

# NOVI DOKTORJI ZNANOSTI

## NEW DOCTORS OF SCIENCE

UREDILI / EDITED BY:

Mateja Terčič, univ. dipl. sociol.

Doc. dr. Nina Kočevar Glavač, mag. farm.

Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo

Nove doktorje znanosti Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani so promovirali na promocijah 20. aprila, 30. junija in 26. oktobra 2017.

**Marina Gjorgjieva, mag. farm.**

## NAČRTOVANJE, SINTEZA IN VREDNOTENJE ZAVIRALCEV DNA GIRAZE B Z BENZOTIAZOLSKIM SKELETOM

Mentor: prof. dr. Danijel Kikelj

Somentorica: prof. dr. Lucija Peterlin Mašič

Odpornost bakterij proti večini protibakterijskih učinkovin postaja vse večji problem, zato se potreba po novih protibakterijskih učinkovinah povečuje in dejstvo, da posveča farmacevtska industrija premalo pozornosti odkrivanju novih protibakterijskih učinkovin, postaja vse bolj skrb vzbujajoče. ATP vezavno mesto bakterijske DNA giraze ponuja dobro priložnost za načrtovanje novih protibakterijskih učinkovin. Podobnost v strukturi med bakterijsko girazo B in podenoto topoizomeraze IV Par E odpira možnost za načrtovanje protibakterijskih učinkovin s sinergističnim delovanjem na dve tarči v bakterijski celici.

V okviru doktorskega dela je doktorandka načrtovala, sintetizirala in biološko ovrednotila potencialne pirolkarboksamidne inhibitorje DNA giraze z benzotiazolskim skeletom kot nadaljevanje raziskav inhibitorjev DNA giraze s 4,5,6,7-tetrahidrobenzo[d]tiazolnim ogrodjem, ki so jih odkrili nedavno. Pripravljene spojine so izkazovale močno inhibitorno aktivnost *in vitro* na DNA girazo *Escherichia coli*, nekatere spojine pa tudi zaviralno aktivnost na DNA girazo *Staphylococcus aureus*. Najboljši inhibitor DNA giraze *E. coli* je imel vrednost  $IC_{50}$  33 nM. Določene spojine so pokazale dvojno zaviralno delovanje, tako na DNA girazo iz *E. coli* in *S. aureus* kot tudi na topoizomerazo IV iz *E. coli* in *S. aureus*. Vezavo pripravljenih inhibitorjev v ATP vezavno mesto DNA giraze smo potrdili s kristalno strukturo kompleksa giraze B iz *E. coli* z enim od pripravljenih inhibitorjev. Sintetizirane inhibitorje DNA giraze in topoizomeraze IV smo testirali tudi na protibakterijsko aktivnost na po Gramu pozitivne (*S. aureus*, *Enterococcus faecalis*) in po Gramu negativne bakterijske seve (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), vendar niso pokazali znatne protibakterijske aktivnosti. Za eno od spojin smo pokazali, da je substrat efluksne črpalke AcrAB-tolC, s čimer lahko razložimo njeno slabo protibakterijsko aktivnost na testirane po Gramu negativne bakterijske seve.

Pripravljene spojine so bile vključene tudi v projekt rešetanja spojin, namenjen odkrivanju spojin s protivirusnim delovanjem, in nekateri benzotiazolni inhibitorji giraze B so izkazali aktivnost proti virusom influence A in influence B. Ker je struktura ATP vezavnega mesta DNA giraze zelo podobna strukturi ATP vezavnega mesta šaperona Hsp90 in ker je Hsp90 šaperon pomemben pri replikaciji virusa influence, se je v okviru doktorske disertacije porodila ideja, da je protivirusna aktivnost benzotiazolnih inhibitorjev giraze B morda posledica inhibicije Hsp90. Z mikroforeznim testom so finski partnerji na projektu dokazali vezavo benzotiazolnih inhibitorjev giraze B na Hsp90. Najboljše benzotiazolne spojine so imele vrednosti Kd v nanomolarnem območju, kar je primerljivo z vrednostjo Kd znanega inhibitorja Hsp90, 17-desmetoksi-17-N,N-dimetilaminoetilaminogeldanamicina (17-DMAG).

