

## **Závěrečná zpráva projektu specifického výzkumu 2017 zakázka č. 2103**

**Název projektu:** Projekt specifického výzkumu Katedry chemie

### **Specifikace řešitelského týmu**

Odpovědný řešitel: doc. PharmDr. Kamil Musílek, Ph.D.

Studenti doktorského studia na UHK: Mgr. Natálie Karásková, Mgr. Vendula Rašková (pouze do 31. 7. 2017), RNDr. Lucie Vinklářová (roz. Vašková), Tássia Tavares, MSc.

Studenti magisterského studia na PŘF UHK: Bc. Michaela Melíková

Další výzkumní pracovníci: Mgr. Rudolf Andrýs, Ph.D.; prof. Ing. Karel Kolář, CSc.; Mgr. Monika Schmidt, Ph.D.

**Celková částka přidělené dotace: 510 000,- Kč**

**Datum zahájení řešení projektu: 27. 3. 2017**

**Předpokládané datum ukončení řešení projektu: 30. 11. 2018**

### **Stručný popis postupu při řešení projektu (max. 2 strany).**

Projekt byl rozdělen do několika samostatných kapitol, které se týkali disertačních a diplomových prací zúčastněných studentů doktorského a magisterského studia.

Byl úspěšně zaveden purifikační protokol pro lidský rekombinantní enzym butyrylcholinesterasu. Úspěšnost purifikace byla potvrzena imunodetekční analýzou. Čistota takto izolovaného enzymu byla ověřena metodou SDS-polyakrylamidové gelové elektroforózy a jeho metabolická aktivita byla potvrzena inkubací se známým substrátem. Enzym byl následně využit pro vytvoření magnetického bioscavengeru, který by mohl nalézt uplatnění při ochraně proti intoxikacím způsobených organofosforovými sloučeninami. Za tímto účelem byl zaveden imobilizační protokol pro lidské rekombinantní enzymy na povrch magnetických nanočástic. Aktivita takto připravených bioscavengerů byla potvrzena inkubací se známým substrátem. V další práci bude testována jejich znovupoužitelnost a stabilita při dlouhodobém skladování.

Byly připraveny buňky pro rekombinantní expresi enzymu HSD-10 (ABAD) a optimalizována metoda jeho získání a purifikace. Enzym byl izolován v katalyticky aktivní formě v dostatečné čistotě,

kteřá byla ověřena pomocí SDS-PAGE metody. Dále byla nastavena a validována metoda pro měření aktivity enzymu pomocí dvou metod tj. spektrofotometricky v kyvetách a pomocí multiplate readeru v 96-jamkových destičkách. Dále byly určeny kinetické parametry enzymu a studovány jeho modulátory. Byl proveden screening více než 200 malých chemických molekul s potenciální schopností inhibice tohoto enzymu, z nichž byly vybrány ty s nejlepšími vlastnostmi a podrobně studovány jejich inhibiční parametry. Průběžné výsledky byly prezentovány studentkou doktorského studia na konferenci Mechanisms of Neurodegeneration v německém Heidelbergu formou posteru.

Byla provedena příprava mitochondriálního rekombinantního enzymu cyklofilin D, která byla úspěšně dokončena včetně purifikace a stabilizace aktivní formy enzymu. Byly započaty práce na testování potenciálních inhibitorů daného enzymu, které nebyly plně dokončeny kvůli příliš rychlé konverzi komerčního substrátu v enzymatické reakci. Z tohoto důvodu byla poptána zakázková příprava nového substrátu u americké firmy a substrát je nyní v přípravě. Studentka pracující na této části projektu se rozhodla své studium ukončit k 31. 7. 2017. Průběžné výsledky byly prezentovány studentkou doktorského studia na konferenci Mechanisms of Neurodegeneration v německém Heidelbergu formou posteru.

Byly provedeny *in silico* experimenty zaměřené na studium molekulární dynamiky receptorů spřažených s G-proteinem ilustrované na příkladu lidského orexinového receptoru. Za tímto účelem byla vykonána stáž na Univerzitě Olomouc, Přírodovědecké fakultě, Katedře fyzikální chemie. Studentka zde pracovala s vybranými metodami výpočetní chemie – vytvořením homologního modelu receptoru, molekulárním dockingem a s molekulárně-dynamickými simulacemi receptoru ukotveného v membráně, včetně analýzy dat vytvořených při experimentálních simulacích.

Bylo provedeno zpracování rešerše (realizace průzkumu) českých a ruských učebnic s platnou schvalovací doložkou určených pro výuku organické chemie na gymnáziích. K analýze učebnic byla zvolena metoda, zjišťující didaktickou vybavenost vybraných učebnic. Proběhla analýza a hodnocení vybraných českých a ruských učebnic určených pro výuku organické chemie na gymnáziích včetně statistického zpracování výsledků. Prezentace získaných výsledků proběhla na dvou zahraničních konferencích (Aktual'nyje problemy khimicheskogo i ekologicheskogo obrazovaniya St. Petersburg, Ruská federace; BaltcSTE2017 Šiauliai, Litva).

