

## Válasz Mátyus Péter professzor bírálatára

Köszönöm dolgozatom tanulmányozását, az észrevételeket és a felvetett kérdéseket. Válaszaim ezek számozását követve a következők.

1)

Az a megjegyzésem, miszerint a töltések számításánál az elektronkorreláció elhanyagolása, és ennek következtében a molekula polaritásának növekedése hasonló nagyságú hibát okoz a kölcsönhatási energiákban, mint a polarizáció elhanyagolása részben mások eredményeire, részben pedig néhány, azokat megerősítő, saját számításra, továbbá irodalmi adatok elemzésére épül. A két elhanyagolásból származó hiba közelítő kioltását a disszertáció 26-28 hivatkozásaiban vetik fel, de tudomásom szerint kvantitatív módon nem vizsgálták. A disszertációban nem részletezett, de a *J. Phys. Chem. A* 1997, 101, 5437 cikkünkben közölt elemzés számszerűen vizsgálja több példára a két elhanyagolás okozta hibát. Véleményem szerint általánosítani a hiba kioltásának mértékére nem lehet. Elemzésünk jelentőségét inkább abban látom, hogy megerősíti, miszerint az elektron korreláció és a polarizáció közül az egyiknek a figyelembe vétele a másik nélkül ronthatja az eredményeket. Más szóval, polarizációs erőterek töltéseinek számítása megkívánja az elektronkorreláció figyelembe vételét.

A módszerünkkel kapható töltések alkalmazásának lehetőségeit és korlátait felvető kérdésre vonatkozóan előre kívánom bocsátani az atomi töltések önkényes voltát. Ennek közvetlen következménye, hogy az intermolekuláris elektrosztatikus kölcsönhatási energiát jól reprodukáló töltések nem feltétlenül felelnek meg a molekulán belüli töltéseloszlásnak, és így a kémiai szemléletnek. Ezzel kapcsolatban emlékeztetek az elektrosztatikus potenciálhoz illesztett töltések esetenként irracionális értékére. Módszerünk ebből a szempontból előnyösebb viselkedését az biztosítja, hogy a molekula töltéssűrűségét reprezentáló atomi multipólusok hatását jól tükrözi, ugyanakkor annak köszönhetően, hogy az egyes multipólusokat közeli ponttöltésekkel ír le, megőrzi a lokális töltéssűrűség jellemzőit, és így alkalmas a molekulán belüli töltéseloszlás jellemzésére nemcsak a felszínhez közeli atomok esetében.

Ami a korlátokat illeti, ott figyelembe kell vennünk, hogy töltésszármaztatási módszerünk egyrészt a molekula hullámfüggvényét, másrészt a hullámfüggvényből származtatott többcentrumú multipólusokat (Distributed multipole analysis - DMA - eredményét) használja fel. Így a töltések származtatásának előfeltétele, hogy a rendszerre jó minőségű hullámfüggvényt számíthassunk. Ennek következménye, hogy csak korlátozott méretű rendszerekre alkalmazható. Ezen részben segíthetünk a teljes rendszer elemekből való összerakásával, például aminosavak töltéseiből felépíthetjük egy fehérje töltéseit, amint azt klasszikus erőtereknél is ismert. A DMA számítás szükségessége nem jelent elvi korlátot. Annak újabb változata (A. J. Stone *J. Chem. Theory Comput.* 2005, 1, 1128) nagymértékben javította a korábbi változatnál tapasztalt bázisfüggést, és bár számításigénye nem elhanyagolható, tapasztalatom szerint nem éri el a hullámfüggvény számításigényét. Töltésszámítási módszerünk alkalmazásának ugyanakkor gyakorlati korlátot szab az a tény, hogy a DMA eljárást megvalósító számítógépes programok nem minden kvantum kémiai program eredményét tudják felhasználni.

2)

i) A fehérje-ligandum kötődési termodinamikával kapcsolatos megállapítások nagyszámú adat elemzésére épülnek. Joggal merül fel a kérdés, hogy ezek mennyire általánosak, a makromolekulás gyógyszer-célpontok mely csoportjaira állnak fenn. Hasonló felvetést fogalmaz meg Poppe László professzor 3b kérdése, így az alábbiakban adott válasz nagyrészt megegyezik az ott leírtakkal, némi kiegészítéssel a nukleinsavakhoz való kötődésre vonatkozóan.

