



BUDAPESTI MŰSZAKI ÉS GAZDASÁGTUDOMÁNYI EGYETEM

Szerves Kémia és Technológia Tanszék

BÍRÁLAT

FERENCZY GYÖRGY

“Kiterjedt biokémiai rendszerek számítógépes modellezése”

című MTA Doktori értekezéséről

(MTA Természettudományi Kutatóközpont, Szerves Kémiai Intézet 2013)

BÍRÁLÓ: DR. POPPE LÁSZLÓ, egyetemi tanár

(MTA doktora, BME Szerves Kémia és Technológia Tanszék)

FERENCZY GYÖRGY nemzetközi elismertségű kutatásait különböző méretű molekuláris rendszerek számítási kémiai módszerekkel történő vizsgálatával végezte, mindvégig szem előtt tartva eredményeinek és elméleteinek összhangját a kísérletes adatokkal. Kutatásai során több nemzetközi hírű külföldi intézettel együttműködve tevékenykedett [University of Essex (UK), Rutgers University (USA), University of Nancy (F), University of Oxford (UK)], végül a MTA Természettudományi Kutatóközpont, Szerves Kémiai Intézet kapott lehetőséget önálló kutatási tevékenység folytatására. Tudományos tevékenységével nagy nemzetközi elismertségű kutatók (Christopher A. Reynolds, Jean-Luis Rivail, William Graham Richards, William H. Adams, Náray-Szabó Gábor, Keserű M. Görgy) munkacsoportjainak munkájába kapcsolódott be számítási és elméleti eredményeivel.

FERENCZY GYÖRGY az MTA Doktora cím megítélése alapjául szolgáló munkásságáról 83 oldal (+ 10 oldal függelék + 5 oldal saját közlemény jegyzék + 13 oldal irodalomjegyzék) terjedelemben összefoglalt dolgozatban számol be. Az összefoglalást követő saját közleményjegyzék 62 közlemény adatait tartalmazza, melyek különböző módon kapcsolódnak a dolgozat tematikájához. Itt jó lett volna kettéválasztani a közleményeket a dolgozat tematikájához közvetlenül kapcsolódó valamint egyéb közleményekre. A 2013. 07. datálású MTMT adatok szerint a megadott 62 közlemény (ezek közül 50 olyan, amely a kandidátusi fokozat megszerzése óta született) összes impakt faktora 116,5; összes hivatkozás száma 1672 (ebből független 1384). A felsorolt 62 közleményből 30 esetben jelölt az első szerző. Egyszerűs közleményeinek száma 4 (ezek impakt faktora 10,2). Összes idézettségét figyelembe véve "h-index" adata 21. Ezek a tudományometriai tények jól jellemzik jelölt kvalitásait és nemzetközi elismertségét.

A munkában zavaró sajtóhibát keveset találtam. Bírálóként nem is az esetleges megtalálható sajtóhibák felsorolása fontos, ám néhány, a lényegét nem érintő formai kérdést azért megemlítenék.

- A 18. oldal 3. ábrájában zavaró, hogy közvetlen aláírás helyett visszautal a 2 oldallal korábbi 2. ábra aláírására.

- A 29. oldal 9. táblázatban jó lett volna egy külön oszlopban feltüntetni a referencia energiaértékeket és megadni eredetüket.

A benyújtott dolgozat alapján megállapítható, hogy Ferenczy György jelentős önálló kutatómunkát végzett a különböző méretű molekuláris rendszerek számítási kémiai módszerekkel történő vizsgálatairól. Az elméleti módszerekkel végzett munka célja mindvégig az volt, hogy a molekuláris kölcsönhatások számítógépes eljárások segítségével történő vizsgálatára alkalmas módszereket fejlesszen, illetve e módszerek teljesítőképességét és pontosságát ellenőrizze. Munkáját mindvégig oly módon végezte, hogy a módszereivel nyerhető eredményeket a magas szintű számításokkal és kísérleti adatokkal szoros összhangban értelmezte. A dolgozat alapján megállapítható, hogy Ferenczy György három fő területen ért el komoly eredményeket, melyeket dolgozata végén 14 tézisszerű pontban foglalt össze.