V rámci didaktického výzkumu byla zaměřena pozornost na využití molekulárního modelování ve výuce chemie na vysoké škole. Cílem bylo aplikovat heuristické didaktické přístupy při rozvoji konceptuálního chápání Diels-Alderových reakcí [4+2]. Za tímto účelem bylo navrženo osm vzorových simulací, jejichž smyslem bylo názorně podpořit porozumění kvantově-chemickým, stereochemickým a regioselektivním aspektům reakcí vybraných derivátů antracenu s maleinimidem a maleinanhydridem. Na toto téma je rozpracovaný článek typu Jim pro Journal of Chemical Education.

### Splnění cílů řešení a přínos projektu.

Cíle projektu byly splněny, kdy v každé studované oblasti bylo dosaženo výsledků výzkumu. Výsledky byly dopracovány do podoby publikačních výstupů projektu, kdy tři práce byly publikovány v časopise Jimp a jedna práce byla již přijata do tisku v časopise Jimp:

#### Publikace typu Jimp:

1. Dolezal, R.\*; Karaskova, N.; Musil, K.; Novak, M.; Maltsevskaya, N.V.; Malinak, D.; Kolar, K.; Soukup, O.; Kuca, K.; Zdarova Karasova, J. Characterization of the Penetration of the Blood-Brain Barrier by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) using a Stationary Phase with an Immobilized Artificial Membrane. *Analytical Letters*. **2018**, vol. 51, no. 15, p. 2401-2414. DOI: 10.1080/00032719.2018.1424175. IF<sub>2017</sub> = 1.206 (Q3 59/81 Analytical Chemistry)
2. Benek, O.\*; Hroch, L.; Aitken, L.; Gunn-Moore, F.; Vinklarova, L.; Kuca, K.; Perez D.I.; Perez, C.; Martinez, A.; Fisar, Z.; Musilek, K.\* 1-(Benzo[d]thiazol-2-yl)-3-phenylureas as dual Inhibitors of Casein Kinase 1 and ABAD Enzymes for Treatment of neurodegenerative Disorders. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. **2018**, vol. 33, no. 1, p. 665-670. DOI: 10.1080/14756366.2018.1445736. IF<sub>2017</sub> = 3.638 (Q1 13/59 Medicinal Chemistry, Q2 93/293 Biochemistry & Molecular Biology)
3. Paula, R. L.; Almeida, J.S.F.D.; Cavalcante, S.F.A.; Goncalves, A.S.; Simas, A.B.C.; Franca, T.C.C.; Valis, M.; Kuca, K.; Nepovimova, E.; Granjeiro, J.M.\* Molecular Modeling and In Vitro Studies of a Neutral Oxime as a Potential Reactivator for Acetylcholinesterase Inhibited by Paraoxon. *Molecules*. **2018**, vol. 23, no. 11, p. 2954. DOI: 10.3390/molecules23112954. IF<sub>2017</sub> = 3.098 (Q2 131/293 Biochemistry & Molecular Biology, Q2 68/171 Multidisciplinary Chemistry)
4. Almeida, J.S.F.D.; Cavalcante, S.F.A.; Dolezal, R.; Kuca, K.; Musilek, K.; Jun, D.; Franca, T.C.C.\* Molecular modeling studies on the interactions of aflatoxin B1 and its metabolites with the peripheral anionic site (PAS) of human acetylcholinesterase. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. **2018**, in press. DOI: 10.1080/07391102.2018.1475259. IF<sub>2017</sub> = 3.107 (Q2 129/293 Biochemistry & Molecular Biology, Q2 25/72 Biophysics)

Dále byly publikovány tři články ve sborníku:

- Karásková, N.; Malcevskaja, N.; Doležal, R.; Kolář, K. Metody analiza shkolnykh uchebnikov. In: Aktualnyje problemy khimicheskogo i ekologicheskogo obrazovaniya: 64 Vserossijskaya nauchno-prakticheskaya konferenciya khimikov s mezhdunarodnym uchastijem, g. Sankt-Peterburg, 13-15 aprelya 2016 goda. St. Petersburg: RGPU im. A. I. Gercena, 2017, s. 348-350. ISBN 978-5-8064-2355-0.



- Doležal, R.; Karásková, N.; Maltsevskaya, N.; V., Kolář, K. Towards Conceptual Thinking in Chemistry Education, 64. Всероссийская научно-практическая конференция химиков с международным участием, г. Санкт-Петербург, 13–15 апреля 2017, s. 203 – 206.
- Karásková, N.; Doležal, R.; Malcevskaja, N.; Kolář, K. Didactic capacity of selected Czech and Russian secondary school textbooks of organic chemistry and their mutual comparison. In: Science and Technology education: engaging the new generation, 2017, s. 56 – 60. ISBN 978-609-95513-4-0.