Az adatok, amelyeket elemeztünk, döntő részben izotermális titráló kalorimetriás mérésekből származnak, így oldható fehérjékre vonatkoznak. Hangsúlyozni kívánom, hogy ez a korlát technikai jellegű, amely a mérés sajátjaiból fakad. Ugyanakkor a feltárt összefüggéseket racionalizáló megfontolások az összefüggések széles körben való érvényességét valószínűsítik. Így a kötődési entalpia domináns volta kisméretű ligandumoknál, majd a méret növekedésével a deszolvatációból származó entrópiikus tag előtérbe kerülése összhangban van egyrészt Hann és munkatársai komplexitás modelljével (M. M. Hann, A. R. Leach, G. Harper J. Chem. Inf. Comput. Sci. 2001, 41, 856), másrészt a poláris kölcsönhatások és a deszolvatáció méretfüggő szerepével (G. G. Ferenczy, G. M. Keserű J. Chem. Inf. Model. 2012, 52, 1039). A komplexitás modell szerint, molekulák kedvező illeszkedésének optima van a kölcsönható csoportok számának függvényében. Ez korlátot jelent az ilyen kölcsönhatások számára. Ezzel összhangban, a molekulaméret növekedésével a poláris kölcsönhatásokból származó entalpia és a deszolvatációból származó entrópia hozzájárulások közül az utóbbi kerül túlsúlyba, mivel az ebből elérhető nyereség – legalább is ebben a tartományban – a molekulamérettel monoton nő. Meg kívánom még említeni azt az észrevételt, hogy a ligandum méretével a maximális affinitás (kötődési szabadentalpia) nagyon hasonlóan változik az általunk vizsgált, döntően enzim komplexekre, valamint az általános, vagyis a fehérjére való megkötés nélküli komplexekre (lásd a disszertáció 24. ábráját). Mindezek arra utalnak, hogy a kötődési termodinamika ligandum méret függésével kapcsolatos megfontolások a fehérjék széles körére érvényesek. Ugyanakkor egyes fehérjetípusoknál az adott típusra jellemző sajátosságok megjelenhetnek a kötődés termodinamikai profiljában. Ezzel kapcsolatban meg kívánom említeni, hogy a döntően entalpia nyereséggel kötődő fragmensek esetében a néhány entalpia növekedéssel létrejövő komplexben a ligandumok fémionokhoz kötődnek (J. Chem. Inf. Model. 2012, 52, 1039). Egy másik, a gyógyszerkutatás szempontjából lényeges észrevétel, hogy egy adott GPCR-nél az agonisták és az antagoniszták gyakran jól elkülöníthető termodinamikai profillal kötődnek. Ennek magyarázata, hogy a ligandum kötődése a fehérje eltérő szerkezeti változásával jár együtt agonisták, illetve antagoniszták esetén, aminek termodinamikai következménye megjelenik a mért entalpia és entrópia változásokban. Ezzel analógiát mutat molekulák nukleinsavakhoz való kötődése abból a szempontból, hogy az tipikusan két módon valósul meg, vagy a bázispárok közé való beékelődéssel, vagy a DNS árokba való beilleszkedéssel. A két fajta kötődés termodinamikai profil alapján általában elkülöníthető; az előbbiek entalpia, az utóbbiak entrópia vezérelt kötődésűek (J. B. Chaires *Annu. Rev. Biophys.* 2008, 37, 135). Összefoglalva azt mondhatjuk, hogy kedvező tulajdonságú gyógyszerjelölt molekulák azonosításának általános elve az optimális poláris kölcsönhatások biztosította maximális entalpia nyereséggel járó kötődés megvalósítása. Az elv alkalmazásánál figyelembe kell venni egyrészt a kötődési entalpia ligandum méret függését, másrészt az egyes fehérje – vagy általánosabban biopolimer - típusok jellemzőit.

ii) Egyetértek azzal a megfogalmazással, miszerint az optimális geometriájú, és így a kötődés szabadentalpia nyereségéhez hozzájáruló hidrogénkötések számának átlagértéke kettő. Ebben az esetben is, akárcsak a kötődési termodinamika ligandum mérettől való függésénél, megítélésem

szerint a talált átlag tényleges értékénél jelentősebb az a felismerés, hogy az ilyen hidrogénkötések száma nem, vagy csak alig nő a ligandum mérettel. Ugyanakkor az ilyen hidrogénkötések számának jelentős szórása jelezheti azt, hogy ez a szám fehérjecsatlád függő.

