



**BUDAPESTI MŰSZAKI ÉS GAZDASÁGTUDOMÁNYI EGYETEM
VEGYÉSZMÉRNÖKI ÉS BIOMÉRNÖKI KAR**

Átmenetifém-tartalmú biológiailag aktív rendszerek reaktivitása

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Készítette: Dr. Oláh Julianna
Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék



2021

1. Bevezetés és célkitűzés

Az átmenetifémek, s különösen a vas szerepének fontossága vitathatatlan a biológiai rendszerekben. Már az evolúció elején fontos szerep jutott a vas-kén fehérjéknek a kezdetleges mikroorganizmusokban, s a vas az evolúcióval párhuzamosan sokrétű szerepre tett. Nagyszámú enzim és komplex központi ionja, az oxidációs-redukciós folyamatok, az elektron-transzportlánc és az oxigén homeosztázis (tárolás és szállítás), valamint számos biológiai jelző rendszer kulcsszereplője. Részt vesz a bioszintézisben, a DNS replikációban, és a biológiai nitrogén-fixálásban is.

A molekuláris biológia, a DNS szekvenáló módszerek, és a bioinformatika fejlődésével hatalmas mennyiségű információ áll rendelkezésünkre a fehérjék szekvenciájáról. Hála a röntgen-diffrakciós és NMR vizsgálatoknak egyre több fehérje pontos térszerkezetét is megismerjük. Érdeemes belegondolni azonban, hogy csak a cisztein-ligát hemcsoportot tartalmazó citokróm P450 enzimek (CYP) családjába már 2018-ban több, mint 300 000 ismert fehérje tartozott. Noha egyre jobban megismerjük ezen biokatalizátorok működését, atomi szinten viszonylag keveset tudunk róluk. Ez az a pont, ahol a számítási kémia komoly segítséget tud nyújtani. Az elmúlt évtizedek elméleti, metodológiai és számítástechnikai (pl. grafikai processzor: GPU megjelenése) fejlődésének köszönhetően mára rendelkezésre állnak azok a módszerek, amelyekkel rutinszerűen 100-200, de akár párezer atomos rendszerek elektronszerkezetét vizsgálhatjuk, s megérthetjük a reaktivitásukat befolyásoló faktorokat. A GPU-gyorsított molekuladinamikai kódok elterjedésének következtében a fehérjék konformációs terének vizsgálata is egyre nagyobb rendszereken válik lehetővé, és több száz ns, de akár ms hosszúságú klasszikus MD szimulációk is belátható idő alatt végrehajthatóak. Ezen módszerek együttes alkalmazása pedig (pl. kombinált kvantumkémiai molekulamechanikai módszerek (QM/MM) formájában, de más módokon is) lehetőséget teremt arra, hogy az enzimműködésben vizsgáljuk a kémiai reakciókat.

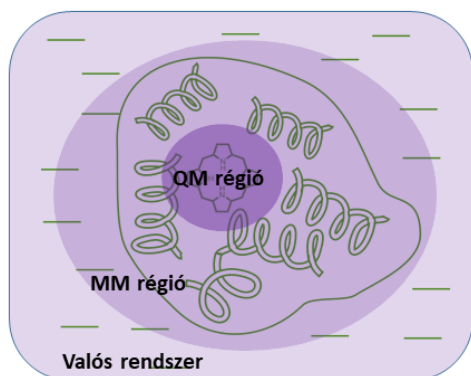
A doktori értekezésemben négy témakörrel foglalkoztam részletesebben: (1) a citokróm P450 enzimek reaktivitásával, amelyek gyakorlatilag minden élőlényben megtalálhatóak, és az emberi szervezetben a gyógyszerek lebontásának 90%-áért felelősek (2) a kétatomos gáz-molekulák és hemtartalmú rendszerek kölcsönhatásával, amely fontos szerepet játszik a biológiai jelátvitelben (3) az izopropil-malát dehidrogenáz enzim által katalizált reakció mechanizmusával és (4) egy mesterséges nitrogén-fixálásra alkalmas katalizátor működésével.

A disszertációm célja kettős. Egyrészt szeretném bemutatni, hogyan segítheti a számítási kémiai módszerek megfelelő megválasztása az enzimek és biomimetikus rendszerek reaktivitásának megértését, másrészt az eredményeink hogyan járulhatnak hozzá hosszútávon pl. gyógyszer-molekulák, vagy nitrogén-fixálásra alkalmas katalizátorok tervezéséhez.

2. Alkalmazott módszerek

A dolgozatban bemutatott tanulmányokban a sűrűségfüggvény-elméleten (DFT) alapuló számítások központi szerepet játszanak a vizsgált fehérjék és a biomimetikus nitrogénáz aktivitású katalizátor modellezésekor is. Mivel a DFT funkcionálok megbízhatósága eltérő lehet különböző átmenetifém-tartalmú rendszerek esetén, ezért több esetben kanonikus illetve lokális CCSD(T) módszerek segítségével határoztuk meg ezen módszerek pontosságát.

Fehérjék szerkezetét molekuladinamikai szimulációk segítségével, reaktivitását pedig hibrid kvantumkémiai / molekulamechanikai (QM/MM) módszerek segítségével vizsgáltuk (1. ábra).



Fehérje modellezésre használt protokoll

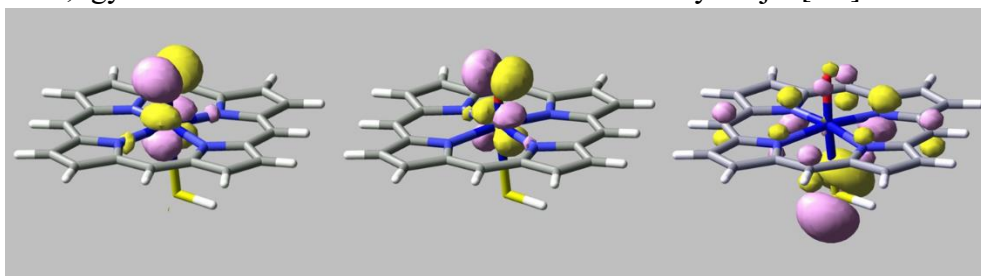
1. Kiindulási szerkezet: PDB adatbankból
2. Fehérje szerkezet kritikus vizsgálata
3. Savas/bázikus oldallánccok protonáltsági állapotának meghatározása
4. Ligandum paraméterezése (szükség esetén)
5. Ligandum dokkolása (szüksége esetén)
6. Rendszer szolvatációja
7. A rendszer szerkezetének optimalizációja MM módszerrel
8. MD szimuláció
9. Szerkezetek kiválasztása a trajektóriából QM/MM számításokhoz
10. QM régió kiválasztása
11. Reakciókoordináta kiválasztása
12. QM/MM energiaprofilok felvétele

1. ábra QM/MM számítások lényegének sematikus ábrázolása, valamint a QM/MM számításokhoz használt protokoll

