

**Závěrečná zpráva projektu specifického výzkumu  
zakázka č. 2104 / 2021**

**Název projektu: Výzkum malých molekul využitelných při intoxikacích nebo onemocněních nervové soustavy**

**Specifikace řešitelského týmu**

Odpovědný řešitel: Mgr. Zuzana Kohoutová, prof. PharmDr. Kamil Musílek, Ph.D.

Studenti doktorského studia na UHK: Mgr. Zuzana Kohoutová, Mgr. Eliška Prchalová, Ing. Václav Vraštil (ukončil studium v říjnu 2021), Mgr. Annamária Halečková, Mgr. Michaela Vašková, Mgr. Žofia Chrienová, Mgr. Radomír Jůza

Studenti magisterského studia na PŘF UHK: Bc. Karolína Knittelová, Bc. Matěj Marek, Bc. Markéta Miškeříková, Bc. Veronika Skoupišová, Bc. Kateřina Šalomonová, Bc. Tereza Hofmanová, Bc. David Krejčí, Bc. Gabriela Nosková, Bc. Denisa Nosková, Bc. Lucie Odstrčilová, Bc. Veronika Syrová, Bc. Vojtěch Škopek, Bc. Petra Voglová.

Další výzkumní pracovníci: PharmDr. Rudolf Andrýs, Ph.D., PharmDr. Ondřej Benek, Ph.D., RNDr. Dávid Maliňák, Ph.D., prof. PharmDr. Kamil Musílek, Ph.D., RNDr. Patrik Olekšák, Ph.D., RNDr. Miroslav Psootka, Ph.D., PharmDr. Adam Skarka, Ph.D.

**Celková částka přidělené dotace: 551 600 Kč**

Datum zahájení řešení projektu: 3. 3. 2021

Datum ukončení řešení projektu: 30. 11. 2022

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

Projekt specifického výzkumu se zabýval dvěma různými směry. Prvním byl výzkum potenciálních reaktivátorů cholinesteras, které jsou využitelné při intoxikacích organofosforovými sloučeninami. Jedná se o bis- a monokvarterní soli, které jsou strukturními analogy sloučenin již připravených v minulosti naší výzkumnou skupinou. Sloučeniny s potenciální reaktivační aktivitou byly syntetizovány prostřednictvím vícekrokové syntézy. Pomocí moderních metod organické syntézy byly dané struktury připraveny a purifikovány. Získané produkty byly analyzovány pomocí metod NMR, HPLC a HRMS. Následně byla u připravených sloučenin testována stabilita v různých mediích (voda, pufr) a byly stanoveny hodnoty  $pK_a$ . Dále byly změřeny hodnoty  $IC_{50}$  pro cholinesterasy a byl proveden reaktivační screening připravených látek, na jehož základě byla následně změřena reaktivační kinetika vybraných produktů se slibnými reaktivačními výsledky. Tyto hodnoty byly následně porovnány s komerčně dostupnými a využívanými reaktivátory (např. pralidoxim, asoxim).

Druhým směrem byl výzkum modulátorů enzymů, které souvisí s rozvojem onemocnění nervové soustavy, zejména neurodegenerativních onemocnění. Tento výzkum se zabýval výzkumem nových nízkomolekulárních sloučenin se zvýšenou selektivitou vůči enzymům studovaným v patogenezi neurodegenerativních onemocnění. Navržené nízkomolekulární sloučeniny byly připraveny pomocí metod organické syntézy a byla experimentálně ověřena jejich aktivita pro vybrané molekulární cíle. Dále byl projekt zaměřen na optimalizaci metody pro měření enzymatické aktivity rekombinantního 17 $\beta$ -HSD10 s využitím 17 $\beta$ -estradiolu jako přirozeného substrátu tohoto enzymu. Mezi další studované enzymy patřil cyklofilin D, receptory pro GABA-A, receptory pro AMPA a další „off-target“ molekulární cíle k těmto enzymům/proteinům. Enzymová aktivita byla u uvedených proteinů stanovována pomocí spektrofotometrických metod.

Diplomové práce studentů pracujících na projektu byly zaměřeny na výše uvedené molekulární cíle a část z nich byla úspěšně obhájena v roce 2021 a další část v roce 2022. Disertační práce studentů pracujících na projektu byly průběžně připravovány a jedna byla úspěšně obhájena v listopadu 2022.