V okviru doktorskega dela je doktorandka tako uspela pripraviti spojine, ki imajo inhibitorno delovanje na DNA girazo kot tudi na topoizomerazo IV bakterij *E. coli* in *S. aureus*. Kristalna struktura ene od njih v kompleksu z DNA girazo B iz *E. coli* daje priložnost za nadaljnjo optimizacijo teh spojin za izboljšanje njihovih inhibitornih aktivnosti. Ugotoviti, da imajo pripravljene benzotiazolne inhibitorje giraze tudi delovanje proti virusu influence in da se vežejo na šaperon Hsp90, dajeta dobro izhodišče za nadaljnje načrtovanje in



razvoj učinkovin, ki bi imele protibakterijsko in protivirusno delovanje.

Rezultate, dobljene v okviru doktorske disertacije Marine Gjorgjijeve, smo objavili v članku v ugledni reviji *Journal of Medicinal Chemistry*.

**Ivana Klopčič, mag. farm.**

## RAZISKAVE ENDOKRINIH UČINKOV FENOLNIH ANALOGOVS BISFENOLA A IN NJIHOVIH MEŠANIC *IN SILICO* IN *IN VITRO*

Mentorica: prof. dr. Marija Sollner Dolenc

Somentor: izr. prof. dr. Janez Mavri

V svojem delu se je Ivana Klopčič osredotočila na identifikacijo potencialnih hormonskih motilcev fenolnih analogov bisfenola A (BPA) iz skupin zdravil, onesnažil in kozmetičnih sestavin, na njihovo pleiotropno delovanje ter proučevanje hormonskih učinkov njihovih mešanic. Z metodo *in silico* je s pomočjo prosto dostopnega programskega orodja *Endocrine Disruptome* napovedala afiniteto vezave z dvanajstimi različnimi jedrnimi receptorji za izbran niz spojin. Predvsem se je osredotočila na bromirane zaviralce gorenja ter aminofenolne analoge BPA iz skupine zdravil (npr. diklofenak, paracetamol) ter nekatere kozmetične sestavine (npr. avobenzon) ter njihove metabolite. Testirala jih je tudi *in vitro* na celičnih linijah s poročevalskim genom za luciferazo. Za spojine, ki so izkazovale glukokortikoidno in androgeno moduliranje, je izvedla še potrditveni test vezave *in vitro*. Med prvimi je za prej omenjene spojine dokazala njihove različne hormonske učinke na estrogenskem, androgenem, glukokortikoidnem in tiroidnem receptorju pri koncentracijah, ki smo jim ljudje lahko izpostavljeni. V drugem delu doktorske disertacije je dokazala, da je hormonski učinek proučevanih spojin na zgoraj omenjene receptorje odvisen od hkratne prisotnosti drugih snovi in da imajo hormonsko aktivni fenolni analogi BPA pleiotropni učinek. Poleg modulacije jedrnih receptorjev se je namreč osredotočila tudi na njihovo genotoksično in imunomodulatorno delovanje. Rezultati na celični liniji LCL kažejo, da imajo določeni aminofenolni analogi BPA imunomodulatorno delovanje pri koncentracijah, najdenih v človeški plazmi, ter da na njega znatno vpliva metabolizem teh spojin. Dokazala je, da lahko predvsem fenolni analogi BPA kot hormonski motilci glu-

kokortikoidnega receptorja spremenijo imunski odziv izpostavljenih posameznikov. Ker je še vedno odprto vprašanje o genotoksičnosti paracetamola, ki ga je izbrala kot eno izmed spojin, ki jo uvrščamo med fenolne analoge bisfenola A iz skupine zdravil in ima endokrino delovanje, je s pomočjo kvantno-kemijskih metod skupaj s sodelavci prva predstavila mehanizem direktne interakcije med DNA in toksičnim metabolitom paracetamola (NAPQI) in predpostavila, v kakšnih pogojih v celici do teh poškodb DNA lahko pride.

