyezve jelölte – ez nagymértékben megkönnyíti az olvasó számára a Jelölt saját munkájának az átlátását. A dolgozat főbb elemeinek tagolása klasszikusnak mondható (Irodalmi áttekintés, Módszertan, Eredmények és diszkusszió, Összefoglalás, Gyakorlati hasznosítás lehetőségei és kitekintés), mindez megfelelő arányokat kapott a disszertációban.

Martinek Tamás kutatómunkájának legjelentősebb eredményeit a következőkben látom:

- a) Átfogóan vizsgálta α -aminosavakból felépülő proteinek illetve peptidek és peptid foldamerek másodlagos szerkezetét, ennek eredményeképpen rámutatott arra, hogy a gerinc szénatomok térkémiája és az ehhez kapcsolódóan a másodlagos térszerkezetet karakterisztikusan leíró torzós szögek között jól definiálható törvényszerűségekben megfogalmazható összefüggések állnak fenn. Ezeknek az összefüggéseknek a részletes elemzése alapján elméleti és gyakorlati szempontból is fontos és hasznos szabályokat állított fel. Ezzel kapcsolatban Jelölt egy olyan érdekes analógiára tett javaslatot, miszerint a momonerek abszolút konfigurációi szoftverszerűen kódolják a peptidlánc másodlagos szerkezetét.
- b) Jelölt rámutatott arra, hogy ezek a szabályok általánosíthatók és prediktívek, ennek alapján több új másodlagos szerkezetet tervezett meg és épített fel sikeresen. (Az irodalomban ismert 24 periodikus másodlagos szerkezetből 7-et Jelölt írt le).
- c) Jelölt felismerte, illetve NMR, IR és CD módszerekkel igazolta, hogy amennyiben cikloalifás oldalláncok esetén az aminociklopentánkarbonsav egységeket transz-2 konfigurációból cisz-2 konfigurációjává módosítja, akkor a helikális másodlagos szerkezet szál típusú konformációba kapcsolható. Ez az eredmény azt igazolta, hogy korábbi vélekedésektől eltérően hajtű típusú stabilizáló elem nélkül is lehet stabilis szálas szerkezetet létrehozni.
- d) A sztereokémiai mintázat variálását dipeptid egységekre is kiterjesztve és alternáló kiralitású

β -peptid oligomereket modellezve felismerte, továbbá a prediktált szerkezetek kísérletes ellenőrzésével bebizonyította, hogy az alternáló cisz-2-aminociklopentánkarbonsav szekvenciák stabilis alternáló hélixet alakítanak ki. Jelölt rámutatott, hogy ugyancsak alternáló kiralitású transz-2-aminociklopentánkarbonsav oligomerek nanostruktúrált fibrillumokat képző stabilis poláris szál formát vesznek fel. Ezen eredmények arra a jelentős felismerésre vezetnek, hogy azonos konstitúció mellett pusztán sztereokémiai változtatásokkal a β -peptid foldamerek valamennyi főbb másodlagos szerkezeti típusa kialakítható.

e) Jelölt megmutatta, hogy a sztereokémiai kontroll az alifás foldamerek körére is kiterjeszthető ciklusos azapeptid építőelemekkel. Ebben az esetben sikerült olyan erős hidrogénhidás szerkezetet kialakítania, ami vizes oldószerben is stabilizálja a másodlagos szerkezetet - ez új megközelítésnek számít a foldamerek gerincben történő stabilizálására.

f) A sztereokémiai kontroll elvén hármas periódusú β -peptid szekvenciákat tervezett, amellyel egy új típusú (H14/16) hélixet sikerült létrehozni. A sztereokémiai tervezés további kiterjesztéseként Jelölt bonyolult $\beta\beta\alpha$ -peptid és $\alpha\alpha\beta\beta$ -peptid foldamereket tervezett és állított elő, utóbbi esetben először sikerült H/9/12/9/10 hélixet képeznie. Mindez a sztereokémiai kódolásban rejlő lehetőségeknek egy új dimenzióját tárja fel.

g) Jelölt rámutatott arra, hogy a sztereokémiai mintázattal tervezett másodlagos szerkezet megőrizhető még az α -aminosavak arányának bizonyos fokú növelésével is. Ebből kiindulva egy olyan új, H16/18 hélix geometriájú foldamert tervezett, ami publikáláskor a legnagyobb átmérőjű foldamer hélix volt.

h) Jelölt alaposan vizsgálta az oldalláncok alakjának hatását a másodlagos foldamer szerkezetre. Ennek keretén belül felismerte, hogy a nagy térkitöltésű oldalláncok közötti hidrofób és szterikus kölcsönhatások komoly hatással vannak a helikális szerkezetre. Új, homokirális apopinán típusú β -peptidek alkalmazásával egy H12 hélixű, önasszociációt mutató foldamert állított elő, ami a H12 hélix stabilizálásának új módszerét jelenti.

i) Jelölt tanulmányozta a láncossz hatását a másodlagos szerkezetre, ennek kapcsán megállapította, hogy azon túlmenően, hogy a β -peptid foldamerek stabilis másodlagos

szerkezettel rendelkeznek, biomimetikus konformációs polimorfíával is rendelkeznek. Jelölt ezzel kapcsolatban megfigyelt egy H12 hélixbe való átalakulási folyamatot, ezzel először írta le a H18 hélix létét. DOSY és ECD mérésekkel rámutatott arra, hogy a konformációs átalakulás a hélixek közötti kölcsönhatásnak köszönhető.

j) Jelölt vizsgálta mind a cisz-ACPC homooligomerek mind pedig az alternáló heterokirális transz-ACPC hexamer önasszociációjával kialakuló fibrilláris struktúrák finomszerkezetét, illetve ezeknek a szerkezeteknek az időtől és a peptidszekvencia hosszától való függését. Ilyen nanostruktúrát, ami új anyagtudományi alkalmazások lehetőségét veti fel, Jelölt figyelt meg és írt le először a β -peptid foldamerek körében.