### Splnění cílů řešení a přínos projektu.

Cíle projektu byly splněny. V rámci první části projektu byly úspěšně syntetizovány struktury s potenciálem reaktivovat inhibované cholinesterasy, které byly charakterizovány, úspěšně otestovány a jsou publikovány v impaktovaných časopisech.

V rámci druhé části projektu byly také připraveny nové sloučeniny s modulační aktivitou na vybrané molekulární cíle ve vztahu k neurodegenerativním onemocněním. U těchto sloučenin byla testována aktivita a na základě získaných dat bude struktura látek případně upravena pro získání lepších farmakokinetických a farmakodynamických vlastností. Získaná data byla již publikována.

### Publikované články v časopisech typu Jimp (studenti zvýraznění):

1. **Chrienova, Z.**; Nepovimova, E.; Kuca, K. The role of mTOR in age-related diseases. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. **2021**, vol. 36, no. 1, p. 1679–1693. <https://doi.org/10.1080/14756366.2021.1955873> IF<sub>2020</sub> = 5.051, Q1 14/62 (Medicinal Chemistry), Q2 89/295 (Biochemistry & Molecular Biology)
2. **Juza, R.**; Stefkova, K.; Dehaen, W.; Randakova, A.; Petrasek, T.; Vojtechova, I.; Kobrlova, T.; Muckova, L.; Mecava, M.; Prchal, L.; Mezeiova, E.; Musilek, K.; Soukup, O.; Korabecny, J. Synthesis and in vitro evaluation of novel dopamine receptor D2 3,4-dihydroquinolin-2(1H)-one derivatives related to aripiprazole. *Biomolecules*. **2021**, vol. 11, no. 9, p. 1262. <https://doi.org/10.3390/biom11091262> IF<sub>2020</sub> = 4.879, Q2 96/295 (Biochemistry & Molecular Biology)
3. **Kohoutova, Z.**; Malinak, D.\*; Andrys, R.; Svobodova, J.; Psocka, M.; Schmidt, M.; Prchal, L.; Musilek, K.\* Charged pyridinium oximes with thiocarboxamide moiety are equally or less effective reactivators of organophosphate-inhibited cholinesterases compared to analogous carboxamides. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. **2022**, vol. 37, no. 1, p. 760-767. <https://doi.org/10.1080/14756366.2022.2041628> IF<sub>2021</sub> = 5.756, Q1 13/63 (Medicinal Chemistry), Q2 82/297 (Biochemistry & Molecular Biology)
4. **Juza, R.**; Vojtechova, I.; Stefkova-Mazochova, K.; Dehaen, W.; Petrasek, T.; Prchal, L.; Kobrlova, T.; Janousek, J.; Vlcek, P.; Mezeiova, E.; Svozil, D.; Zdarova Karasova, J.; Pejchal, J.; Stark, H.; Satala, G.; Bojarski, A.J.; Kubacka, M.; Mogilski, S.; Randakova, A.; Musilek, K.; Soukup, O.\*; Korabecny, J.\* Novel D2/5-HT receptor modulators related to cariprazine with potential implication to schizophrenia treatment. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2022**, vol. 232, no. 1, p. 114193. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114193> IF<sub>2021</sub> = 7.088, Q1 5/63 (Medicinal Chemistry)
5. Zdarova Karasova, J.\*; Kassa, J.; Hepnarova, V.; Pejchal, J.; Junova, L.; Andrys, R.; Malinak, D.; Bzonek, P.; **Kohoutova, Z.**; Musilek, K.\* Toxicity, pharmacokinetics, and effectiveness of the ortho-chlorinated bispyridinium oxime, K870. *Food and Chemical Toxicology*. **2022**, vol. 167, no. 1, p. 113236. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.113236> IF<sub>2021</sub> = 5.572, Q1 15/94 (Toxicology), Q1 34/144 (Food Science & Technology))

### 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.

U výstupů Jimp a Jsc uveďte do závorky plánovaný a skutečný kvartil časopisu.