Učinke mešanic izbranih spojin iz skupin onesnažil in kozmetičnih sestavin je določila na celičnih linijah na enak način kot hormonske učinke posameznih spojin. Glede na dobljene rezultate je zaključila, da testirane komponente mešanic interagirajo ena z drugo. Pokazala je, da učinki mešanic niso zanemarljivi ter da jih je nujno vklopiti v oceno tveganja za zdravje ljudi in njihov vpliv na okolje. Ti rezultati kažejo, da je potrebno natančno določiti strategijo za testiranje mešanic spojin, ki bo temeljila na ustreznih toksikoloških testih (že obstoječe metode *in silico* in *in vitro*, novi biološki testi ter modelna orodja za testiranje mešanic Euromix).

Rezultate svojega raziskovalnega dela v okviru doktorata je Ivana Klopčič objavila v šestih izvornih raziskovalnih člankih v revijah z visokim dejavnikom vpliva, štiri članki pa so poslani v objavo. Svoje delo je predstavila tudi na več mednarodnih in domačih znanstvenih konferencah.

**Jure Peklari, mag. farm.**

## ZDRAVJE STAROSTNIKOV IN OSEB S POSEBNIMI POTREBAMI TER NJIHOVA UPORABA ZDRAVIL IN PREHRANSKIH DOPOLNIL

Mentor: izr. prof. dr. Mitja Kos

Somentor: prof. dr. Martin Henman

Kandidat je raziskoval zdravje starostnikov in oseb s posebnimi potrebami ter njihovo uporabo zdravil in prehranskih dopolnil, in sicer na podlagi irske longitudinalne raziskave staranja TILDA ter raziskave oseb s posebnimi potrebami IDS-TILDA.

17 % starostnikov je poročalo o redni uporabi prehranskih dopolnil, 14 % pa o redni sočasni uporabi tako prehranskih dopolnil kot tudi zdravil. 4,5 % primerov sočasnih uporab bi lahko privedlo do klinično pomembnih interakcij.

Sedativno breme zdravil predstavlja pomemben vpliv na zdravstveni status starostnikov. Zdravila, ki imajo tudi sedativne učinke, je uporabljalo 19 % starostnikov, in sicer najbolj pogosto hipnotike in antidepresive. Njihova uporaba je bila pozitivno povezana s sindromom krhkosti pri starostnikih. Zdravila s sedativnim učinkom je uporabljalo 46 % starostnikov, ki so imeli razvit sindrom krhkosti, 23 % starostnikov s predstopnjo krhkosti in 9 % oseb, ki niso imele razvitega sindroma krhkosti.

Uporaba zdravil in prehranskih dopolnil je med osebami s posebnimi potrebami skoraj dvakrat višja v primerjavi s populacijo, proučevano v raziskavi TILDA. Breme zdravljenja z zdravili tako predstavlja pomemben vidik ustrezne obravnave teh oseb.

---

**Katarina Bolko Seljak, mag. farm.**  
**TEHNOLOŠKI PRISTOPI ZA  
RAZVOJ NA LIPIDIH  
OSNOVANIH TRDNIH  
SISTEMOV**

Mentorica: prof. dr. Mirjana Gašperlin  
Somentor: prof. dr. Janez Kerč

Področje doktorske disertacije Katarine Bolko Seljak je razvoj novih na lipidih osnovanih sistemov za izboljšanje biofarmaceutskih lastnosti vanje vgrajenih učinkovin ter pretvorba teh sistemov v trdne farmacevtske oblike, tako enoenotne (tablete) kot večnotenotne (mikrokapsule). Za modelno učinkovino smo izbrali polifenol naravnega izvora resveratrol, katerega širšo terapevtsko uporabo ovirata njegova slaba topnost in predsystemski metabolizem.