3. Új tudományos eredmények

3.1. Citokróm P450 enzimek

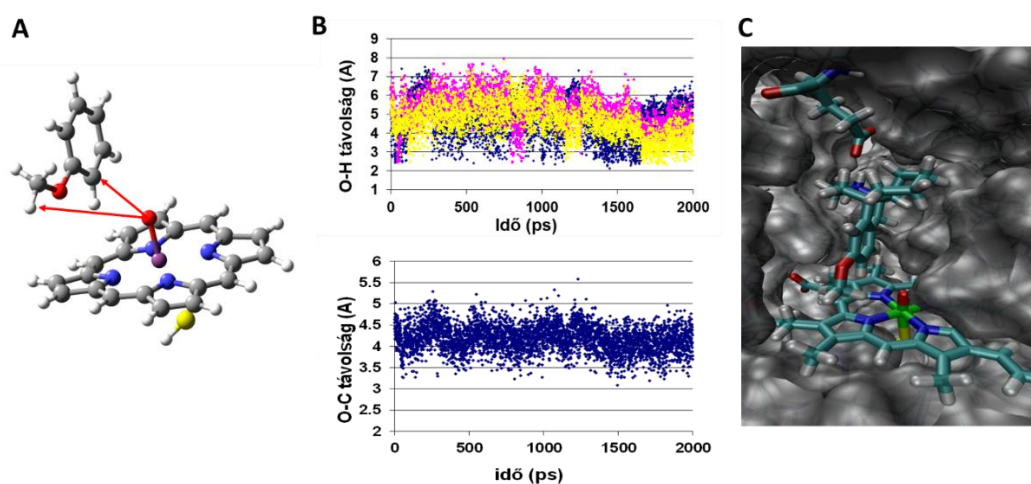
A citokróm P450 enzimek aktív formája egy vas(IV)-oxo porfirinyök-kation (Compound I, Cpd I), amelynek a reaktivitását a három egyszeresen betöltött molekulapályája határozza meg (2. ábra). Kidolgoztunk egy közelítő módszert a Cpd I-ban található Fe-O kötés entalpiájának megbecslésére, és összehasonlítottuk a humán CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4 és a bakteriális P450cam izoformák oxidáló képességét QM/MM számítások segítségével. Megállapítottuk, hogy a bakteriális izoformában a spinsűrűség az axiális kénatomon lényegesen kisebb, mint az emberi változatokban, az oxigén növekvő spinsűrűségével pedig az Fe-O kötési energia közel lineárisan csökken. A szubsztrát jelenléte az aktív helyen csökkenti az Fe-O kötési energiát és destabilizálja avvCpd I-et, melynek a környezet (polarizáció, hidrogén-híd) változásaira érzékeny elektronszerkezete nagyon hasonló a különböző izoformákban. Összeségében megállapítottuk, hogy a Cpd I tulajdonságai közel azonosak a vizsgált variánsokban, így ez a CYP enzimek szelektivitását nem befolyásolja. [D1]



2. ábra A Cpd I gázfázisú modelljének (vas(IV)-porfin gyűrű axiális tiolat és oxigén ligandumokkal) egyszeresen betöltött molekulapályái. Szürke: szén, fehér: hidrogén, sötétkék: központi vasion, világosabb kék: nitrogén, sárga: kén, piros: oxigén.

A dextrometorfán példáján keresztül elsőként vizsgáltuk egy gyógyszermolekula metabolizmusát QM/MM számítások segítségével. A kis hemmodell segítségével végzett

gázfázisú számítások és a molekuladinamikai szimulációk is azt jósolják, hogy az étercsoport demetilációjával az aromás gyűrű oxidációja is versenyképes reakció útvonal (3. ábra). Az fehérjekörnyezet figyelembevételével végzett QM/MM számítások egyértelműen kizárják az aromás szén oxidációjának lehetőségét, összhangban a kísérleti adatokkal, mivel a sztérikus kölcsönhatások miatt nem tud kialakulni az oxidációnak kedvező átmeneti állapot. Az aktív hely térszerkezete kulcsszerepet játszik a CYP2D6 enzim régiószeliktívásában. A CYP metabolitok dokkolással történő megjóslása esetén célszerű lenne a lehetséges átmeneti állapotok szerkezetét is felhasználni a predikciós képesség javításához. [D2]

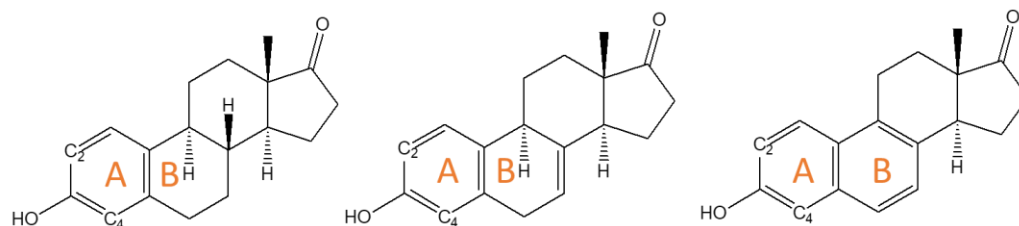


3. ábra (A) Dextrometorfán metabolizmusának gázfázisú modellje (szürke: szén, fehér: hidrogén, piros: oxigén, kék: nitrogén, sárga: kék, sötétszürke: vas.) (B) Az (A) ábrán nyíllal jelölt O-H (a metilcsoport három hidrogénjéhez) és O-C távolságok a 2ns hosszúságú MD szimuláció során, jelezve, hogy mind a metilcsoport, mind az aromás gyűrű a vas oxigénjének közelében marad a szimuláció egésze alatt (C) dextrometorfán elhelyezkedése a CYP2D6 izoforma aktív helyén. A szubsztrát és az aktív zsebet határoló hidrofób oldalláncok között számos sztérikus kölcsönhatások kialakul. Világoskék: szén, piros: oxigén, fehér: hidrogén, zöld: vas, kék: nitrogén.

Az ösztrogének létfontosságú női nemi hormonok, ugyanakkor hosszútávú követéses vizsgálatok jelzik, hogy a hosszú időn keresztül fennálló magas hormonszint kifejezetten megnöveli a mellrák kialakulásának kockázatát. Ezért vizsgáltuk az ösztrogének bioszintézisét és lebomlását is; mindkettőt CYP enzimek katalizálják.

Az ösztrogének lebomlásának két fontosabb útvonala a 2- és 4-hidroxiláció, mindkettő a szteránváz A gyűrűjén megy végbe, melyek közül a 4-hidroxilációt kifejezetten károsabbnak tartják (4. ábra). Az emberben az 1A1, 1A2, 1B1 és 3A4 CYP izoformák metabolizálják az öszttront. Megmutattuk, hogy az aktív hely szerkezete és a kötődési póz jelentősen befolyásolja a képződő termék anyagi minőségét az 1A1, 1A2 1B1 izoformákban, míg várhatóan a 3A4 izoformában a szubsztrát különböző szénatomjainak eltérő reaktivitása a legfontosabb tényező. A B gyűrű növekvő telítetlensége az öszttron <equilin <equilenin sorrendben (4. ábra) megnöveli a C₄-es szénatom nukleofilicitását és ez vezet ahhoz, hogy C₄-es szénatomon történő hidroxiláció aránya a C₂-es szénatomon történő hidroxilációhoz képest drasztikusan megnő

olyan izoformák esetén, amelyek aktív zsebbe nagy és viszonylag apoláris (pl. CYP3A4), amelybe az ösztrogén molekula szinte tetszőleges pozícióban be tud kötni. [D3]



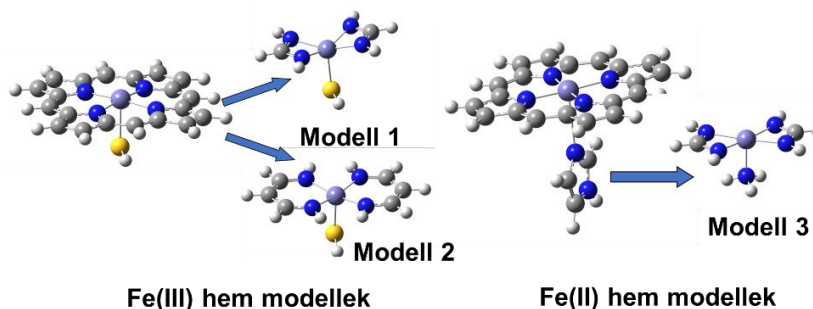
	ösztron	equilin	equilenin
Kísérleti termékarány: 2-OH:4-OH	9:1	2.4:1	<0.3:1
$\Delta E^{\#}_2 - \Delta E^{\#}_4$ (kísérlet)	-1,3	-0,8	>0.7
$\Delta E^{\#}_2 - \Delta E^{\#}_4$ (számított)	-0,4	0,0	3,3
Fukui index (f-) (C_2/C_4)	0.096/0.045	0.082/0.040	0.006/0.154