Fontos hangsúlyozni, hogy Jelölt kutatási eredményei egy viszonylag új és igen nagy nemzetközi érdeklődésnek kitett tudományterület fejlődéséhez járulnak hozzá. Mindez növekvő teret annak, hogy a biomimetikumok integrálódjanak a modern gyógyszerkutatásokba, ami azért is lehet fontos, mert ezáltal a gyógyszerkutatások olyan “sötét foltjai” is megközelíthetővé válnak, mint pl. az “undruggable” fehérje célpontok.

Megjegyzések, kérdések

Az opponens feladata természetesen az is, hogy kritikai megjegyzéseket tegyen, illetve a munka olvasásakor benne felmerülő kérdéseket megfogalmazza. Az alábbiakban ezt részben szerkezetkutatóként teszem, részben pedig olyan álláspontból, hogy mennyire sikeresen tudta a Jelölt megjeleníteni a kutatási eredményeit azok számára, akik nem szorosan a foldamer-kémia világában dolgoznak.

Az irodalmi áttekintés felépítése és annak tartalmi elemei mindig nagyon lényegesek, hiszen ez alapozza meg a disszertáció további mondandójának érthetőségét azok számára, akik nem az adott terület szoros értelemben vett művelői. Bár a Jelölt ilyen szempontból nagyon ügyesen és didaktikusan építette fel az irodalmi áttekintést, mégis maradtak benne apróbb „inkonzisztenciák”; pl. ha a nomenklatúra magyarázatánál hangsúlyt kapott (nagyon helyesen) a hidrogénkötéses hélixek nevezéktana, akkor a 4. ábra kapcsán jó lett volna azt is megmagyarázni, hogy mit is jelent a „Z6” és „E” jelölés?

Több helyen szerepel az a megfogalmazás az új tudományos eredmények (tézispontok) között, hogy „alátámasztottuk azt, hogy....”. Ez a megfogalmazás nem szerencsés: egyrészt valaminek az alátámasztása általában nem jelent új tudományos eredményt, másrészt itt az sem derül ki egyértelműen, hogy egy irodalmi eredmény alátámasztásáról van e szó.

Jelölt a 23. oldalon azt írja, a NOESY és ROESY méréseknél „a spin diffúzió hiányáról kontroll kísérletekben meggyőződünk.” Pontosan milyen kontroll kísérleteket végzett ezzel a céllal?

A 33. oldalon bevezetett „korrigált ROESY keresztcsúcs intenzitás” a 22/a ábra szerint (ami sajnos nagyon kicsi, így szinte alig lehet értelmezni) specifikusan jellemzi az ott bemutatott különböző másodlagos szerkezeteket. Kérdésem, hogy van-e arra nézve adat, hogy ezek a NOE intenzitások milyen hibával/reprodukálhatósággal mérhetők, illetve hogy ezeknek a hibáknak az R értékében megjelenő szórása mennyire teszi robosztussá a másodlagos szerkezet ilyen alapon történő azonosítását?

A 37-38. oldalon kifejtettekkel kapcsolatban mi annak a magyarázata, hogy a **6** szekvencia sokkal kevésbé stabil hélixet ad, mint a **7** szekvencia?

A vizsgált foldamerek másodlagos szerkezete néha nagymértékben függ az alkalmazott oldószertől (mint pl. az 57. oldalon bemutatott **27** vegyület esete). Ebből adódóan fölvetődik a kérdés, hogy a Jelölt által megállapított másodlagos szerkezetek mennyire tekinthetők relevánsnak fiziológiai körülmények között (ha potenciális gyógyszerként számolunk velük, vajon orális vagy injekciós formában kell e gondolkodnunk)?

A 4.4. fejezetben tárgyaltak szerint bizonyos esetekben a foldamerek tektonokként működő önfelismerő rendszerekként viselkednek, így nanostruktúrált fibrillumokat hoznak létre. Ez vajon hogyan befolyásolja esetleges gyógyszerként való használhatóságukat – nem okozhat e kioldódási, felszívódási, vagy stabilitási problémákat?

Amolyan globális kérdésként érdekelne, hogy saját munkájának fényében, valamint a foldamerek irodalmának nyilvánvalóan alapos ismeretében, Jelölt hogyan látja a foldamerek

jövőbeli szerepét a gyógyszerkutatásban, szembeállítva a kismolekulás a biomolekuláris gyógyszerkutatások jelenlegi helyzetével? Pontosabban: mit gondol, milyen időskálán és milyen mértékben várható az, hogy a foldamerek a gyógyszeripari cégek gyógyszerkutatási stratégiájának szerves részévé válnak?

Összefoglalva, Martinek Tamás MTA doktori munkája azt bizonyítja, hogy Jelölt a PhD fokozat megszerzését követő időszakban nagyvolumenű kutatást végzett a foldamerkémia területén, a témában jelentős nemzetközi hatású eredeti kutatási eredményeket ért el, ami hozzájárul a tudomány továbbfejlődéséhez. A doktori disszertáció hiteles adatokat tartalmaz, melyek a Jelölt kiváló szakmai felkészültségről, alapos és innovatív munkájáról tesznek tanúságot. Mindennek alapján javaslom a nyilvános vita kitűzését továbbá a doktori mű elfogadását.

Budapest, 2013-04-22



Ifj. Szántay Csaba
az MTA doktora