V nalogi je doktorandka razvila inovativen na lipidih osnovan samomikroemulgirajoči sistem z resveratrolom, s katerim je uspela značilno izboljšati njegovo topnost in obseg sproščanja ter na modelu podganjega črevesa in celic Caco 2 dokazati značilno zmanjšan efluks njegovih metabolitov zaradi zaviranja sekretornih prenašalcev, pri čemer formulacija ni vplivala na integriteto in vitalnost celične linije *in vitro*. V zadnjem delu je doktorandka uspešno načrtovala in izvedla adsorpcijo tekočih SMES na trdne nosilce, ki so omogočili izdelavo tablet, pri čemer so se ohranile samomikroemulgirajoče lastnosti. Tako je potrdila, da so SMES-i perspektiven dostavni sistemi za izboljšanje biofarmaceutskih, farmakokinetičnih in toksikoloških lastnosti resveratrola.

Rezultati doktorske naloge so mednarodno primerljivi in objavljeni v štirih člankih z dejavnikom vpliva, petega pa smo poslali v objavo.

Z novimi dognanji, pridobljenimi na podlagi kompleksnih rezultatov doktorske naloge, je kandidatka doprinesla pomemben znanstveni prispevek k tehnološki in industrijski konkurenčnosti trdnih SMES za peroralno dostavo slabo topnih učinkovin.

---

**Samo Rožman, mag. farm., spec. klin. farm.**  
**FARMAKOKINETIČNE  
LASTNOSTI IN KLINIČNA  
UČINKOVITOST RITUKSIMABA  
PRI BOLNIKI Z DIFUZNIM  
VELIKOCELIČNIM LIMFOMOM B**

Mentor: prof. dr. Iztok Grabnar

Somentorica: izr. prof. dr. Barbara Jezeršek Novaković

V doktorski disertaciji je Samo Rožman obravnaval biološko zdravilo rituksimab. Rituksimab v kombinaciji s kemoterapijo izboljša preživetje bolnikov z difuznim velikoceličnim limfomom B. Prognostični dejavniki, ki bi napovedovali uspešnost zdravljenja, pa so slabo opredeljeni. Nekatere raziskave kažejo, da je kljub enakim odmerkom serumska koncentracija rituksimaba večja pri bolnikih, ki se na zdravljenje odzovejo, kot pri bolnikih, pri katerih zdravljenje ni uspešno. Spremljanje farmakokinetike bi zato morda lahko služilo kot napovedni dejavnik uspešnosti zdravljenja in za identifikacijo bolnikov, ki potrebujejo večje odmerke ali več krogov zdravljenja.

Za preskus te hipoteze je Samo Rožman izvedel klinično raziskavo na bolnikih z novoodkritim velikoceličnim limfomom B. Bolnikom je v vsakem krogu zdravljenja določil koncentracijo rituksimaba v krvnem serumu z encimsko-immunsko metodo. Določil je tudi genski polimorfizem receptorja Fc-gama. Za farmakokinetično analizo je uporabil pristop populacijske farmakokinetične analize z nelinearnim modeliranjem mešanih učinkov. Klinični odgovor je bil ocenjen v skladu s Chesonovimi kriteriji.

Samo Rožman je ugotovil, da farmakokinetiko rituksimaba najbolje opisuje dvoprostorni model s konstantnim in časovno spremenljivim očistkom. Konstantni očistek je nižji pri starejših bolnikih in tistih z manjšo telesno maso, volumen centralnega prostora pa je večji pri moških. Bolniki, pri katerih je prišlo do napredovanja bolezni, so imeli počasnejši



upad časovno spremenljivega očistka rituksimaba in zato višji celokupni očistek ter manjše serumske koncentracije rituksimaba. Hitrost upada časovno spremenljivega očistka rituksimaba zato lahko služi kot napovedni dejavnik uspešnosti zdravljenja. Med različnimi genotipi receptorja Fc-gama kandidat ni ugotovil značilno različnega odgovora na zdravljenje. Opazil pa je trend boljšega odgovora pri bolnikih, ki so homozigoti za valin na mestu 158.