3)

A kötődési termodinamikai vizsgálatokban központi helyet foglal el az a felismerés, hogy az entalpián kötődő, és így megfelelő poláris csoportokat tartalmazó molekulák kedvezőbb farmakokinetikai tulajdonságokkal rendelkeznek, mint az entrópián kötődő, döntően apoláris molekulák. Ugyanakkor teljes mértékben osztom azt a véleményt, hogy a farmakokinetika több, egymástól részben vagy teljesen független folyamat kifejezője, amelyek mindegyike részben vagy teljesen eltérően függhet a molekulaszervezettől. A fentiek összeegyeztetése csak a gyógyszerkutatás komplex feltételrendszerét egyszerűsítő törekvés keretében értelmezhető. Ennek a törekvésnek a létjogosultságát mutatják a Lipinski-féle szabályok, amelyek négy egyszerű szerkezeti sajátossággal társítják az orális adagolást lehetővé tevő farmakokinetikai tulajdonságokat. Ezek a szabályok azonban statisztikus jellegűek, alkalmas szűrők nagyszámú vegyület vizsgálatánál, és a gyógyszerkutatás folyamatában előrehaladva visszaszorulnak, hogy helyüket részletes (in vitro majd in vivo) farmakokinetikai vizsgálatok vegyék át. Hasonló a kötődési termodinamika szerepe is, amelynek hasznát a gyógyszerkutatási folyamat elején, elsősorban a kémiai kiindulópont azonosításában és a korai optimálásban látom.

4)

A ligandum hatékonyság indexek szerepének értékelésekor az előző, 3), pontban megfogalmazottakkal látok analógiát. Ezek az indexek a többféle szempont (affinitás, entalpiás kötődés, lipofilicitás) egyszerűsített kezelésére hivatottak. Segítségét elsősorban a gyógyszerkutatási folyamat elején, nagyobb számú vegyület válogatásánál, valamint az optimálási folyamat követésénél jelentenek. A gyógyszerkutatási folyamatban előrehaladva helyüket a gyógyszerjelöltek részletes jellemzése veszi át. Az indexek hasznosságát ugyanakkor jelzi, hogy azonos célponton ható vegyületeknél a bevezetett gyógyszerek indexei gyakran felülmúlják a többi vegyületét. Egyetértek azzal, hogy speciális esetekben, például több támadáspontú gyógyszer keresésénél – tekintettel a szokásostól eltérő követelményekre – a hatékonysági indexek alkalmazása fokozott körültekintést igényel.

5)

Köszönöm a „technikai megjegyzéseket”, amelyek szóhasználatra és helyesírásra vonatkozó észrevételek.

i) Elfogadom, hogy a disszertáció Bírálóm által javasolt címe pontosabban fejezi ki annak tartalmát, ugyanakkor az általam választott cím utal a „Kiterjedt rendszerek modellezése közelítő kvantumkémiai módszerekkel” című kandidátusi értekezésemhez való kapcsolódásra.

ii) Az általam használt „kötődési termodinamika” az angolban elterjedten használt „binding thermodynamics” kifejezés fordítása, de ami ennél lényegesebb, hogy megítélésem szerint pontosan fejezi ki, hogy a termodinamikai mennyiségek kötődést kísérő változásáról beszélünk. A „kölcsonhatási termodinamika” kifejezésnél én ezt kevésbé érzem így.

Még egyszer köszönöm munkám alapos és tanulságos elemzését, valamint az elismerő véleményt!

Budapest, 2014. szeptember 11.

Ferenczy György