#### Splnění kontrolovatelných výsledků řešení.

Uvedte jen výstupy, které vznikly na základě řešení tohoto projektu. Dále uveďte, zda byly publikace skutečně zadány do OBD s vazbou na RIV.

Tab. 1 Sumář výstupů řešení projektu

Typ výstupu	Plán	Skutečnost	Poznámka (např. vyšlo, přijato, v redakčním řízení apod.
Počet Jimp	5	4	z toho 1× in press
Počet Jsc	0	0	
Počet B	0	0	
Počet obhájených dizertačních prací	1	0	
Počet obhájených diplomových prací	1	1	
Počet D	1	3	
Počet výsledků celkem			

#### Přílohy ke zprávě:

- Kopie publikačních výstupů.
- Výpis z OBD – výstupy podpořené tímto projektem.

Datum: 30. 11. 2018

Podpis odpovědného řešitele:

## Seznam literatury podle šablony ID záznamu

[1] **Benek, O., Hroch, L., Aitken, L., Gunn-Moore, F., Vinklářová, L., Kuča, K., Perez, D., Perez, C., Martinez, A., Fisar, Z., Musílek, K.** 1-(Benzo[d]thiazol-2-yl)-3-phenylureas as dual inhibitors of casein kinase 1 and ABAD enzymes for treatment of neurodegenerative disorders. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*. Taylor & Francis, 2018. 6s. ISSN: 1475-6366. Kód UT ISI: 000427559700001. Kód RIV: FR - Farmakologie a lékárnická chemie.

granty: 0

Spec. výzkum: S.

Forma: J\_ČLÁNEK V ODBORNÉM PERIODIKU

(ID: 43873966) (RIV ID: 50014356)

---

[2] **de Paula, RL., de Almeida, JSFD., Cavalcante, SFA., Gonçalves, AS., Simas, ABC., Costa Franca, TC., Vališ, M., Kuča, K., Nepovimová, E., Granjeiro, JM.** Molecular Modeling and In Vitro Studies of a Neutral Oxime as a Potential Reactivator for Acetylcholinesterase Inhibited by Paraoxon.. *Molecules*. MDPI-Molecular diversity preservation international, 2018. ISSN: 1420-3049.

granty: 0

Spec. výzkum: S.

Forma: J\_ČLÁNEK V ODBORNÉM PERIODIKU

(ID: 43874429) (RIV ID: 50014819)

---

[3] **Doležal, R., Karásková, N., Musil, K., Novak, M., Maltsevskaya, N., Maliňák, D., Kolář, K., Soukup, O., Kuča, K., Karasova, J.** Characterization of the Penetration of the Blood-Brain Barrier by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) Using a Stationary Phase with an Immobilized Artificial Membrane. *Analytical letters*. London : Taylor & Francis, 2018. 14s. ISSN: 0003-2719. Kód UT ISI: 000436859100007.

granty: 0

Spec. výzkum: S.

Forma: J\_ČLÁNEK V ODBORNÉM PERIODIKU

(ID: 43874060) (RIV ID: 50014450)

---

## Seznam literatury podle šablony ID záznamu

[1]Karásková, N., Malcevskaya, N., Doležal, R., Kolář, K. Методы анализа школьных учебников. *Всероссийская научно-практическая конференция химиков с международным участием*. 2017. 3s. ISBN: 978-5-8064-2355-0. Kód RIV: AM - Pedagogika a školství.

granty: 0

Spec. výzkum: S.

Forma: D\_ČLÁNEK VE SBORNÍKU

(ID: 43873532) (RIV ID: 50013923)

---

[2]Doležal, R., Karásková, N., Maltsevskaya, N., Kolář, K. Towards Conceptual Thinking in Chemistry Education. 4. *Всероссийская научно-практическая конференция химиков с международным участием*. 2017. 4s. ISBN: 978-5-8064-2355-0. Kód RIV: AM - Pedagogika a školství.

granty: 0

Spec. výzkum: S.

Forma: D\_ČLÁNEK VE SBORNÍKU

(ID: 43873533) (RIV ID: 50013924)

---

[3]Karásková, N., Doležal, R., Maltsevskaya, N., Kolář, K. DIDACTIC CAPACITY OF SELECTED CZECH AND RUSSIAN SECONDARY SCHOOL TEXTBOOKS OF ORGANIC CHEMISTRY AND THEIR MUTUAL COMPARISON. 2017. 5s. ISBN: 978-609-95513-4-0.

granty: 0

Spec. výzkum: S.

Forma: D\_ČLÁNEK VE SBORNÍKU

(ID: 43873535) (RIV ID: 50013926)

---