

NOVI DOKTORJI ZNANOSTI

NEW DOCTORS OF SCIENCE

UREDILI / EDITED BY:

Mateja Terčič, univ. dipl. sociol.
doc. dr. Nina Kočevar Glavač, mag. farm.

Fakulteta za farmacijo Univerze v Ljubljani

Grega Hudovornik, mag. farm.

OPTIMIZACIJA IZDELAVE FILMSKO OBLOŽENIH PELET V ZVRTINČENIH PLASTEH S POMOČJO »IN-LINE« TEHNIK

Mentor: prof. dr. Franc Vrečer

Doktorska disertacija Grege Hudovornika sodi na področje farmacevtske tehnologije. V svojem raziskovalnem delu je doktorand proučeval uporabnost dveh procesno analiznih tehnologij, bližnje infrardeče spektroskopije (NIR) in tehnike modificiranega prostorskega filtra (SFT), pri vrednotenju izbranih kritičnih lastnosti filmsko obloženih pelet med procesom izdelave. Raziskave je izvajal na realnih procesih, kjer je zelo težko proučevati izolirani vpliv posameznega procesnega parametra.

Doktorand je svojo nalogo razdelil v več poglavij. V svojem eksperimentalnem delu se je v prvem delu naloge posvetil študiju temperiranja filmsko obloženih pelet, ki predstavlja pomembno fazo oblaganja trdnih farmacevtskih oblik, zlasti v primeru oblaganja s funkcionalnimi oblogami z disperzijami na vodni osnovi. V tej fazi prihaja do koalescence polimernih verig v oblogi in s tem stabilizacije njenih lastnosti. Na osnovi eksperimentalnega dela je proučil vpliv procesnih

parametrov temperiranja in določil njihove optimalne vrednosti ter odstop posameznih rezultatov od pričakovani znanstveno razložil. Potek temperiranja je spremljal z NIR spektroskopijo in poskušal modelirati profile sproščanja v odvisnosti od pogojev temperiranja, kar predstavlja novost na raziskovalnem področju.

V drugem delu naloge je proučeval možnosti spremljanja in vodenja procesa oblaganja pelet z *in line* tehnikami NIR in SFT, pri čemer je pri prvi tehniki dokazal njeno uporabnost za vrednotenje vsebnosti vlage v produktu. Razviti model je bil robusten in uporaben tudi pri kvalitativno spremenjeni sestavi filmske obloge. Dodatno je ugotovil, da lahko obe proučevani *in-line* tehniki uporabimo tudi za detekcijo neželenega kršenja pelet pri oblaganju kot posledico neustreznih procesnih parametrov, kar je zaradi pomena za kakovost produkta in hitro detekcijo pojava pomembno v industrijskih procesih oblaganja pelet. Z novim pristopom, pri katerem je vrednosti, pridobljene s SFT tehniko, uporabil za razvoj NIR modela, je uspešno razvil model za napovedovanje debeline obloge, kar ima velik aplikativni pomen za optimizacijo postopkov oblaganja v industrijskem merilu. Rezultate svojega raziskovalnega dela v okviru doktorata je objavil v več izvirnih raziskovalnih člankih v revijah z dejavnikom vpliva in predstavil na mednarodnih znanstvenih konferencah.

Polona Bukovec, mag. farm.

ŠTUDIJ VPLIVA ZGRADBE IN OBLIKE KRISTALOV NA FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI ZDRAVILNIH UČINKOVIN

Mentor: prof. dr. Franc Vrečer

Doktorska disertacija Polone Bukovec sodi na področje farmacevtske tehnologije. Doktorandka je v svojem doktorskem delu raziskovala vpliv lastnosti posameznih kristalnih ploskev modelne zdravilne učinkovine oz. oblike kristalov na lastnosti posameznih kristalov in *bulk* prahov, ki so pomembne v oblikovanju trdnih farmacevtskih oblik in njihovih lastnosti.

Za izhodišče svojega raziskovalnega dela je uporabila simvastatin, pri katerem je zaradi njegovih slabe topnosti in hidrofobnosti prisotna možnost izboljšanja njegovih biofarmaceutskih lastnosti z manipulacijo oblike delcev, ki bi vodila v njihovo večjo hidrofilnost.

S kristalizacijo simvastatina iz kombinacij topil z različno polarnostjo je uspela pridobiti kristale, ki so se razlikovali samo v svojih obliki in relativnih velikostih posameznih kristalnih



ploskev in so hkrati izkazovali različne hitrosti raztapljanja. Ugotovila je, da imajo kristali, izolirani iz kombinacije topil z večjo polarnostjo, bolj izražene polarne kristalne ploskve, posebej ploskev (011), in so v paličasti obliki. Nasprotno je bila pri ploščatih kristalih najizrazitejša ploskev (001), ki ima bolj hidrofoben karakter. Te lastnosti posameznih kristalnih ploskev, ugotovljene na nanometrski ravni, je uspešno povezala z makroskopskim in biofarmacevtsko relevantnim parametrom intrinzične hitrosti raztapljanja. Z inovativnim pristopom študija mehanskih lastnosti posameznih kristalnih ploskev obeh tipov kristalov je določila tudi mehanske lastnosti izbranih kristalnih ploskev in jih povezala s strukturno urejenostjo molekul simvastatina v kristalu, kar je pomembno za njihovo procesibilnost v procesu stiskanja tablet in relativno hitrost raztapljanja izbranih kristalnih ploskev.