4. ábra A Premarin hormonpótló terápiás készítményében található fontosabb ösztrogénszármazékok szerkezete, páviának májából izolált mikroszómákkal előállított 2- és 4-hidroxilált termékek aránya 293 K-n és abból az Arrhenius-egyenlet alapján becsült aktiválási energiakülönbségek, a 2- és 4-hidroxilációs útvonalak B3LYP/6-311+G*+ZPE szinten számított aktiválási energiáiak különbsége és a nukleofil támadásra vonatkozó Fukui index (f)

Az ösztrogének bioszintézisében résztvevő humán aromataz enzim esetében egy speciális protonátadási útvonalat találtunk, melynek során az enzim szubsztrátjának enolizációja és a ferro-szuperokomplex protonálódása csatolt folyamatban valósul meg [D4]. Ezután a Cpd I forma könnyedén aromatizálja a szterán váz A gyűrűjét az ösztronszintézis utolsó lépésében, ami megfelel a legújabb kísérleti megfigyeléseknek is, melyek az Cpd I fontosságát támasztják alá szemben a peroxohemiacetál képződésével. [D5]

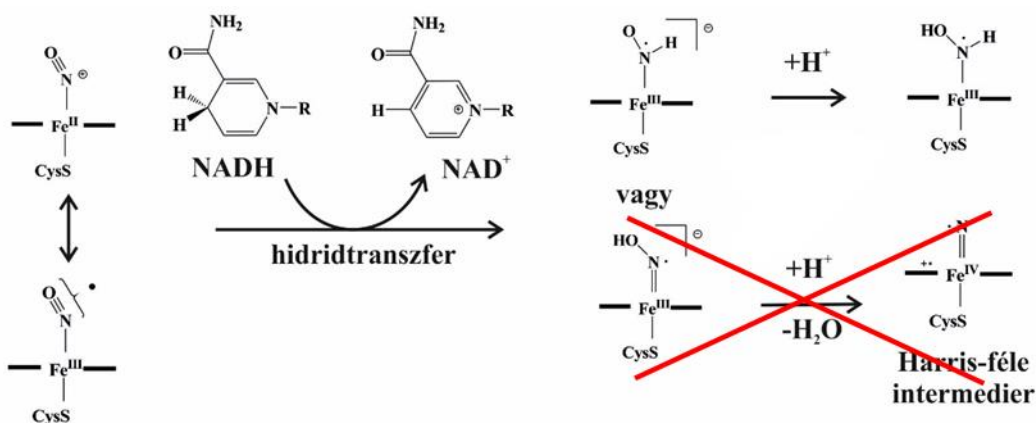
3.2. Gázmolekulák kölcsönhatása hemfehérjékkel

DFT és CCSD(T) számítások segítségével vizsgáltuk Fe(II)- és Fe(III)-iont tartalmazó hemmodellek (5. ábra) spinállapotai közti energiakülönbségeket és a nitrogén-monoxid kötési energiáját. Megállapítottuk, hogy a hibrid funkcionálok (B3LYP, B3PW91) helyesen visszaadják a rendszerek spinállapotainak energiakülönbségét magas szintű CCSD(T) számításokhoz képest, viszont a tiszta GGA funkcionál, a BP86 túlstabilizálja a rendszerek kisspinű formáját. A nitrogén-monoxid kötési energiáját tekintve ellentétes a trend: a hibrid funkcionálok jelentősen alulbecslik a kísérleti értékekhez képest az NO kötési energiáját, míg a BP86 valamivel pontosabb értéket ad. Eredményeink alapján megbecsültük az NO kötési energiáját való hemrendszerekben, amely 15 kcal/mol és 20 kcal/mol körüli értéknek adódott Fe(II)- és Fe(III)-porfirinekhez. [D6]



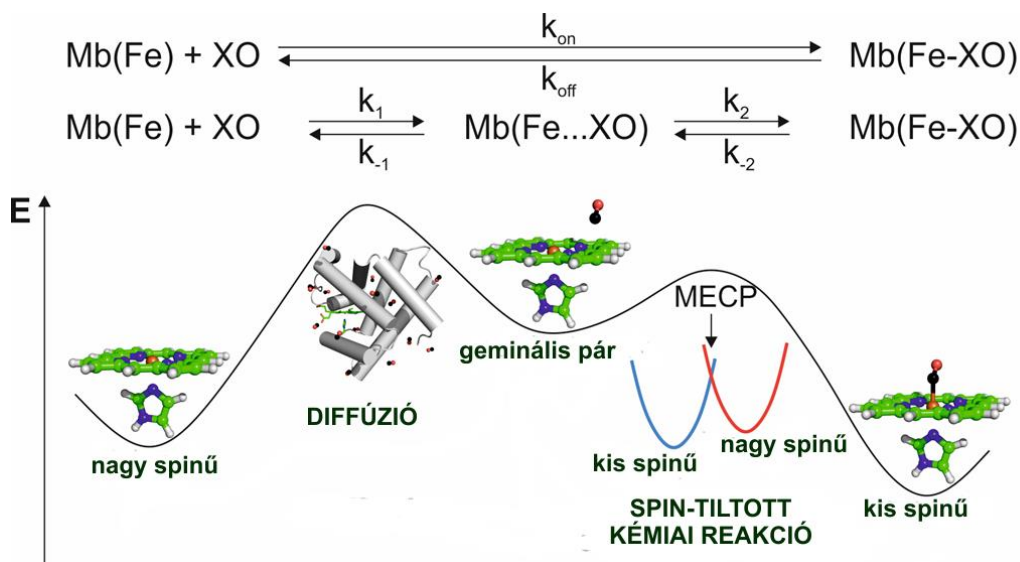
5. ábra Hemrendszerek vizsgált modelljai (szürke: szén, fehér: hidrogén, piros: oxigén, kék: nitrogén, sárga: kék, sötétszürke: vas.)

Megmutattuk, hogy a *Fusarium oxysporum*-ban található P450_{nor} enzimből a hidridtranszfer mindenképpen a vashoz koordinálódó nitrogén-monoxid nitrogénatomjára irányul (6. ábra), ezért nincs lehetőség a Harris-féle N-ferril intermedier kialakulására. [D7]



6. ábra Közvetlen hidridtranszfer és a Harris-féle (N-ferril) intermedier kialakulásának lehetséges útvonala a P450_{nor}-ban

Megalkottunk egy olyan modellt (7. ábra), amely segítségével gázok fehérjébe történő diffúziójának sebességi együtthatója számítható, és alkalmaztuk a mioglobinnra. A diffúzió sebességi együtthatóját hosszú molekuladinamikai számítások és egy 3 állapotot tartalmazó Markov-modell segítségével határoztuk meg. A spin-tiltott kémiai reakció reakciósebességi együtthatójának meghatározásához azonosítottuk a releváns spin-állapotok potenciális energia hiperfelületeinek metszéspontját. Megmutattuk, hogy a nitrogén-monoxid kötődése a mioglobinhoz diffúzió-kontrollált folyamat, de a szén-monoxid esetében a diffúzió sebessége és a kémiai kötés kialakulásának sebessége a vascentrum és a szén-monoxid között hasonló nagyságrendbe esik. [D8]



