

Závěrečná zpráva projektu specifického výzkumu – zakázka 2115.

Název projektu: Vývoj metod pro stanovení čistoty pyridiniových oximů

Specifikace řešitelského týmu:

Odpovědný řešitel: doc. RNDr. Vlastimil Dohnal, Ph.D. et Ph.D.

Člen řešitelského týmu, student PŘF UHK: Bc. Michal Brodský

Celková částka přidělené dotace: 234 861 Kč

Stručný popis postupu při řešení projektu:

Nervově paralytické látky (sarin, soman, VX) a organofosforové pesticidy (chlorpyrifos, methamidofos) představují vysoce toxické sloučeniny, inhibující v organismu enzymy acetylcholinesterasu (EC 3.1.1.7) a butyrylcholinesterasu (EC 3.1.1.8). Jako antidota otrav těmito látkami jsou využívány reaktivátory cholinesteras ze skupiny pyridinových aldoximů, komerčně jsou dostupné látky pralidoxim, methoxim, trimedoxim, asoxim a obidoxim. Z dostupné literatury vyplývá, že dalšími vhodnými kandidáty pro uvedení do praxe jsou např. sloučeniny K027 a K203. Před zavedením léčivých přípravků s obsahem uvedených reaktivátorů je zapotřebí mít vhodné analytické metody umožňující ověřit čistotu používaných sloučenin. Doposud popsané metody jsou již zastaralé nebo jsou vypracovány pouze pro jedinou molekulu.

Stávající analytické metody pro stanovení čistoty jsou založeny na separaci ion-párovou chromatografií v přítomnosti povrchově aktivních látek. Taková separace je sice účinná, nicméně v jejím průběhu dochází k tvorbě různých artefaktů. Mezi ně patří například situace, kdy je pro jednu látku detekováno více píků. Využití ionpárových činidel sebou přináší i další nevýhodu, a to nemožnost detekce a identifikace jednotlivých látek a jejich nečistot pomocí hmotnostní spektrometrie.

Na základě předběžných výsledků získaných odpovědným řešitelem při měření chování chemických látek patřících do stejné skupiny je zřejmé, že k separaci jednotlivých pyridinových aldoximů bude možné využít chromatografickou kolonu s novým typem stacionární fáze, konkrétně s pentafluorofenylpropylovou modifikací. Tento typ stacionární fáze je schopen retence kladně nabitých bazických látek, mezi něž patří i pyridinové aldoximy, a to bez nutnosti použití detergentů, které znemožňují následnou detekci hmotnostními detektory.

K řešení projektu bude využito vysoce účinného kapalinového chromatografu s detekcí v ultrafialové oblasti. Vzhledem k tomu, že zkoumané látky vykazují v této části spektra relativně silnou absorpci, nebude nutné používat jiné způsoby jejich detekce. Během vývoje metod bude testováno několik druhů mobilních fází s cílem nalezení té nejvhodnější pro řešení dané problematiky. Proběhne vývoj nových analytických metod pro stanovení daných analytů a eventuelně i následné jejich adaptace pro detekci hmotnostním detektorem. Tato část by proběhla ve spolupráci s Fakultou vojenského zdravotnictví Univerzity obrany.

Cíle projektu:

Cílem projektu je vývoj nových analytických metod využívajících instrumentaci HPLC/UV-VIS pro hodnocení čistoty vybraných reaktivátorů cholinesteras (pralidoxim, methoxim,

trimedoxim, asoxim, obidoxim, K027 a K203), využitelných pro optimalizaci jejich syntézy a ověření čistoty při vývoji a výrobě antidotních prostředků.

Postup práce:

Dle předloženého harmonogramu byl plánován následující časový sled:

- řešerše nejnovějšího vývoje v oblasti separace pyridinových aldoximů (březen – květen 2012)
- nákup potřebného materiálu (březen – duben 2012)
- provedení experimentů (červen – říjen 2012)
- zpracování výsledků a dokončení experimentů (listopad a prosinec 2012)

Harmonogram řešení projektu byl zpočátku plněn, proběhla řešerše vývoje v dané oblasti za poslední měsíce a ještě v lednu připraven přesný seznam materiálu, který bude pro řešení grantu potřeba včetně nabídek jednotlivých firem. Na základě pokynů vedení nebyly objednávky odeslány a nákupy byly odloženy na březen, kdy začala platit nová pravidla nákupu. V důsledku změn v zákoně, týkajícího se nákupů na univerzitě, došlo k paralýze celého projektu. Na univerzitě nebyla autorita ani zavedený postup, který by dokázal provést nákup jakéhokoliv materiálu potřebného pro řešení grantu. Od března do října proběhla, neúspěšně, výběrová řízení na nákup materiálu. Tento stav trval prakticky až do konce listopadu. Teprve pak bylo nalezeno řešení a bylo možné provést nákup materiálu. Řešení projektu proběhlo tedy za spolupráce s jinými pracovišti. Experimentální část probíhá teprve od září a výsledky jsou průběžně zpracovávány a publikovány.