(1) Az első témakörben (1-4. „tézispontok”) a molekulák töltéseloszlásának egyszerűsített leírását lehetővé tevő módszer mutat be, amely a töltéseloszlást olyan többcentrumú multipólus sorokkal írja le, ahol a multipólus sorok helyzete tipikusan az atommagok helyzetével egyezik meg, de szükség esetén a magpozíciókon kívül eső sorok is alkalmazhatóak.

Ezt a módszert kiterjesztette a polarizáció közelítő leírására is, így az indukált dipólusok indukált töltésekkel történő helyettesítésével mód nyílik klasszikus erőkben az elektrosztatika és a polarizáció egységes kezelésére vagy QM/MM számításokban a klasszikus rendszer polarizációjának figyelembevételére.

Az effektív multipólusok és effektív töltések tulajdonságainak és alkalmazhatóságának vizsgálata során úgy találta, hogy az elektronkorreláció elhanyagolása összemérhető hibát okoz a polarizációs energia elhagyásából származó hibával, ám e két hiba kioltása azonban közelítő és esetleges. Az erők pontosabbá tétele tehát egyszerre kívánja meg a két hatás figyelembevételét, amelyre az általa vizsgált töltés- és polarizációs számítási módszer alkalmas keretet kínál. A hullámfüggvényből származó töltések egymásközi polarizációjának számításakor azonban korrekcióra van szükség, mivel ez már részben megjelenik a töltésekben.

(2) A második tématerület (5-8. „tézispontok”) fő témája a kvantummechanikai / molekulamechanikai (QM/MM) módszerek alrendszerének elválasztásának kezelésére alkalmas módszerek vizsgálata / fejlesztése volt. Az alrendszerek összekapcsolására alkalmas lehetséges megközelítések közül a rögzített lokalizált pályákkal történő elválasztást vizsgálta. Megmutatta, hogy a korábban félempirikus kvantumkémiai közelítés kezelésére kifejlesztett módszer ab initio Hartree-Fock szintre történő kiterjesztése során két megközelítés lehetséges és hogy a vizsgált QM/MM módszerekben az MM alrendszer ponttöltéseiként előnyösen alkalmazhatóak az előző témakörben vizsgált effektív töltések.

Az egyik bemutatott megközelítés alapja az, hogy a Huzinaga-egyenlet megfelelő bázis hozzárendeléssel alkalmas a QM hullámfüggvény meghatározásánál a rögzített lokalizált pályákra ortogonális molekulapályák számítására (ekkor az egyenlet iteratív önkonzisztens megoldásához a QM/MM határon megfelelően választott atomtörzs töltések és kötéstöltések bevezetése szükséges).

E megközelítés alternatívájaként megmutatta, hogy a lokális bázis egyenlet alapján lehetséges az energia stacionaritását biztosító nem ortogonális pályák számítása. A lokális bázis egyenlet

iteratív önkonzisztens megoldása gyors konvergenciát biztosít, a konvergencia kevésbé érzékeny a bázisfüggvények molekulapályákhoz rendelésre és az iteratív önkonzisztens megoldás kötéstöltések bevezetése nélkül is lehetséges, azonban a hullámfüggvény QM/MM határon fellépő torzulása néhány számított tulajdonság pontosságát csökkenti.

Megmutatta azt is, hogy a lokális bázis egyenlet lehetőséget ad *a priori* lokalizált pályák meghatározására és így olyan kedvező számításigényű 3 rétegű QM/QM/MM rendszer hozható létre, amelyben a központi, delokalizált hullámfüggvényt alkalmazó rendszert lokalizált pályákat tartalmazó alrendszer, és ez utóbbit pedig MM alrendszer veszi körül.

(3) A harmadik tématerület (9-14. „tézispontok”) vizsgálataiban ligandumok fehérjéhez való kötődésének kölcsönhatásait és termodinamikáját elemezte gyógyszerkutatói szempontok szerint. A vizsgálatok alapja az a felismerés volt, hogy a gyógyszerjelölt vegyületek célfehérjéhez kötődése során fellépő entalpia nyereség és azok előnyös farmakokinetikai sajátságai között összefüggés mutatható ki és az elérhető entalpia nyereség, szemben a szabadentalpia nyereséggel, nem mutat monoton növekedést a ligandum méretével.