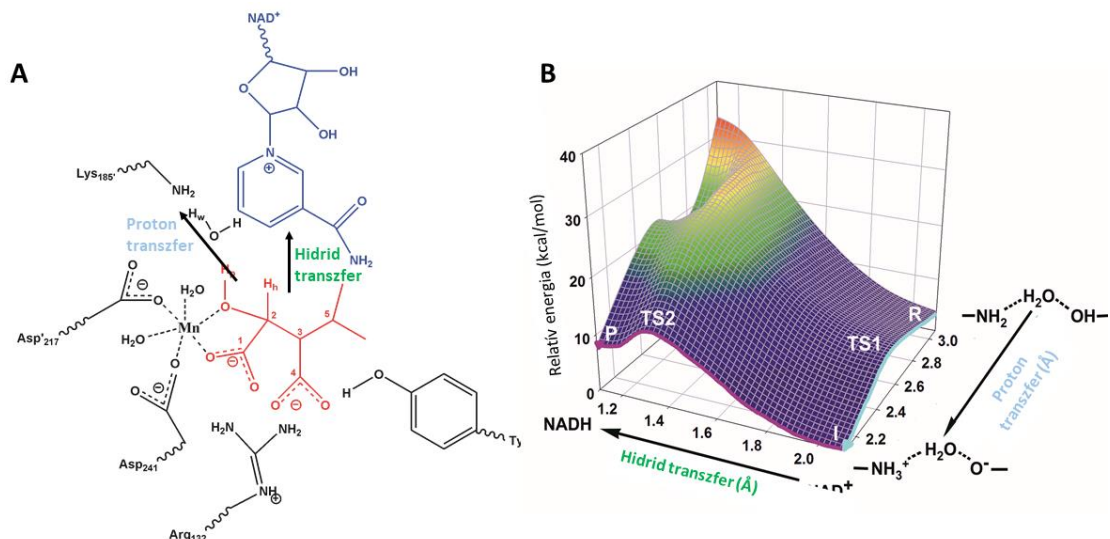
7. ábra Gázmolekulák és mioglobin (Mb) között lejátszódó reakció felbontása két fő lépésre. XO: NO vagy CO

A sejtszintű gázérzékelés megértésének céljából CO, NO és O₂ gázok diffúzióját vizsgáltuk három bakteriális (*Nostoc sp. (Ns)*, *Kordia algicida (Ks)*, *Caldanaerobacter subterraneus (Cs)*) fajok) H-NOX fehérjébe molekuladinamikai számítások segítségével. Megállapítottuk, hogy a gázok diffúziós reakciósebességi együtthatója a O₂>NO>CO sorrendben csökken mindegyik fehérjében, és a Ns > Ks > Cs, ha egy adott gáz esetén. Az gázkeverékeken végezett szimulációk azt mutatják, hogy a gázok közti versengés jelentősen befolyásolja a gázok tartózkodási idejét a disztális zsebben. A fehérjék csatorna rendszerét a fehérjék harmadlagos szerkezete határozza meg, de az oldallancok elzárhatnak bizonyos csatornákat, pl. sztérikus vagy kation-π kölcsönhatások révén. A fehérjékben számos gáztárolásra alkalmas zsebet azonosítottunk. A gázok viszonylag rövid tartózkodási ideje miatt gázzállításra alkalmas fehérjék tervezése esetén érdemes lehet több hemcsoportot beépíteni a fehérjébe, így növelve a gázmolekula kötődésének erősségét, vagy több fehérjét egymáshoz kapcsolni. [D9]

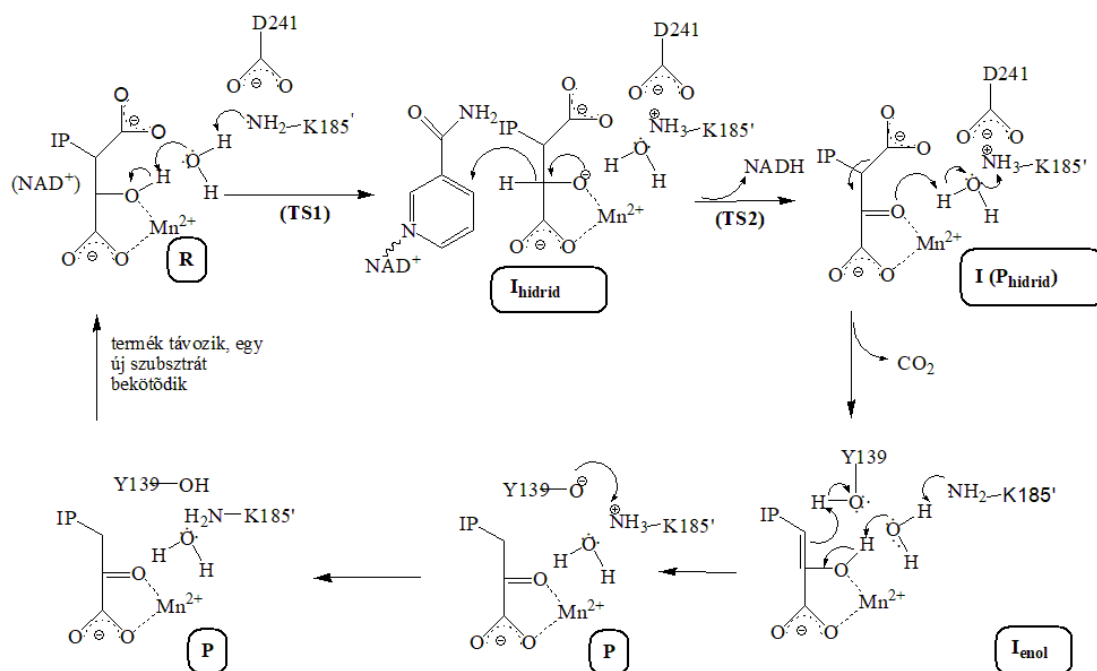
3.3. Az izopropil-malát dehidrogenáz enzim reaktivitása

Az izopropil-malát dehidrogenáz enzim fontos szerepet játszik a baktériumok aminosav-metabolizmusában, és potenciális antibakteriális célpont. A katalizált folyamat egy oxidációs és egy dekarboxilációs lépésre bontható. Megállapítottuk, hogy maga az oxidációs reakció is kétlépcsős folyamat: először egy proton vándorol át a szubsztrát β-helyzetű hidroxilcsoportjáról a K185'-ös lizin oldallánca nyugalmi helyzetben semleges aminocsoportjára, majd ezt követi a hidridiontranszfer a C₂-es szénatomról a NAD⁺ kofaktorra, amely a reakció sebességmeghatározó lépése (8. ábra) [D10]. A Mg²⁺ vagy Mn²⁺ kationok egymást helyettesíthetik az enzimben és fontos szerepet játszanak az izopropil-malát ligandum megkötése mellett a protontranszfer reakció katalizálásában és a képződő hidroxilátcsoporthoz stabilizálásában is. Az aktív hely közelében található káliumion és a nikotinamidgyűrű amidcsoportja között létrejövő elektrosztatikus kölcsönhatás eredményeként megnő az amidcsoport elektronszívó képessége, tovább polarizálódik a nikotinamid gyűrű, megnő a

hidridiont fogadó szétatom pozitív töltése, amely elősegíti a katalízist és a hidridion szubsztrátról NAD^+ kofaktorra történő vándorlását [D11]. A D241 és D217'-es aminosavak szintén elektrosztatikus hatásuk révén segítik elő a katalitikus reakció oxidációs lépését. A javasolt reakciómechanizmust a 9. ábra mutatja. [D12]