Rezultati disertacije so inovativni v mednarodnem merilu, predstavljajo pomemben doprinos k znanosti, imajo pa tudi potencialno uporabno vrednost pri izboljšanju zdravljenja bolnikov z difuznim velikoceličnim limfomom B.

**Tomaž Nerat, mag. farm.**

## VPLIV VODLJIVOSTI BOLNIKOV S SLADKORNO BOLEZNIJO TIPA 2 NA BREME BOLEZNI IN STROŠKOVNO UČINKOVITOST ZDRAVIL

Mentor: izr. prof. dr. Mitja Kos

Kandidat je ovrednotil sodelovanje bolnikov s sladkorno boleznijo tipa 2 pri zdravljenju z zdravili ter njegov vpliv na breme bolezni in stroškovno učinkovitost.

Bolniki s sladkorno boleznijo tipa 2 v Sloveniji dobro sodelujejo pri zdravljenju z zdravili (91 %). V primeru ustrezne prehrane so bolniki srednje sodelujoči (60 %) in v primeru telesne aktivnosti dobro sodelujoči (90 %). Kljub visoki stopnji sodelovanja pri jemanju zdravil pa so imeli vključeni bolniki sorazmerno slabo urejeno glikemijo. Breme plačnika zdravstvenega varstva (obvezno in dopolnilno zavarovanje) v Sloveniji je bilo ovrednoteno na 99.120.419 EUR oz. 4,18 % planiranih javnih stroškov za zdravstvo. Navedeni delež je primerljiv z rezultati v drugih zahodno evropskih državah.

Pri bolnikih s sladkorno boleznijo tipa 2 so najbolj učinkovite naslednje intervencije, ki vplivajo na sodelovanje bolnikov: intervencije, ki vplivajo na sodelovanje bolnikov pri zdravljenju z zdravili, mediteranska dieta, aerobna, rezistentna in kombinirana telesna aktivnost. Doživljenjska simulacija napredka bolezni z vključenimi intervencijami ni prinesla celokupnega prihranka za plačnika. Med navedenimi vodenimi intervencijami so bile z vidika plačnika najbolj učinkovite tiste, ki vplivajo na sodelovanje bolnikov pri zdravljenju z zdravili.

Rezultati disertacije nakazujejo, da upoštevanje informacij o sodelovanju pacientov pri zdravljenju z zdravili pomembno vpliva na rezultate stroškovne učinkovitosti.

## Luka Kristanc, dr. med., dipl. biol. UČINKI POROTVORNEGA NISTATINA NA LIPIDNE MEHURČKE CELIČNIH VELIKOSTI

Mentor: doc. dr. Bojan Božič

Somentorica: prof. dr. Marija Sollner Dolenc

V svoji disertaciji je Luka Kristanc pomembno nadgradil obstoječe znanje o delovanju polienskega antimikotika nistatina na fosfolipidne membrane. Za področje polienov je uporabil izviren metodološki pristop, saj je proučeval odzive posamičnih fosfolipidnih mehurčkov celičnih velikosti. Pri teh mehurčkih je lahko sledil nastajanju membranskih izrastkov in različnim vrstam pokov, kar je omogočalo kvantitativno opredelitev delovanja nistatina na membrane. Njegov največji prispevek k znanosti je dognanje, da že pri koncentracijah znotraj območja klinično priporočenih serumskih koncentracij nistatina pride pri membranah, ki vsebujejo ergosterol, do enakih sprememb kot pri membranah, ki vsebujejo holesterol, pri skoraj desetkrat večjih koncentracijah nistatina. Raziskave na mehurčkih je primerjal z odzivi pri celicah, zato imamo sedaj bistveno boljši vpogled na delovanje nistatina pri celicah.