**Tab. 1** Sumář výstupů řešení projektu

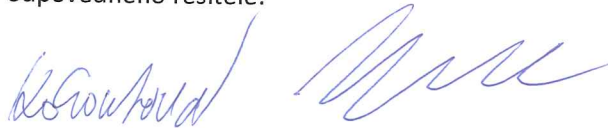
Typ výstupu	Plán	Skutečnost	Poznámka
Jimp (databáze WoS)	4	5	4×Q1, 1×Q2
Jsc (databáze Scopus)			
B (recenzovaná odborná kniha) <sup>1*</sup>			
C (kapitola v recenzované odborné knize)*			
D (článek ve sborníku ve WoS, Scopus)			
P (patent)			
Počet obhájených dizertačních prací	1	1	
Počet obhájených diplomových prací	5	5	
<b>Počet výsledků</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	

#### Ke zprávě přiložte:

- a) výpis z OBD – výstupy podpořené tímto projektem.

Datum: 30. 11. 2022

Podpis odpovědného řešitele:



\* Pouze renomovaná nakladatelství Elsevier, Springer, Bentham apod.



## Seznam literatury podle šablony ID záznamu

[1]Chrienová, Ž., Nepovimová, E., Kuča, K. The role of mTOR in age-related diseases. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*. ABINGDON : Taylor & Francis, 2021. 15s. ISSN: 1475-6366. Kód UT ISI: 000678972900001. Granty: NV19-09-00578. Spec. výzkum: S. Forma: J\_ČLÁNEK V ODBORNÉM PERIODIKU (ID: 43877819) (RIV ID: 50018209)

[2]Karasova, JZ., Kassa, J., Hepnarova, V., Pejchal, J., Junova, L., Andrýs, R., Maliňák, D., Bzonek, P., Kohoutová, Z., Musílek, K. Toxicity, pharmacokinetics, and effectiveness of the ortho-chlorinated bispyridinium oxime, K870. *Food and chemical toxicology*. Pergamon, 2022. 10s. ISSN: 0278-6915. Kód UT ISI: 000828006900001. Granty: GA21-03000S. Spec. výzkum: S. Forma: J\_ČLÁNEK V ODBORNÉM PERIODIKU (ID: 43878902) (RIV ID: 50019292)

[3]Kohoutová, Z., Maliňák, D., Andrýs, R., Svobodová, J., Psoťka, M., Schmidt, M., Prchal, L., Musílek, K. Charged pyridinium oximes with thiocarboxamide moiety are equally or less effective reactivators of organophosphate-inhibited cholinesterases compared to analogous carboxamides. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*. Taylor & Francis, 2022. 8s. ISSN: 1475-6366. Kód UT ISI: 000759901800001. Granty: GA21-03000S. Spec. výzkum: S. Forma: J\_ČLÁNEK V ODBORNÉM PERIODIKU (ID: 43878663) (RIV ID: 50019053)

[4]Jůza, R., Vojtechova, I., Stefkova-Mazochova, K., Dehaen, W., Petrasek, T., Prchal, L., Koblíková, T., Janousek, J., Vlcek, P., Mezeiova, E., Svozil, D., Karasova, JZ., Pejchal, J., Stark, H., Satala, GJ., Bojarski, AJ., Kubacka, M., Mogilski, S., Randakova, A., Musílek, K., Soukup, O., Korabecny, J. Novel D-2/5-HT receptor modulators related to cariprazine with potential implication to schizophrenia treatment. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2022. 20s. ISSN: 0223-5234. Kód UT ISI: 000766097300014. Granty: Spec. výzkum: S. Forma: J\_ČLÁNEK V ODBORNÉM PERIODIKU (ID: 43878734) (RIV ID: 50019124)

[5]Jůza, R., Stefkova, K., Dehaen, W., Randakova, A., Petrasek, T., Vojtechova, I., Koblíková, T., Pulkrabkova, L., Muckova, L., Mecava, M., Prchal, L., Mezeiova, E., Musílek, K., Soukup, O., Korabecny, J. Synthesis and In Vitro Evaluation of Novel Dopamine Receptor D-2 3,4-dihydroquinolin-2(1H)-one Derivatives Related to Aripiprazole. *Biomolecules*. MDPI-Molecular diversity preservation international, 2021. 18s. ISSN: 2218-273X. Kód UT ISI: 000699332600001. Granty: Spec. výzkum: S. Forma: J\_ČLÁNEK V ODBORNÉM PERIODIKU (ID: 43877969) (RIV ID: 50018359)