

Průběžná výroční zpráva projektu specifického výzkumu v roce 2016, zakázka č. 2110

Název projektu: Mikrovltná příprava reaktivátorů cholinesteras

Specifikace řešitelského týmu

<u>Odpovědný řešitel:</u>	doc. PharmDr. Kamil Musílek, Ph.D.
<u>Studenti doktorského studia na UHK:</u>	---
<u>Studenti magisterského studia na PŘF UHK:</u>	Bc. Andrea Košvancová
<u>Další výzkumní pracovníci:</u>	---

Celková částka přidělené dotace: 153 350,- Kč

Datum zahájení řešení projektu: 1. 3. 2016

Předpokládané datum ukončení řešení projektu: 30. 11. 2017

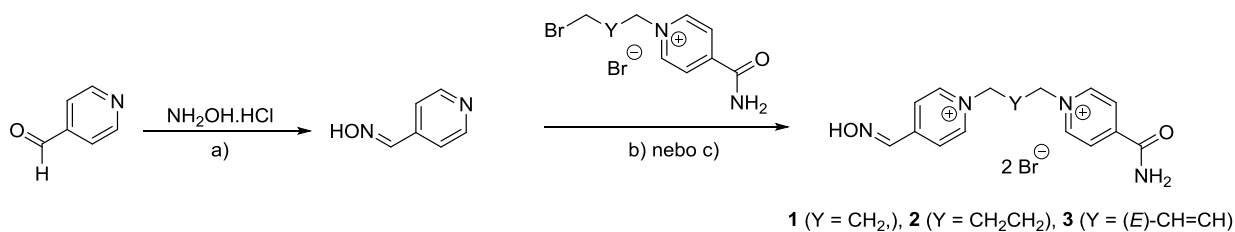
Cíle řešení a přínos projektu

Cílem řešení projektu je ověření účinnosti mikrovltného reaktoru při přípravě reaktivátorů cholinesteras a zavedení přípravy uvedených sloučenin s pomocí mikrovltného přetlakového systému. Přínosem projektu je nová metodika při přípravě reaktivátorů cholinesteras, která by měla umožnit zvýšení výtěžku chemických syntéz a urychlení laboratorní práce.

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

Reaktivátory acetylcholinesterasy (AChE; E.C. 3.1.1.7) jsou kauzálními antidoty při intoxikacím organofosforovými sloučeninami (např. soman, sarin, tabun, paraoxon), které mají silně negativní až letální účinky na lidský organismus. Reaktivátory AChE (např. pralidoxim, methoxim, trimedoxim, obidoxim, asoxim) lze tedy zařadit mezi život zachraňující léčiva, která jsou podávána bezprostředně nebo co nejdříve po intoxikaci organofosforovou sloučeninou [1].

Reaktivátory AChE jsou běžně připravovány několika stupňovými chemickými reakcemi (Obr. 1) [2]. Vzhledem k charakteru jejich molekuly, která obsahuje jeden nebo dva kladně nabitě atomy (kvarterní dusíky), je třeba tyto sloučeniny často zahřívat po velmi dlouhou dobu, aby bylo dosaženo uspokojivého výtěžku chemické reakce. Z tohoto úhlu pohledu je tedy zapotřebí nejen dlouhý reakční čas, ale také mnoho zdrojů (elektrická energie na zahřívání a odtah digestoře, voda na chlazení refluxu rozpouštědla, apod.).

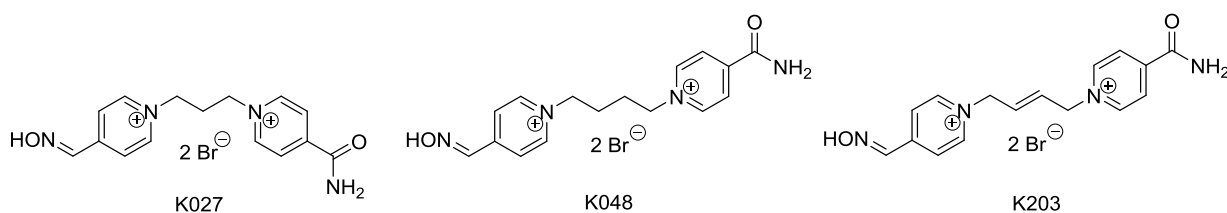


Obr. 1 Příklad přípravy biskvarterních reaktivátorů AChE; a) EtOH, reflux; b) MeCN, reflux; c) DMF, 70°C.