V doktorski disertaciji je predstavil vsebino treh svojih član- kov, ki so objavljeni v uglednih mednarodnih revijah.

**Jernej Luzar, mag. farm.**

## IDENTIFIKACIJA IN OVREDNOTENJE MIMOTOPOV IZBRANIH ALERGENOV FEL D 1 IN ARA H 2

Mentorica: izr. prof. dr. Mojca Lunder

Somentor: izr. prof. dr. Peter Korošec

Jernej Luzar je v svoji doktorski nalogi razvijal nove pristope za specifično imunoterapijo alergij. Specifična imunoterapija z alergeni je sicer učinkovit vzročni način zdravljenja, vendar

njeno uporabo pri nekaterih alergijah omejuje tveganje za anafilaktične reakcije. Jernej Luzar je zato svoje raziskave usmeril v iskanje ustreznih fragmentov alergenov z zmanjšano ali odsotno alergogenostjo. Identificiral je peptidne mimetike epitopov najpomembnejšega alergena pri alergiji za mačko in alergiji za arašide. Z računalniškim prileganjem je določil najverjetnejše mesto na alergenu, ki ga mimotopi posnemajo. Pokazal je, da mimotopi ohranijo afiniteto do IgE iz serumov alergičnih pacientov, vendar ne aktivirajo njihovih efektorskih celic in posledično ne sprožijo izločanja mediatorjev alergijskih reakcij oziroma niso alergogeni. Mimotope je nato s pomočjo tehnologije rekombinantne DNA izrazil na površini imunogenih nosilcev, ki bi omogočili sublingvalno dostavo, spodbudili ustrezen imunski odziv in omogočili razvoj imunske tolerance na alergen. Kot imunogeni nosilec za mimotope mačjega alergena je uporabil nitaste bakteriofage in za mimotope alergena iz arašidov mlečnokislinske bakterije. Pokazal je, da imunogeni nosilci z izraženimi mimotopi spodbudijo T celični imunski odziv, usmerjen v tip 1.

Rezultati njegovega dela pomembno prispevajo k razvoju pripravkov za varno in učinkovito zdravljenje alergij.

---

**Alja Plošnik, univ. dipl. kem. tehnol.**

## ENDOKRINE IN GENOTOKSIČNE LASTNOSTI SESTAVIN KOZMETIČNIH IZDELKOV IZ PODATKOVNE BAZE COSING Z METODAMI IN SILICO IN LUCIFERAZNIMI REPORTERSKIMI TESTI

Mentor: doc. dr. Marjan Vračko Grobelšek  
Somentorica: prof. dr. Marija Sollner Dolenc

V svoji disertaciji je Alja Plošnik obravnavala kemikalije, ki jih uporabljamo v kozmetični industriji in ki jih na evropskem trgu ureja Evropska kemijska uredba REACH in Evropska kozmetična uredba. Ti uredbi predpisujeta tudi oceno njihovih fizikalno-kemijskih, ekotoksikoloških in toksikoloških lastnosti. Kandidatka je izbrala iz baze kozmetičnih sestavin CosIng nabor spojin, za katere je določila genotoksične in endokrine lastnosti z metodami *in silico* in *in vitro*. V delu je združila tri sklope raziskav: modeliranje QSAR, kjer je uporabila programski paket CAESAR; molekulsko

sidranje na jedrne receptorje, kjer je uporabila program DISRUPTOME, in teste *in vitro*, ki jih je izvedla na dveh celičnih linijah, ki izražata tri receptorje: MDA-kb2 za androgene in glukokortikoidni receptor in GH3.TRE-Luc za tiroidni receptor.