A ligandum kötődés termodinamikájának méretfüggése értelmezhető a kötődést meghatározó kölcsönhatásokkal. Míg a néhány atomos molekulák esetén a kötődésben a kötődési entalpia mutatkozott dominánsnak (azt néhány az optimálisához közeli H-hídkötés biztosítja), addig a molekulák méretének növekedésével a kötődési szabadentalpia nyereség növekedése elsősorban döntően entrópius eredetűnek bizonyult (az optimálisához közeli H-hídkötések száma kevésbé növekszik így a növekedés elsősorban az apoláris deszolvatációból származik).

A ligandum hatékonyság (LE) maximális értéke (azaz az egy nehézatomra jutó maximális kötődési szabadentalpia nyereség) néhány atomos molekulák esetén növekszik a mérettel (növekvő számú optimális H-hídkötés miatt), majd nagyobb molekulák esetén a mérettel csökken (az apoláris deszolvatáció méretfüggése kisebb). Ebből következően a gyógyszerkutatói projektek kezdeti fázisában a kisebb méretű gyógyszerjelöltek azonosításakor célszerű a maximális entalpius kötődésének elérésére törekedni. Ebben lehet hasznos a fragmens alapú gyógyszerkutató, amely kisméretű, poláris, entalpiusan kötődő kémiai kiindulópontokat azonosít.

A gyógyszerjelöltek optimalizálása során jellemzően a molekulák mérete nő, ami a vegyületek fizikai-kémiai és farmakokinetikai paramétereinek előnytelen változásának irányába hat. Az optimalizálás során az újabb vegyületek farmakokinetikai sajátságainak előnytelen irányú változásainak adott határok között tartásához szükséges azok monitorozása, célszerűen olyan indexekkel, amelyek egyszerűen számíthatók és emellett a vegyületeket jól jellemzik. A már bevezetett ligandum hatékonyság (LE), méret-független ligandum hatékonyság (SILE), vagy a ligandum-hatékonyság függő lipofilicitás (LELP) mellett jelölt javasolta a vegyületek farmakokinetikai tulajdonságainak kötődési entalpiatartalomtól függő leírójaként a méret-független entalpius hatékonyság (SIHE) indexet. A SIHE jól használható különböző méretű vegyületek összehasonlítására, mivel maximális értéke a molekulamérettől függetlenül 1 körüli.

A fenti témakörökkel kapcsolatos általánosabb jellegű kérdéseim a következők:

(1) A molekulák töltéseloszlásának egyszerűsített leírását lehetővé tevő, a töltéseloszlást az atommagok helyzetével megegyező helyzetben lévő többcentrumú multipólus sorokkal leíró módszer vizsgálatakor elsősorban egyszerűbb rendszerek (víz klaszterek; H-F dimer; H_2O – HCl; C_2H_2 -HCN és C_6H_6 – NH_3 molekulapárok, endotiapepszin aktív hely modell)

kölcsönhatásait vizsgálva vont le következtetéseket. Mennyire helytállóak e következtetések/módszerek a biológiai rendszerekben gyakran fontos szerepet betöltő fémek, fémkomplexek, fémionok (Fe: hemoglobin, oxidoreduktázok; Mg: klorofill; Zn, Mn, Cu, Fe: szuperoxid dizmutázok; Co: B₁₂-koenzim; stb.) kölcsönhatásai során, illetve közelségében?

(2) Mennyire „dinamizálható” a jelölt által vizsgált QM/MM illetve QM/QM/MM rendszer? Elképzelhető-e a QM/MM illetve a további QM/QM/MM számítások során az, hogy a határfelület nem statikus, hanem az egyes alrendszerek között egy olyan „határréteget” definiálunk, amelyet a számítások alapjaiban az alacsonyabb számításigényű módszerrel (pl. az MM) kezelnek, ám időről időre kiterjesztik rá a magasabb számításigényű módszert (pl. QM) és azzal „korrigálják”?