Z výše uvedených důvodů je třeba hledat nové prostředky a postupy, které by snížily nároky na reakční čas, a tím i nároky na spotřebu energie i vody. Z tohoto pohledu se jako vhodná jeví příprava reaktivátorů AChE v mikrovlnném prostředí, které umožňuje urychlení chemických reakcí díky mikrovlnnému výkonu ve vhodném rozpouštědle a díky možnosti zvýšení tlaku v přetlakovém systému [3]. K tomuto účelu slouží na Katedře chemie mikrovlnný systém CEM Discover SP (pořízen v roce 2015). Navíc v literatuře dosud není publikována žádná experimentální práce, která by se zabývala přípravou reaktivátorů AChE v mikrovlnném prostředí (rešerše Web of Knowledge a Pubmed z 19. 2. 2016). Navržené experimenty se tedy jeví jako inovativní.

Metodika prací

V rámci projektu budeme studovat vliv mikrovlnného prostředí na chemickou přípravu reaktivátorů AChE. V minulosti byly vytipovány tři perspektivní reaktivátory AChE (K027, K048, K203; Obr. 2), které projevily zvýšenou biologickou účinnost při intoxikacích organofosforovými sloučeninami *in vitro* nebo *in vivo* [4-6].



Obr. 2 Perspektivní reaktivátory AChE.

Uvedené sloučeniny budou připraveny pomocí mikrovlnného systému CEM. Nejprve budou vytipovány a nalezeny podmínky (rozpouštědlo, mikrovlnný výkon, teplota, tlak, čas) pro přípravu monokvarterního meziprojektu (Obr. 1). Dále budou vytipovány a nalezeny podmínky (rozpouštědlo, mikrovlnný výkon, teplota, tlak, čas) pro přípravu biskvarterního koncového produktu. Uvedené tři molekuly budou připraveny pomocí nalezených podmínek tak, aby bylo možno podmínky přípravy mezi sebou porovnat (tzn. stejný čas, rozpouštědlo, mikrovlnný výkon, teplota, tlak). Dále budou stejně

podmínky aplikovány na „klasickou“ chemickou přípravu uvedených molekul s tím, že tyto podmínky budou aplikovány mimo mikrovlnné prostředí. Výsledky chemické přípravy (výtěžek, čistota) v mikrovlnném a mimo mikrovlnné prostředí budou porovnány a vyhodnoceny.

Literatura

- [1] Musilek, K.; Dolezal, M.; Gunn-Moore, F.; Kuca, K. *Medicinal Research Reviews*. **2011**, vol. 31, no. 4, p. 548-575. DOI: 10.1002/med.20192.
- [2] Musilek, K.; Kuca, K.; Jun, D.; Dolezal, M. *Current Organic Chemistry*. **2007**, vol. 11, no. 2, p. 229-238. DOI: 10.2174/138527207779316417.
- [3] Bhatt, D.R.; Maheria, K.C.; Parikh, J.K. *RSC Advances*, 2015, vol. 5, no. 1, p. 12139-12143. DOI: 10.1039/C4RA16251J.
- [4] Kuca, K.; Bielavsky, J.; Cabal, J.; Kassa, J. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2003, vol. 13, no. 20, p. 3545-3547. DOI: 10.1016/S0960-894X(03)00751-0.
- [5] Kuca, K.; Bielavsky, J.; Cabal, J.; Bielavska, M. *Tetrahedron Letters*, **2003**, vol. 44, no. 15, p. 3123-3125. DOI:10.1016/S0040-4039(03)00538-0.
- [6] Musilek, K.; Jun, D.; Cabal, J.; Kassa, J.; Gunn-Moore, F.; Kuca, K. *Journal of Medicinal Chemistry*. **2007**, vol. 50, no. 22, p. 5514-5518. DOI: 10.1021/jm070653r.

Časový plán řešení

březen-červen 2016 – optimalizace podmínek mikrovlnné přípravy pomocí přístroje CEM

červenec-listopad 2016 – mikrovlnná a klasická příprava reaktivátorů AChE

prosinec 2016 – vyhodnocení a porovnání výsledků chemické přípravy

leden 2017 – průběžná výroční zpráva projektu a oponentní řízení projektu

leden-červen 2017 – příprava a obhajoba diplomové práce Bc. Andrey Košvancové, příprava a odeslání manuskriptu do časopisu typu Jimp

listopad 2017 – odevzdání závěrečné zprávy projektu

Splnění cílů řešení a přínos projektu

Cíle projektu byly dosud splněny částečně. Část výsledků projektu týkající se klasické přípravy reaktivátorů cholinesteras byla publikována v časopise Jimp (výsledek splňující výstupy Jimp plánované v projektu). Porovnání klasické přípravy a mikrovlnné přípravy reaktivátorů cholinesteras je nyní ve stadiu zpracování pro účely diplomové práce studentky NMgr. studia účastníci se projektu (druhý výstup plánovaný v projektu). Následně předpokládáme publikování porovnání obou typů příprav v další práci typu Jimp (další výsledek nad původní plán projektu).