Doktorandka je z uporabo omenjenih metod predstavila hiter in učinkovit sistem za presejevanje nizov spojin glede na izbrane toksikološke lastnosti. Takšna obravnava velikih nizov spojin igra pomembno vlogo v zakonski regulaciji kemikalij. Disertacija pa je tudi prispevek k bazični znanosti, saj je obravnavala toksikološke učinke vzdolž celotne toksikološke poti, to je od učinkov na molekulski in celični ravni (sidranje in testi *in vitro*) do učinkov na organizmi in populaciji (modeli QSAR). Disertacija opisuje dokaze, ki kažejo na povezavo med vezavo na jedrne receptorje, mutagenostjo, kancerogenostjo in razvojno toksičnostjo. Iz svoje doktorske disertacije je Alja Plošnik objavila tri članke v uglednih mednarodnih revijah, eden pa je poslan v objavo.

---

**Osama Fathy Abdelwahab Mohamed Aly Mousa, mag. med. biokem.**

## VLOGA PROTEINOV KLOTHO IN CYR61 PRI ZGODNJEM ODKRIVANJU AKUTNE POŠKODBE LEDVIC PO OPERACIJI SRCA

Mentor: izr. prof. dr. Milan Skitek  
Somentor: doc. dr. Aleš Jerin

Osama Mousa je na osnovi podatkov iz literature oblikoval hipotezi o novih označevalcih pri zgodnji diagnostiki akutne ledvične poškodbe. Raziskoval je možne korelacije med ravnimi proteina Klotho in proteina 61 (CYR61), bogatega s cisteinom, v serumu ter zgodnjim napovedovanjem akutne ledvične okvare pri hospitaliziranih bolnikih po operaciji srca s kardiopulmonalnim obvodom.

Doktorand je v okviru disertacije razvil metode, podprte s tehnologijami, ki jih uspešno uporabljamo v podobnih raziskavah. Dokazal je, da lahko CYR61 v serumu uporabljamo kot prihodnje orodje za stratifikacijo in razvrščanje akutne ledvične okvare po stopnjah glede na resnost, da protein Klotho v serumu lahko odkrije bolnike z visokim tveganjem za resno akutno ledvično okvaro v prvih časovnih intervalih operacije srca s kardiopulmonalnim obvodom



(diagnostična moč proteina Klotho v serumu ni bila zadostna zaradi verjetnih vplivov starosti, oksidativnega stresa in ateroskleroze) in da je kombinacija proteina Klotho in kreatinina v serumu lahko uporabna za napoved odpovedi ledvic v daljšem časovnem obdobju po kardiopulmonalnem obvodu.

Disertacija predstavlja pomemben doprinos k znanosti na področju spoznavanja in pojasnjevanja dogajanja pri akutni ledvični poškodbi, zlasti po operacijah na srcu. Iz svoje doktorske disertacije je Osama Fathy Abdelwahab Mohamed Aly Mousa objavil dva članka v uglednih mednarodnih revijah, dva pa sta poslana v objavo.

**Barbara Zorec, mag. farm.**

## PROUČEVANJE FIZIKALNIH METOD IN DOSTAVNIH SISTEMOV ZA POVEČANJE DERMALNEGA VNOSA UČINKOVIN

Mentorica: doc. dr. Nataša Pavšelj

Somentorica: prof. dr. Julijana Kristl

Barbara Zorec je v svoji doktorski disertaciji proučevala povečanje dermalnega vnosa zdravilnih učinkovin. Zaradi zaščitne funkcije kože je pasivni prehod zdravilnih učinkovin preko kože v zadostnih količinah praktično nemogoč, zato v ta namen uporabljamo različne metode pospeševanja dermalnega in transdermalnega vnosa. Doktorsko delo je bilo osredotočeno na tri aktivne metode pospeševanja: elektroporacijo kože z uporabo kratkih visokonapetostnih električnih pulzov, kontrolirano mikroablacijo zunanjih plasti kože s frakcionalnim laserjem in sonoporacijo kože z nizkofrekvenčnim ultrazvokom, tem metodam pa je dodan pasivni pristop z enkapsulacijo učinkovine v različne tipe nanoveziklov.