Splnění kontrolovatelných výsledků řešení:

V rámci projektu bylo deklarováno publikování 2 prací s impakt faktorem. První z prací, věnující se vývoji metodiky, byla již akceptována k otištění v časopise Journal of Chromatographic Science (IF = 0,884). Článek viz příloha. Na této části se podílel student menší měrou, proto není uveden na publikaci.

Data pro druhý článek, který se zabývá stabilitou sledovaných látek ve vodných roztocích při různém pH a skladovacích podmínkách, jsou vlivem zpoždění měřena v současné době. Zde již je student plně zapojen a bude přirozeně součástí autorského kolektivu. Předpokládané dokončení měření a připravení rukopisu je v průběhu března/dubna.

Hospodaření:

Položka	Plán	Skutečnost
Osobní náklady (stip. + odvody)	10 000	9 489,59
Materiálové náklady	224 861,00	225 478,84
Další náklady	0	0
Cestovné	0	0
Celkem	234 861,00 Kč	234 968,43 Kč

Rozpočet projektu byl přečerpán o 107,43 Kč, což bylo způsobeno nepřesným odhadem materiálu nakupovaného na konci kalendářního roku.

Podrobný rozpočet očekávaných výdajů:

a) osobní náklady a jejich stručné zdůvodnění
odměna řešiteli včetně odvodů 4 000 Kč

b) stipendia a jejich stručné zdůvodnění
odměna pro studenta (stipendium) 6 000,- Kč

c) materiálové náklady a jejich stručné zdůvodnění

nákup laboratorního materiálu - celkem 225 478,84 Kč

Vzhledem k nemožnosti nákupu některých položek (třepačky, topné desky), u kterých by bylo nutné počkat na rozjetí dynamického nákupního systému (předpokládaný nákup by se odehrál v termínu 1-2/2013) došlo ke změně některých položek a po konzultaci nakoupen spotřební materiál a lampa do detektoru kapalinového chromatografu jako náhrada za původní, která měla již nízkou intenzitu světelného toku.

d) další náklady a jejich stručné zdůvodnění

nebyly plánovány ani realizovány další náklady

f) doplňkové (režijní) náklady nebo výdaje v souladu s příslušným řídicím aktem UHK

nebyly plánovány ani čerpány

g) cestovné a jeho stručné zdůvodnění

nebylo plánováno ani čerpáno

Přílohy:

a) kopie publikačního výstupu

b) výsledovka z ekonomického informačního systému Magion – vyúčtování dotace

c) tabulky Čerpání finančních prostředků v Kč a Sumář výstupů řešení projektu

Datum: 3. 1. 2013

Řešitel: doc. RNDr. Vlastimil Dohnal, Ph.D. et Ph.D.

Příloha 3: Čerpání finančních prostředků v Kč a Sumář výstupů řešení projektu

Čerpání finančních prostředků v Kč

Položka	Plán	Skutečnost
Stipendia	6000	6000
Odměny a DPP, DPČ	2596	2596
Zákonné zdravotní a sociální pojištění	1404	893,59
Celkem osobní náklady	10000	9 489,59
Spotřeba materiálu celkem	224861	225478,84
Drobný hmotný majetek	106938	61296
Služby celkem	0	0
Cestovné celkem	0	0
Celkové náklady	234861	234 968,43 Kč

Sumář výstupů řešení projektu

Typ výstupu	Plán	Skutečnost	Poznámka (např. vyšlo, přijato, v redakčním řízení apod.)
Počet členů řešitelského týmu čerpajících mzdové prostředky	2	2	
Z toho studenti	1	1	
Počet dizertačních prací	0	0	
Počet diplomových prací	0	0	
Zařazeno do kategorie excelence	0	0	
Jimp - výstup v impaktovaném časopisu	2	1	1x přijato; data pro druhou jsou v současné době měřena
J – ostatní odborná periodika	0	0	
B – odborná kniha	0	0	
C – kapitola v odborné knize	0	0	
D – článek ve sborníku	0	0	
F – užitečný vzor aj.	0	0	