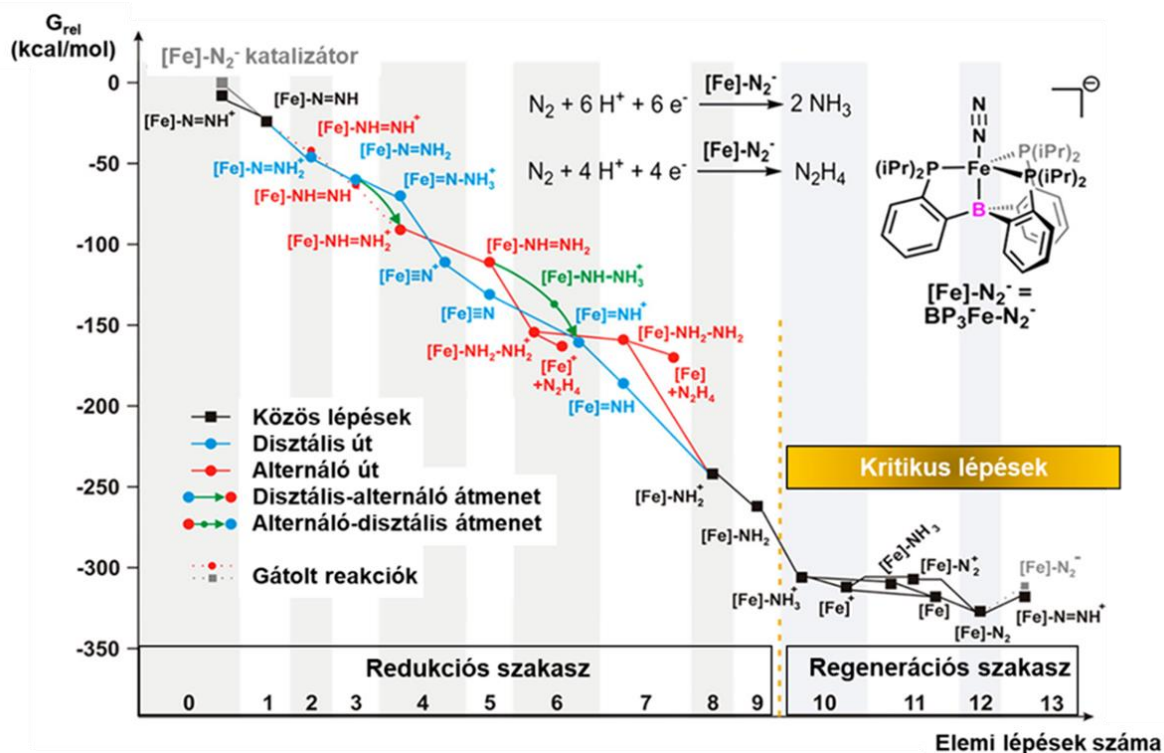
8. ábra (A) Az IPMDH enzim modellezése során a QM régióban szereplő oldalláncok. A QM régiót a ténylegesen jelölt atomok alkották, az IPM szubsztrátot pirossal, a NAD^+ kofaktort kékekkel jelöltem, valamint nyilak jelölik a proton- és hidridtranszfer reakciók irányát. (B) A Mg^{2+} iont tartalmazó rendszer proton- és hidridtranszfer reakcióinak potenciális energiafelülete a B3LYP/6-31G*/MM szinten



9. ábra Javaslat az IPMDH enzim katalitikus ciklusára. Az IP jelölés az izopropilcsoportot jelenti.

3.4. Biomimetikus nitrogénfixáció

Az ammónia a modern társadalom nélkülözhetetlen mesterséges vegyülete, de a Haber-Bosch eljárással történő előállítása a globális energiatermelés több mint 1%-át felemészti. Egyik jelenleg intenzíven kutatott terület az nitrogénfixálásra képes molekuláris katalizátorok működése, és a 10. ábra jobb felső sarkában látható az általunk vizsgált $EP_3Fe-N_2^-$ (ahol E=B, C, Si) típusú katalizátor szerkezete. A katalizátorok hatékonyságának növeléséhez fontos megértenünk a lejátszódó folyamatok hátterét. Ehhez kvantumkémiai számításokkal megvizsgáltuk a nitrogén redukációs reakció (N_2RR) mechanizmusát, feltérképeztük a katalizált reakció szabadentalpia-profilját [D13], a hidrogénfejlődési melléreakció (HER) mechanizmusát [D14, D15] és mikrokinetikai modellezés segítségével javaslatot tettünk az autokatalitikus HER reakcióra [D15]. Az autokatalitikus HER (aHER) reakciót a redukálószerekből és savakból képződő hidrogéngáz indítja be, amely az N_2 szubsztráttal versengve a katalizátor vascentrumához köt, majd két protonálódási lépés során 1 H_2 molekulából 2 H_2 molekula képződik. Az aHER ciklus köztitermékei könnyen stabil monohidridekké alakulnak, amely a katalizátor deaktivációjához vezet, vagyis a katalizátor deaktivációja és a káros hidrogénfejlődési reakció szoros összefüggésben áll.



10. ábra A biomimetikus ammóniaszintézis szabadentalpia-profilja. Az elemi lépések proton-, elektron-, vagy N_2 felvételt jelentenek. Az egyes intermedierek jelölésében az $[Fe]$ szimbólum az ábrán látható BP_3 ligandum és központi vasatom egységét jelöli. A 10-13. lépésnél látható a profil „ellaposodása”, azaz a termodinamikai hajtóerő megszűnése. „Gátolt reakciók”: kísérleti adatok alapján kinetikailag gátolt folyamatok.

Eredmények gyakorlati hasznosíthatósága

A disszertációban bemutatott tanulmányok számos ponton kapcsolódnak gyógyszerkutató/fejlesztési kérdésekhez, valamint új típusú ammóniaszintézisre alkalmas katalizátorok fejlesztéséhez.

A CYP enzimek felelősek a gyógyszermolekulák 90%-nak lebontásáért, így a metabolizmus sebessége, a képződő metabolitok toxikus tulajdonságai, valamint a CYP-enzimhez kapcsolható gyógyszerkölsönhatások ismerete kulcskérdés. Molekulák CYP-enzim függő bioaktivációja lehet káros és kerülendő (pl. ösztrogének esetén), de akár ki is aknázható, pl. előhatóanyag (prodrug) molekulák helyileg, adott szövetben történő aktivációjával, (pl. rákkutatás terén). Az aromataz enzim gátlása mellrákos betegek kezelése terén szintén fontos terület. Ezen okok miatt a CYP-enzimek reaktivitásához kapcsolódó eredményeink elősegíthetik a potenciális metabolitok predikcióját [D1, D2], aromataz inhibitorok tervezését [D3,D4] vagy biztonságosabb hormonpótló terápiás szerek tervezését [D5].

A rákos sejtek hipoxiás környezetben funkcionálnak, ezekben az esetekben oxigén szállítása a tumor sejtek területére elősegíthető a sugárterápia/kemoterápia sikerét. Ezért gázok, különösen oxigén szállítására alkalmas rendszerek tervezése érdeklődésre tart számot [S9].

Az ammónia napjainkban a vegyipar kulcsvegyülete, több mint évi 150 millió tonnát gyártanak belőle. Előállítására az iparban ritka kivételektől eltekintve kizárólag a Haber-Bosch eljárást alkalmazzák, amely jelentősen hozzájárul a globális energiafogyasztáshoz és az üvegházhatású gázok kibocsátásához. Ezért sokféle törekvés van alternatív ammóniaszintézisre alkalmas módszerek kifejlesztésére, s reményeink ehhez fognak hozzájárulni az $EP_3Fe-N_2^-$ katalizátorok működéséről nyert ismereteink.

Tézispontok

1. A citokróm P450 enzimek oxidáló képességét a Fe-O kötési entalpia határozza meg, amely lineárisan csökken az oxigéneken számított spinsűrűséggel. A szubsztrát jelenléte az aktív helyen csökkenti az Fe-O kötési entalpiát, és destabilizálja a Cpd I formát. A Cpd I- elektronszerkezete nagyon hasonló a vizsgált izoformákban (2C9, 2D6, 3A4 és P450cam), így a CYP enzimek reaktivitását és szelektivitását ez nem befolyásolja. [D1]
2. A CYP2D6 enzim régiószelektivitását egyértelműen meghatározza az aktív hely térszerkezete és alakja, és nemcsak a szubsztrátok funkcióscsoportjainak a reakciókészsége. Így a várható CYP metabolitok megjelölésakor javasoljuk a lehetséges átmeneti állapotok szerkezetét felhasználni a dokkolás során a predikciós képesség javításához. [D2]
3. Megmutattuk, hogy az ösztroon eltérő kötődési pózban köt be az CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1 és CYP3A4 citokróm izoformákba, s ennek következménye az oxidációs reakció eltérő régiószelektivitása. [D3]
4. Megmutattuk, hogy az ösztrogén molekulák B gyűrűjének növekvő telítetlensége az ösztroon <equilin <equilenin sorrendben megnöveli a C₄-es szénatom nukleofilicitását,

és ennek következménye, hogy a C₄-es hidroxiláció aránya a C₂-es hidroxilációhoz képest drasztikusan megnő olyan izoformák esetén, amelyek aktív zsebe nagy és viszonylag apoláris (pl. CYP3A4), amelybe az ösztrogén molekula szinte tetszőleges pozícióban be tud kötni. [D3]