Publikace dedikované projektu:

Antonijevic, E.; Musilek, K.; Kuca, K.; Djukic-Cosic, D.; Vucinic, S.; Antonijevic, B. Therapeutic and reactivating efficacy of oximes K027 and K203 against a direct acetylcholinesterase inhibitor. *NeuroToxicology*, **2016**, vol. 55, no. 1, p. 33-39. DOI: 10.1016/j.neuro.2016.05.006. IF₂₀₁₅ = 2.738 (Q2 v oborech Neurosciences, Pharmacology&Pharmacy, Toxicology)

Splnění kontrolovatelných výsledků řešení.

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

Tab. 1 Sumář výstupů řešení projektu¹

Typ výstupu	Plán v žádosti o projekt	Splněno	Plán do konce projektu	Poznámka (např. vyšlo, přijato, v redakčním řízení apod.
Počet obhájených dizertačních prací				
Počet obhájených diplomových prací	1	0	1	v řešení
Počet Jimp (databáze WoS)	1	1	1	v řešení
Počet Jsc (databáze SCOPUS)				
Počet Jneimp (databáze ERIH PLUS)				
Počet Jrec (seznam českých rec. čas.)				
Počet B (odborná kniha)				
Počet C (kapitola v odborné knize)				
Počet D (článek ve sborníku)				
Počet výsledků celkem				

Podrobné zdůvodnění výdajů a doložení dodatečných žádostí o změnu rozpočtu:

a) **osobní náklady** (mzdy, odměny; odvody na zdravotní, sociální a úrazové pojištění; tvorba sociálního fondu, dohody o provedení práce a dohody o pracovní činnosti) a jejich stručné zdůvodnění:

odměna pro řešitele 2,5 tis. Kč a odvody 861,- Kč

b) **stipendia** a jejich stručné zdůvodnění:

5 tis. Kč – odměna za laboratorní práce na projektu, Bc. Andrea Košvancová (číslo studentky S15CH004NP, studijní obor 7504T075 / Učitelství chemie pro střední školy)

c) **spotřební materiál** (výdaje na pořízení kancelářských potřeb a ostatního spotřebního materiálu) a jejich stručné zdůvodnění:

138 tis. Kč – spotřební materiál pro řešení projektu tj. chemikálie, rozpouštědla a technické plyny pro chemickou přípravu sloučenin, laboratorní spotřební materiál např. laboratorní sklo, laboratorní plast, apod., překročení nákladů dle vyúčtování ze systému Magion bude přeúčtováno do nákladů Katedry chemie

d) **drobný hmotný majetek** a jejich stručné zdůvodnění:

nebyl plánován

e) **další náklady** a jejich stručné zdůvodnění:

nebyly plánovány

¹ V případě, že vznikly typy výsledků neuvedené v tabulce, přidejte si do ní řádky. Přesná definice Definice jednotlivých typů výsledků viz Metodika hodnocení VaVaI

- f) **náklady nebo výdaje na služby** a jejich stručné zdůvodnění:
7 tis. Kč - nebyly plánovány, ale v rámci projektu byla čerpána služba na likvidaci chemického odpadu vzniklého v rámci projektu
- g) **doplňkové (režijní) náklady** nebo výdaje v souladu s příslušným řídicím aktem UHK:
nebyly plánovány
- h) **cestovné** a jeho stručné zdůvodnění:
nebylo plánováno

Výsledek čerpání finančních prostředků uveďte v jednotné přehledné Tabulce 2.

Tab. 2 Čerpání finančních prostředků v Kč

Položka	Plán	Žádost o změnu rozpočtu	Skutečnost
Počet členů řešitelského týmu čerpajících mzdové prostředky	1		1
Počet studentů čerpajících mzdové prostředky	1		1
Stipendia	5000		5000
DPP, DPČ - studenti	0		0
Odměny, DPP, DPČ - ostatní	2500		2500
Zákonné zdravotní a sociální pojištění	850		861
Celkem osobní náklady	8350		8361
Spotřební materiál	145000		137953
Drobný hmotný majetek	0		0
Materiálové náklady celkem	145000		137953
Služby celkem	0		7036
Cestovné celkem	0		0
Celkové náklady	153350		153350*

* překročení nákladů dle vyúčtování ze systému Magion bude přeúčtováno do nákladů Katedry chemie

Ke zprávě přiložte:

- kopie publikačních výstupů,
- výpis z OBD – výstupy podpořené tímto projektem,
- výsledovku z ekonomického informačního systému Magion – vyúčtování dotace.

Datum: 9. 1. 2017



Podpis odpovědného řešitele