Rezultate svojega raziskovalnega dela je doktorandka objavila v več izvirnih raziskovalnih člankih v revijah z dejavnikom vpliva. Njeni rezultati, ki predstavljajo svojski in redko uporabljen pristop k solubilizaciji slabo topnih zdravilnih učinkovin, ter njeni raziskovalni pristopi pa so oz. bodo uporabljeni tudi v razvojnem delu v podjetju KRKA, d. d., Novo mesto.

Jure Borišek, mag. farm.

NAČRTOVANJE ZAVIRALCEV KATEPSINA K IN AVTOLIZINA S POMOČJO PRISTOPOV KEMOMETRIJE IN STRUKTURNO PODPRTEGA NAČRTOVANJA

Mentorica: izr. prof. dr. Marjana Novič

Somentorica: izr. prof. dr. Anamarija Zega

Jure Borišek je v doktorskem delu prikazal inovativen pristop k načrtovanju encimskih zaviralcev. Delo je opravil v dveh sklopih, v prvem je bil tarčni protein katepsin K, lizosomska proteaza, ki igra pomembno vlogo pri nekaterih boleznih, zlasti pri osteoporozi, v drugem pa avtolizin E, ki je peptidoglikanska hidrolaza bakterijskega seva *Staphylococcus aureus*.

Najprej je s pomočjo opisa kemijske strukture zaviralcev katepsina K v kompleksu ligand-encim dobil mehanistično sliko delovanja učinkovine in s tem omogočil optimizacijo zaviralcev z namenom zmanjševanja neželenih učinkov. Nato je z uporabo virtualne kombinatorične knjižnice, modeliranja odnosov med strukturo in delovanjem ter molekulskega sidranja razvili novo serijo zaviralcev katepsina

K, katerih struktura temelji na balikatibu sorodnem skeletu. Da bi zmanjšal neželene učinke, poznane pri balikatibu, je na pozicijo P3 vključil šibko bazični oziroma nebazični strukturni fragment. Tri sintetizirane spojine so bile visoko-selektivne za katepsin K v primerjavi s katepsini L in S z vrednostmi konstante inhibicije v območju 10-30 nM. Kinetične študije so pokazale, da imajo novi zaviralci tesen in reverzibilen način vezave na katepsin K, medtem ko so X-žarkovne strukturne študije razkrile tako kovalenten kot tudi nekovalenten način vezave med nitrilno skupino zaviralcev in katalitičnim cisteinom Cys25.

V drugem sklopu raziskav se je Jure Borišek posvetil iskanju novih potencialnih zaviralcev avtolizina E, ki predstavlja novo tarčo protimikrobnih učinkovin. Kot izhodišče pri načrtovanju potencialnih zaviralcev avtolizina E je uporabil še neobjavljeno kristalno strukturo z vezanim ligandom sladkorja. S podobnim pristopom kot v prvem sklopu raziskav, vendar brez poznavanja kakršnih koli zaviralcev (to imenujemo *de novo design*), je identificiral obetavne potencialne zaviralce ter ovrednotil njihovo vezavo – najboljši so bili v nizkem mikromolarnem območju. Te spojine predstavljajo odlično izhodišče za nadaljnjo optimizacijo in potencialni razvoj novega razreda protimikrobnih učinkovin.

Marko Jukić, mag. farm.

UPORABA NARAVNIH SPOJIN VODNIC TER IN SILICO PODPRTO REŠETANJE KEMIJSKIH KNJIŽNIC PRI NAČRTOVANJU IN SINTEZI NOVIH PROTIBAKTERIJSKIH UČINKOVIN IN MODULATORJEV IONSKIH KANALČKOV

Mentor: izr. prof. dr. Marko Anderluh

Marko Jukić je opravil raziskave s področja Farmacevtske kemije kot del podiplomskega študija Biomedicine, področja Farmacije. Rezultati njegovega dela predstavljajo originalni znanstveni prispevek na področjih modeliranja, načrtovanja, organske sinteze in vrednotenja novih modulatorjev napetostno odvisnih natrijevih kanalčkov, zaviralcev DNA giraze B in protibakterijskih učinkovin.