5. A humán aromataáz enzim kulcsszerepet játszik az emberben az ösztrogén hormonok bioszintézisében. Egy újfajta, speciálisan a humán aromataáz enzimre jellemző protonátadási útvonalat találtunk, melynek során az enzim szubsztrátjának enolizációja és az enzim katalitikus ciklusához szükséges ferro-szuperoxokomplex protonálódása csatolt folyamatban valósul meg. Ezután a Cpd I forma katalizálni tudja a C₁₀-C₁₉ kötés hasadását az ösztronszintézis utolsó lépésében, ami megfelel a legújabb kísérleti megfigyeléseknek is, melyek az Cpd I fontosságát támasztják alá szemben a peroxohemiacetál képződésével. [D4-D5]
6. Megmutattuk, hogy a *Fusarium oxysporum*-ban található P450_{nor} enzimben a hidridtranszfer mindenképpen a vashoz koordinálódó nitrogén-monoxid nitrogénatomjára irányul, ezért nincs lehetőség a Harris-féle N-ferril intermedier kialakulására. [D6]
7. Fe(II)- és Fe(III)-iont tartalmazó hemrendszerek modelljeinek vizsgálatával megállapítottuk, hogy a hibrid funcionálok (B3LYP, B3PW91) helyesen visszaadják a rendszerek spinállapotainak energiakülönbségét magasszintű CCSD(T) számításokhoz képest, viszont jelentősen alulbecsülik a kísérleti értékekhez képest az NO kötési energiáját. Ezzel ellentétben a tiszta GGA funkcionál, a BP86 erősen túlstabilizálja a rendszerek kisspinű formáját, viszont pontosabb értéket ad az NO kötési energiájára. [D7]
8. Megalkottunk egy olyan kétlépcsős modellt, amellyel gázok és hemfehérjék között lejátszódó reakció mechanizmusa tanulmányozható. Megmutattuk, hogy a nitrogén-monoxid kötődése a mioglobinhoz diffúzió-kontrollált folyamat, míg szén-monoxid esetében a diffúzió sebessége és a kémiai kötés kialakulásának sebessége a vascentrum és a szén-monoxid között hasonló nagyságrendbe esik. [D8]
9. Megállapítottuk, hogy az O₂>NO>CO sorrendben csökken a gázok diffúziós reakciósebességi együtthatója mindegyik vizsgált H-NOX fehérjékben, valamint *Ns* H-NOX> *Ks* H-NOX> *Cs* H-NOX sorrendben egy adott gáz esetén. A vizsgált fehérjék számos gáztárolásra alkalmas zsebet tartalmaznak, de a gázok viszonylag rövid tartózkodási ideje miatt gázszállításra alkalmas fehérjék tervezése esetén több hemcsoportot kellene beépíteni a fehérjébe, így növelve a gázmolekula kötődésének erősségét. [D9]
10. Az izopropil-malát dehidrogenáz enzim által katalizált oxidációs reakció első lépése a proton átvándorolása a szubsztrát β-helyzetű hidroxilcsoportjáról a K185'-ös lizin oldallánc aminocsoportjára, a második lépés pedig hidridiontranszfer a C₂-es szénatomról a NAD⁺ kofaktorra, amely a reakció sebességmeghatározó lépése. A Mg²⁺ vagy Mn²⁺ kationok egymást helyettesíthetik az enzimben és fontos szerepet játszanak a protontranszfer reakció katalizálásában és a képződő hidroxilátcsoport stabilizálásában is. [D10]
11. Az izopropil-malát dehidrogenáz enzimben a káliumion és a nikotinamid gyűrű amid csoportja között kialakuló elektrosztatikus kölcsönhatás eredményeként megnő az

amidcsoport elektronszívó képessége, tovább polarizálódik a nikotinamid gyűrű, és megnő a hidridiont fogadó szénatom pozitív töltése, amely elősegíti a hidridion átvándorlását a szubsztrátról NAD^+ kofaktorra. A káliumion jelenléte kb. 2-3 kcal/molal csökkenti a hidridtranszfer reakció aktiválási energiáját, összhangban a katalitikus konstans kísérletileg megfigyelt 121-250-szeres csökkenésével. [D11]

12. Az izopropil-malát dehidrogenáz enzim K185'-ös lizin oldallánca semleges töltésű az enzim nyugalmi helyzetében. A katalitikus reakció kezdetén az izopropil-malát szubsztráttal sav-bázis reakcióba lép, és deprotonálja a szubsztrát β -helyzetű hidroxilcsoportját. A D241 és D217'-es aminosavak elektrosztatikus hatásuk révén elősegítik a reakció oxidációs lépését. [D12]
13. A biomimetikus ammóniaszintézis katalitikus ciklusának elemi lépései között egyenlőtlenül oszlik el a termodinamikai hajtóerő. A legtöbb reakció kedvező szabadentalpia-csökkenéssel jár, azonban az ammónia termék leválása és a katalizátor regenerációja egy közel termoneutrális ($\Delta G \approx 0$) lépésekből álló, lassú folyamat. A regenerációs szakaszban keletkező intermedierek szolgálnak a mellékreakciók kiindulópontjaként. [D13]
14. Az $\text{EP}_3\text{Fe}-\text{N}_2^-$ (ahol $\text{E}=\text{B,C,Si}$) által katalizált nitrogén redukciós reakció (N_2RR) köztitermékei a biomimetikus ammóniaszintézis kísérleti körülményei között nem lépnek egymással olyan bimolekuláris reakcióba, amely N-H kötéshasadások révén hidrogénfejlődést (HER-t) eredményez. A bimolekuláris HER aktiválási gátja minden esetben jelentősen meghaladja a konkurens N_2RR lépés (proton- illetve elektrontranszfer) gátját. [D14]
15. A $\text{SiP}_3\text{Fe}-\text{N}_2^-$ katalizátor esetén a katalizátor deaktivációja és a káros hidrogénfejlődési reakció szoros összefüggésben áll. Az autokatalitikus aHER reakciót a redukálószerekből és savakból képződő hidrogéngáz indítja be, amely az N_2 szubsztráttal versengve a katalizátor vascentrumához köt, majd két protonálódási lépés során 2 H_2 molekula képződéséhez vezet. Az autokatalitikus aHER ciklus köztitermékei könnyen stabil monohidridekké alakulnak, amely a katalizátor deaktivációját okozza. [D15]

MTA Doktori tézisekhez kapcsolódó PhD értekezések

Krámos Balázs: Enzimkatalízis számítógépes modellezése P450 enzimekben PhD védés: 2015

Krezinger Anikó: Kölcsönhatások fehérjerendszerekben PhD védés: 2018

Benedek Zsolt: A biomimetikus nitrogénfixálás reakcióhálózatának felderítése elméleti kémiai módszerekkel benyújtva: 2021 május

MTA Doktori tézisekhez kapcsolódó publikációk

A publikációkban a saját nevemet félkövérem szedtem, és ahol levelező szerző voltam ott aláhúztam