(3) a) Összehasonlították-e a PDB adatbázis kb. 1300 ligandum-fehérje komplexében található molekulák általános sajátosságait a tényleges gyógyszerhatóanyagok általános tulajdonságaival? (A PDB adatbázis ligandumai gyakran nem gyógyszerhatóanyag-szerűek, hanem a kristályosodást segítő komponensek, ill. a biokémiai/szerkezeti vizsgálatokat segítő inhibitorok).

b) Mennyire hasonló a PDB és a validáltan gyógyszer célfehérjék halmaza? (A PDB igen nagyszámban tartalmaz nem humán fehérjét: míg a humán fehérjék részaránya csupán 6,6%, addig a prokarióta *Escherichia coli* ill. *Thermus thermophilus* eredetű proteineké 19,2 ill. 26,3%).

c) A vizsgálatokhoz felhasznált mintavételezést erősen torzíthatja az, hogy a PDB-ben egy-egy ligandum vagy fehérje erősen túltreprezentált lehet (egy „bevált”, ill. „népszerű” inhibitor vagy egy népszerű kutatási terület: ld. *Thermus thermophilus* eredetű proteinek 26,3% részaránya, ami kb. négyszerese a gyógyszerkutatás szempontjából érdekes humán fehérjék részarányának). Valószínűleg ilyen okokra visszavezethető erőteljes torzítás figyelhető meg a 26. ábra 44 és 45 HA (nehézatom) esetében, ahol a ligandum kötődés entalpiikus komponensének logaritmizált értéke (pKH) HA= 44 értéknél az összes esetben pozitív, míg a HA= 45 értéknél majdnem minden esetben negatív (ekkora ugrás egy tulajdonság kb. 2%-os változása esetén csak ilyen módon értelmezhető). Mennyire lehet ezek fényében komoly megállapításokat tenni a méretfüggő tendenciákról (27. ábra) úgy, hogy azok adatainak végpontja a HA 45 érték, amit pontosan az említett szisztematikusan tűnő hiba erősen torzít. Milyen értékek tartoznak a 27. a), b), c) ábra HA= 50 értékeihez és ez mennyiben befolyásolhatja az általános tendenciákról itt levont következtetéseket?

Mindezen kérdések tisztázó célúak és semmit sem kérdőjeleznek meg a munka magas színvonalú tudományos értékéből. Hangsúlyozandónak tartom, hogy a számítások olyan molekuláris szintű sajátosságok feltárására nyújtanak lehetőséget, amelyek kísérleti módszerekkel közvetlenül nem vagy csak igen nagy költségekkel tanulmányozhatóak.

Az értekezés áttekintésekor igen szép volt látni, hogy elsősorban a kandidátusi fokozat megszerzéséhez felhasznált munkát – a töltések és dipólusok jellemzése és felhasználása félempirikus QM számítások során – hogyan használta fel és teljesítette ki egyre komplexebb módon különböző méretű rendszerek molekuláris kölcsönhatásainak számítógépes módszerekkel történő jellemzésére. Jól követhető, hogy hogyan szélesedik ki e tevékenység – színvonalas nemzetközi együttműködések is felhasználva – a molekuláris kölcsönhatások, kötőhelyek és kötőmódok finomabb részleteinek értelmezésére (QM/MM ill. QM/QM/MM módszerek), majd a kötési módok termodinamikájának vizsgálatára. A területen elért

eredményekből rangos fizikokémiai / kémiai / biokémiai folyóiratokban a kandidátusi fokozat megszerzése óta közölt 50 közlemény és az ezekre kapott 1000 fölttíre tehető idézet jól tükrözi ezen erőfeszítések eredményességét. Emellett számomra ugyancsak igen meggyőzően mutatja Ferenczy György nemzetközi elismertségét az is, hogy a QM/MM határfelületek kezeléséről általam átnézett, 2004-2014 között megjelenésű 5 db összefoglaló cikkekben és a QMMM program leírásában átlagos idézettsége 2 idézet/közlemény. Ennek megfelelően javaslom az értekezés MTA doktora fokozat megszerzéshez szükséges nyilvános vitára bocsájtását, és sikeres védeés esetén az MTA doktora fokozat odaítélését.

Budapest, 2014. augusztus 1.



(Dr. Poppe László)