Marko Jukić je za načrtovanje strukturnih analogov spojin vodnic iz morskih spužv rodu *Agelas* uporabil klasične far-



macevsko-kemijske pristope kot tudi moderne *in silico* metode virtualne kombinatorične kemije in farmakofornega modeliranja. Na podlagi izračunanih in predvidenih lastnosti je doktorand pripravil usmerjeno knjižnico analogov spojin vodnic. Pripravljene spojine je biološko ovrednotil s celičnimi testi na več tipih napetostno odvisnih natrijevih kanalčkov s pomočjo partnerjev iz Univerze v Leuvenu (Belgija) in farmacevtskega podjetja Xention (Združeno Kraljestvo). Na osnovi teh izsledkov je identificiral strukturne elemente, odgovorne za delovanje na napetostno odvisnih natrijevih kanalčkih, in pripravil spojine s piperazinskim skeletom, ki so izkazovale zmerno mikromolarno, vendar selektivno delovanje na tip 1.3 napetostno odvisnih natrijevih kanalčkov. Spojini vodnici oroidin in klatrocin iz morskih spužev *Agelas* je Marko Jukič uporabil tudi za načrtovanje zaviralcev DNA giraze B. Z uporabo metod molekulskega sidranja je identificiral tri strukturne razrede potencialnih zaviralcev DNA giraze B, jih pripravil sintezno ter biološko ovrednotil na izoliranem encimu iz bakterijskega seva *Escherichia coli*. Rezultat so bili strukturno novi zaviralci DNA giraze B v nanomolarnem območju konstant zaviranja z razdelanim odnosom med strukturo in delovanjem ter predstavljajo obetavno izhodišče za nadaljnjo optimizacijo in razvoj klinično uporabnih novih protimikrobnih učinkovin. V nasprotju z zaviralci DNA giraze B z znanim mehanizmom delovanja, a odsotnostjo močnega protibakterijskega učinka pa je končni rezultat disertacije tudi serija novih protibakterijskih učinkovin z izotiazolidinonskim skeletom s potrjenim protibakterijskim učinkom.

Še posebej velja izpostaviti znanstveno produktivnost Marka Jukiča. Pretežni del njegovega doktorskega dela je objavljen v publikacijah, do zagovora doktorske disertacije pa je s soavtorji objavil 10 člankov, od tega 9 v revijah z dejavnikom vpliva.

Daniela Milosheska, mag. farm.

KLINIČNA FARMAKOKINETIKA LAMOTRIGINA, OKSKARBAZEPINA IN TOPIRAMATA PRI BOLNIKI Z EPILEPSIJO

Mentor:izr. prof. dr. Iztok Grabnar

Somentor:izr. prof. dr. Tomaž Vovk

Zdravljenje epilepsije je v večini primerov simptomatsko s protiepileptičnimi zdravili. Zaradi narave bolezni je klinično spremljanje učinkovitosti in varnosti zdravljenja težavno. V

pomoč pri načrtovanju odmerjanja so lahko meritve koncentracije zdravilne učinkovine v krvi bolnika.

Doktorandkino delo lahko razdelimo v dva sklopa. V prvem je razvijala analzne metode za terapevtsko spremljanje koncentracij protiepileptičnih zdravil, v drugem pa so podani rezultati dveh kliničnih farmakokinetičnih študij na bolnikih z epilepsijo.

Doktorandka je razvila in validirala dve kromatografski analzni metodi, ki omogočata sočasno določanje 12 protiepileptičnih učinkovin in njihovih metabolitov v krvni plazmi. Poleg tega je razvila metodo, ki omogoča določanje okskarbazepina in karbamazepina ter njunih metabolitov v posušeni krvnih kapljicah. Zaradi zelo majhnega volumna odvzete krvi je ta metoda zelo uporabna za spremljanje terapije pri dojenčkih in otrocih. V klinični raziskavi farmakokinetike lamotrigina je ugotovila, da na hitrost izločanja lamotrigina iz telesa vplivajo genetski dejavniki, telesna masa, ledvična funkcija, kajenje in sočasna uporaba zdravil, ki inducirajo ali inhibirajo presnovo. Z raziskavo farmakokinetike okskarbazepina pri otrocih je razvila model, ki omogoča zdravljenje, prilagojeno posameznemu otroku. Rezultati raziskav doktorskega dela so vidni in so mednarodno primerljivi, kar je razvidno iz doktorandkine bibliografije, ki obsega tri objavljene in pet v objavo poslanih prispevkov v revije z dejavnikom vpliva.

Raziskovala je tudi androgeno in glukokortikoidno delovanje analogov bisfenola A in iskala njihovo povezavo med strukturo in delovanjem. Ugotovila je, da bisfenoli z manjšim substituentom delujejo agonistično, medtem ko bisfenoli s sterično večjim substituentom ali daljšo razdaljo med hidroksilnima skupinama delujejo antagonistično. Te rezultate je potrdila s pomočjo molekulskega sidranja.

Na celični liniji MCF-7je pokazala, da bisfenol AF poveča adhezijo celic na vitronektin tako, da aktivira vitronektinski receptor. To je prvi dokaz, da lahko hormonski motilec deluje preko takšnega mehanizma. Ta mehanizem delovanja pa ni zaželen, predvsem pri kemikalijah, ki imajo tudi druge mehanizme delovanja, ki lahko vodijo do rakavih bolezni.

V sklopu doktorskega študija je razvila tudi prosto dostopno internetno aplikacijo *Endocrine Disruptome*, ki omogoča molekulske sidranje v izbrane in validirane kristalne strukture jedrnih receptorjev. Ker je *Endocrine Disruptome* preprost za uporabo in na voljo na internetu, lahko uporabnik hitro in učinkovito izračuna, ali je spojina hormonski motilec ali ne.