- (D1) Lonsdale, R.; **Oláh, J.**; Mulholland, A. J.; Harvey, J. N. Does Compound i Vary Significantly between Isoforms of Cytochrome P450? *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133* (39) 15464-15474. <https://doi.org/10.1021/ja203157u>.
Független hivatkozások: **147** IF: **9.907**
- (D2) **Oláh, J.**; Mulholland, A. J.; Harvey, J. N. Understanding the Determinants of Selectivity in Drug Metabolism through Modeling of Dextromethorphan Oxidation by Cytochrome P450. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2011**, *108* (15) 6050-6055. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010194108>.
Független hivatkozások: **65** IF: **9.681**
- (D3) Lábás, A.; Krámos, B.; **Oláh, J.** Combined Docking and Quantum Chemical Study on CYP-Mediated Metabolism of Estrogens in Man. *Chem. Res. Toxicol.* **2017**, *30* (2) 583-594. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.6b00330>.
Független hivatkozások: **4** IF: **3.432**
- (D4) Krámos, B.; **Oláh, J.** Enolization as an Alternative Proton Delivery Pathway in Human Aromatase (P450 19A1). *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118* (2), 390-405. <https://doi.org/10.1021/jp407365x>.
Független hivatkozások: **9** IF: **3.302**
- (D5) Krámos, B.; **Oláh, J.** The Mechanism of Human Aromatase (CYP 19A1) Revisited: DFT and QM/MM Calculations Support a Compound I-Mediated Pathway for the Aromatization Process. *Struct. Chem.* **2015**, *26* (1) 279-300. <https://doi.org/10.1007/s11224-014-0545-9>.
Független hivatkozások: **11** IF: **1.854**
- (D6) **Oláh, J.**; Harvey, J. N. NO Bonding to Heme Groups: DFT and Correlated Ab Initio Calculations. *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113* (26) 7338-7345. <https://doi.org/10.1021/jp811316n>.
Független hivatkozások: **62** IF: **2.899**
- (D7) Krámos, B.; Menyhárd, D. K.; **Oláh, J.** Direct Hydride Shift Mechanism and Stereoselectivity of P450<inf>nor</Inf> Confirmed by QM/MM Calculations. *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116* (2) 872-885. <https://doi.org/10.1021/jp2080918>.
Független hivatkozások: **14** IF: **3.607**
- (D8) Lábás, A.; Menyhárd, D. K.; Harvey, J. N.; **Oláh, J.** First Principles Calculation of the Reaction Rates for Ligand Binding to Myoglobin: The Cases of NO and CO. *Chem. - A Eur. J.* **2018**, *24* (20), 5350-5358. <https://doi.org/10.1002/chem.201704867>.
Független hivatkozások: **3** IF: **5.160**
- (D9) Rozza, A. M.; Menyhárd, D. K.; **Oláh, J.** Gas Sensing by Bacterial H-NOX Proteins: An MD Study. *Molecules* **2020**, *25* (12), 1-19. <https://doi.org/10.3390/molecules25122882>.
Független hivatkozások: **1** IF: **3.267***
- (D10) Palló, A.; **Oláh, J.**; Gráczer, É.; Merli, A.; Závodszy, P.; Weiss, M. S.; Vas, M. Structural and Energetic Basis of Isopropylmalate Dehydrogenase Enzyme Catalysis. *FEBS J.* **2014**, *281* (22) 5063-5076. <https://doi.org/10.1111/febs.13044>.
Független hivatkozások: **10** IF: **4.001**
- (D11) Gráczer, É.; Palló, A.; **Oláh, J.**; Szimler, T.; Konarev, P. V.; Svergun, D. I.; Merli, A.; Závodszy, P.; Weiss, M. S.; Vas, M. Glutamate 270 Plays an Essential Role in K⁺-Activation and Domain Closure of Thermus Thermophilus Isopropylmalate Dehydrogenase. *FEBS Lett.* **2015**, *589* (2) 240-245. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.12.005>.
Független hivatkozások: **2** IF: **3.519**
- (D12) Gráczer, E.; Szimler, T.; Garamszegi, A.; Konarev, P. V.; Lábás, A.; **Oláh, J.**; Palló, A.; Svergun, D. I.; Merli, A.; Závodszy, P.; Weiss, M. S.; Vas, M. Dual Role of the Active Site Residues of Thermus Thermophilus 3-Isopropylmalate Dehydrogenase: Chemical Catalysis and Domain Closure. *Biochemistry* **2016**, *55* (3) 560-574. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.5b00839>.

- Független hivatkozások: **1** IF: **2.938**
- (D13) Benedek, Z.; Papp, M.; **Oláh, J.**; Szilvási, T. Identifying the Rate-Limiting Elementary Steps of Nitrogen Fixation with Single-Site Fe Model Complexes. *Inorg. Chem.* **2018**, *57* (14), 8499–8508. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.8b01183>.
- Független hivatkozások: **6** IF: **4.850**
- (D14) Benedek, Z.; Papp, M.; **Oláh, J.**; Szilvási, T. Exploring Hydrogen Evolution Accompanying Nitrogen Reduction on Biomimetic Nitrogenase Analogs: Can Fe-N_xH_y Intermediates Be Active under Turnover Conditions? *Inorg. Chem.* **2019**, *58* (12) 7969-7977. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.9b00719>.
- Független hivatkozások: **1** IF: **4.825**
- (D15) Benedek, Z.; Papp, M.; **Oláh, J.**; Szilvási, T. Demonstrating the Direct Relationship between Hydrogen Evolution Reaction and Catalyst Deactivation in Synthetic Fe Nitrogenases. *ACS Catal.* **2020**, *10* (21), 12555–12568. <https://doi.org/10.1021/acscatal.0c02315>.
- Független hivatkozások: **0** IF: **12.350***

PhD fokozat megszerzése (2006) után megjelent közlemények

- (1) **Oláh, J.**; Blockhuys, F.; Veszprémi, T.; Van Alsenoy, C. On the Usefulness of Bond Orders and Overlap Populations to Chalcogen-Nitrogen Systems. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, No. 1. 69-77 <https://doi.org/10.1002/ejic.200500489>.
- Független hivatkozások: **9** IF: **2.704**
- (2) **Oláh, J.**; Proft, F. D.; Veszprémi, T.; Geerlings, P. Relationship between Electrophilicity and Spin-Philicity of Divalent and Monovalent Species of Group 14 and 15 Elements. *J. Mol. Struct. THEOCHEM* **2006**, *771* (1–3) 135-140. <https://doi.org/10.1016/j.theochem.2006.03.020>.
- Független hivatkozások: **6** IF: **1.016**
- (3) **Oláh, J.**; Veszprémi, T.; De Proft, F.; Geerlings, P. Silylenes: A Unified Picture of Their Stability, Acid-Base and Spin Properties, Nucleophilicity, and Electrophilicity via Computational and Conceptual Density Functional Theory. *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111* (42), 10815–10823. <https://doi.org/10.1021/jp067742k>.
- Független hivatkozások: **22** IF: **2.918**
- (4) Tóth, F.; **Oláh, J.**; Kalas, G.; Greiner, I.; Szöllösy, Á.; Gömör, Á.; Hazai, L.; Szántay, C. Synthesis of Vinca Alkaloids and Related Compounds. Part 110: A New Synthetic Method for the Preparation of Pandoline-Type Alkaloid-like Molecules. *Tetrahedron* **2008**, *64* (34), 7949–7955. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2008.06.015>.
- Független hivatkozások: **3** IF: **2.897**
- (5) **Oláh, J.**; Veszprémi, T. Mechanism of Water Addition to Silatriafulvenes and Silapentafulvenes. *Organometallics* **2008**, *27* (12) 2723-2729. <https://doi.org/10.1021/om7011826>.
- Független hivatkozások: **7** IF: **3.815**
- (6) Correa, J. V.; Jaque, P.; **Oláh, J.**; Toro-Labbé, A.; Geerlings, P. Nucleophilicity and Electrophilicity of Silylenes from a Molecular Electrostatic Potential and Dual Descriptor Perspectives. *Chem. Phys. Lett.* **2009**, *470* (4–6) 180-186. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2009.01.054>.
- Független hivatkozások: **10** IF: **2.291**
- (7) Duerr, K.; **Oláh, J.**; Davydov, R.; Kleimann, M.; Li, J.; Lang, N.; Puchta, R.; Hübner, E.; Drewello, T.; Harvey, J. N.; Jux, N.; Ivanović-Burmazović, I. Studies on an Iron(II)-Peroxo Porphyrin. Iron(III)-Peroxo or Iron(II)-Superoxo? *Dalt. Trans.* **2010**, *39* (8) 2049-2056. <https://doi.org/10.1039/b920237d>.
- Független hivatkozások: **16** IF: **3.647**
- (8) **Oláh, J.**; Veszprémi, T.; Woollins, J. D.; Blockhuys, F. Combining the Chemistries of Silylene and Sulfur-Nitrogen Compounds - SiS₂N₂ and Related Systems. *Dalt. Trans.* **2010**, *39* (13) 3256-3263. <https://doi.org/10.1039/b923084j>.
- Független hivatkozások: **4** IF: **3.647**
- (9) Duerr, K.; Troepfner, O.; **Oláh, J.**; Li, J.; Zahl, A.; Drewello, T.; Jux, N.; Harvey, J. N.;

- Ivanović-Burmazović, I. Solution Behavior of Iron(III) and Iron(II) Porphyrins in DMSO and Reaction with Superoxide. Effect of Neighboring Positive Charge on Thermodynamics, Kinetics and Nature of Iron-(Su)Peroxo Product. *Dalt. Trans.* **2012**, 41 (2) 546-557. <https://doi.org/10.1039/c1dt11521a>.
- Független hivatkozások: **8** IF: **3.806**
- (10) Nagy, G. N.; Marton, L.; Krámos, B.; **Oláh, J.**; Révész, A.; Vékey, K.; Delsuc, F.; Hunyadi-Gulyás, E.; Medzihradzky, K. F.; Lavigne, M.; Vial, H.; Cerdan, R.; Vértessy, B. G. Evolutionary and Mechanistic Insights into Substrate and Product Accommodation of CTP:Phosphocholine Cytidylyltransferase from *Plasmodium Falciparum*. *FEBS J.* **2013**, 280 (13) 3132-3148. <https://doi.org/10.1111/febs.12282>.
- Független hivatkozások: **6** IF: **3.986**
- (11) Náráy-Szabó, G.; **Oláh, J.**; Krámos, B. Quantum Mechanical Modeling: A Tool for the Understanding of Enzyme Reactions. *Biomolecules* **2013**, 3 (3) 662-702. <https://doi.org/10.3390/biom3030662>.
- Független hivatkozások: **13** IF: **0.000**
- (12) Kelemen, Z.; Hollóczki, O.; **Oláh, J.**; Nyulászi, L. Oxazol-2-Ylidenes. A New Class of Stable Carbenes? *RSC Adv.* **2013**, 3 (21), 7970-7978. <https://doi.org/10.1039/c3ra41177j>.
- Független hivatkozások: **14** IF: **3.708**
- (13) Bakó, I.; Bencsura, Á.; Hermansson, K.; Bálint, S.; Grósz, T.; Chihai, V.; **Oláh, J.** Hydrogen Bond Network Topology in Liquid Water and Methanol: A Graph Theory Approach. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2013**, 15 (36), 15163-15171. <https://doi.org/10.1039/c3cp52271g>.
- Független hivatkozások: **35** IF: **4.198**
- (14) **Oláh, J.**; Van Bergen, L.; De Proft, F.; Roos, G. How Does the Protein Environment Optimize the Thermodynamics of Thiol Sulfenylation? Insights from Model Systems to QM/MM Calculations on Human 2-Cys Peroxiredoxin. *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2015**, 33 (3) 584-596. <https://doi.org/10.1080/07391102.2014.907543>.
- Független hivatkozások: **5** IF: **2.300**
- (15) Lábás, A.; Krámos, B.; Bakó, I.; **Oláh, J.** Accurate Modeling of Cation- π Interactions in Enzymes: A Case Study on the CDPCho:Phosphocholine Cytidylyltransferase Complex. *Struct. Chem.* **2015**, 26 (5-6) 1411-1423. <https://doi.org/10.1007/s11224-015-0658-9>.
- Független hivatkozások: **2** IF: **1.854**
- (16) Vanpoucke, D. E. P. D. E. P.; **Oláh, J.**; De Proft, F.; Van Speybroeck, V.; Roos, G. Convergence of Atomic Charges with the Size of the Enzymatic Environment. *J. Chem. Inf. Model.* **2015**, 55 (3), 564-571. <https://doi.org/10.1021/ci5006417>.
- Független hivatkozások: **10** IF: **3.657**
- (17) Marton, L.; Nagy, G. N.; Ozohanics, O.; Lábás, A.; Krámos, B.; **Oláh, J.**; Vékey, K.; Vértessy, B. G. Molecular Mechanism for the Thermo-Sensitive Phenotype of CHO-MT58 Cell Line Harboring a Mutant CTP:Phosphocholine Cytidylyltransferase. *PLoS One* **2015**, 10 (6) e0129632. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129632>.
- Független hivatkozások: **5** IF: **3.057**
- (18) Szabó, T.; Dargó, G.; Szentjóni, H.; Tóth, T.; Krámos, B.; Izrael, R.; **Oláh, J.**; Németh, T.; Balogh, G. T.; Huszthy, P. Synthesis, Experimental and Theoretical Studies on the Factors Influencing the pK_a values of New Crown Ethers Containing a Diarylphosphinic Acid Unit. *Tetrahedron* **2016**, 72 (52) 8593-8602. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2016.11.041>.
- Független hivatkozások: **2** IF: **2.651**
- (19) Lábás, A.; Bakó, I.; **Oláh, J.** Hydration Sphere Structure of Proteins: A Theoretical Study. *J. Mol. Liq.* **2017**, 238, 462-469. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.05.038>.
- Független hivatkozások: **7** IF: **4.513**
- (20) Bakó, I.; Lábás, A.; Hermansson, K.; Bencsura, Á.; **Oláh, J.** How Can We Detect Hydrogen Bond Local Cooperativity in Liquid Water: A Simulation Study. *J. Mol. Liq.* **2017**, 245, 140-146. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.08.023>.
- Független hivatkozások: **7** IF: **4.513**
- (21) Bakó, I.; **Oláh, J.**; Lábás, A.; Bálint, S.; Pusztai, L.; Bellissent Funel, M. C. M. C. Water-

- Formamide Mixtures: Topology of the Hydrogen-Bonded Network. *J. Mol. Liq.* **2017**, *228*, 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2016.10.052>.
- Független hivatkozások: **11** IF: **4.513**
- (22) Xue, S.; Guo, Y.; Rotaru, A.; Müller-Bunz, H.; Morgan, G. G.; Trzop, E.; Collet, E.; **Oláh, J.**; Garcia, Y. Spin Crossover Behavior in a Homologous Series of Iron(II) Complexes Based on Functionalized Bipyridyl Ligands. *Inorg. Chem.* **2018**, *57*, 9880-9891. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.8b00850>.
- Független hivatkozások: **14** IF: **4.850**
- (23) Kiss, D. J.; **Oláh, J.**; Tóth, G.; Menyhárd, D. K.; Ferenczy, G. G. Quantum Chemical Calculations Support Pseudouridine Synthase Reaction through a Glycal Intermediate and Provide Details of the Mechanism. *Theor. Chem. Acc.* **2018**, *137* (12), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s00214-018-2361-6>.
- Független hivatkozások: **0** IF: **1.598**
- (24) Meelua, W.; Keawkla, N.; **Oláh, J.**; Jitnom, J. DFT Study of Formation and Properties of Dinuclear Zirconocene Cations: Effects of Ligand Structure, Solvent, and Metal on the Dimerization Process. *J. Organomet. Chem.* **2020**, *905*, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2019.121024>.
- Független hivatkozások: **0** IF: **2.304**
- (25) Roos, G.; **Oláh, J.**; Ingle, R.; Kobayashi, R.; Feldt, M. Online Conferences – Towards a New (Virtual) Reality. *Comput. Theor. Chem.* **2020**, *1189* (July), 112975. <https://doi.org/10.1016/j.comptc.2020.112975>.
- Független hivatkozások: **3** IF: **1.605**
- (26) Meelua, W.; Wanjai, T.; Thinkumrob, N.; **Oláh, J.**; Mujika, J. I.; Ketudat-Cairns, J. R.; Hannongbua, S.; Jitnom, J. Active Site Dynamics and Catalytic Mechanism in Arabinan Hydrolysis Catalyzed by GH43 Endo-Arabinanase from QM/MM Molecular Dynamics Simulation and Potential Energy Surface. *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2021**, *0* (0), 1–11. <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1898469>.
- Független hivatkozások: **0** IF: **0.000**