V doktorski disertaciji je doktorandka s kombinacijo teoretičnega in eksperimentalnega pristopa prispevala pomembno znanje na področju mehanizmov delovanja omenjenih treh fizikalnih metod pospešitve dermalnega in transdermalnega vnosa. Z uporabo eksperimentalnega modela in protokolov, ki se približajo razmeram *in vivo*, je povečala relevantnost svojega raziskovalnega dela. Znanje, pridobljeno na omenjenem področju, predstavlja pomemben prispevek k znanosti in bo pripomoglo k nadaljnjemu razvoju novih načinov vnosa molekul v telo preko kože.

Svoje dosedanje delo je doktorandka objavila v sedmih izvornih znanstvenih člankih (od tega v štirih kot prva avtorica), enemu preglednemu članku in petih znanstvenih prispevkih na konferencah z mednarodno udeležbo.

**Ana Mitrović, mag. farm.**

## VLOGA CISTEINSKIH KATEPSINOV B IN X IN NJUNIH INHIBITORJEV PRI EPITELNO-MEZENHIMSKEM PREHODU TUMORSKIH CELIC

Mentor: prof. dr. Janko Kos

Ana Mitrović je v doktorskem delu raziskovala vlogo katepsinov B in X v epitelno-mezenhimskem prehodu tumorskih celic, procesu, ki poveča migracijsko zmogljivost in invazivnost tumorskih celic in njihovo odpornost na apoptozo. V ta namen je razvila različne celične modele in sledila izražanje in aktivnost katepsinov B in X ter vrednosti primerjala z epiteljskimi in mezenhimiškimi označevalci in celičnim fenotipom. Ovrednotila je tudi veliko število spojin, ki bi lahko bile potencialni zaviralci omenjenih katepsinov, ter preverila njihovo delovanje na *in vitro* in *in vivo* modelih tumorske migracije, invazije, angiogeneze in metastaziranja, procesov, ki so povezani z epitelno mezenhimiškim prehodom. Dokazala je, da so večje koncentracije katepsinov B in X povezane z invazivnim mezenhimiškim celičnim fenotipom in spodbujajo epitelno mezenhimiški prehod. Nasprotno pa lahko obraten proces mezenhimiško-epitelnega prehoda sprožimo z njunim hkratnim utišanjem. Kot močnejši promotor epitelno mezenhimiškega prehoda se je izmed obeh katepsinov izkazal katepsin B, katerega izražanje je odvisno od transformirajočega rastnega dejavnika  $\beta 1$ , čigar signalna pot je ključna za sprožitev epitelno mezenhimiškega prehoda pri raku. Izmed velikega števila testiranih zaviralcev katepsina B, ki lahko preprečijo epitelno-mezenhimiški prehod, se je kot primeren izkazal že znani antibiotik nitroksolin, še boljše farmakološke lastnosti in protitumorno delovanje pa so izkazovali nekateri njegovi derivati. Kot učinkovit inhibitor katepsina B je identificirala tudi kompleks kliokinola z rutenijem.

Ana Mitrović je rezultate doktorskega dela do sedaj objavila v sedmih znanstvenih člankih v uglednih revijah z dejavnikom vpliva in jih predstavila na mednarodnih konferencah.

Damijan Knez, mag. farm.

## NAČRTOVANJE, SINTEZA IN VREDNOTENJE POTENCIALNIH UČINKOVIN ZA ZDRAVLJENJE ALZHEIMERJEVE BOLEZNI Z MULTIPLIM MEHANIZMOM DELOVANJA

Mentor: prof. dr. Stanislav Gobec

Alzheimerjeva bolezen je napredujoča motnja centralnega živčnega sistema, ki vodi v propad nevronov v specifičnih predelih možganov, posledično izgubo spomina ter motnje drugih kognitivnih funkcij. Kompleksna patofiziologija bolezni, v kateri so udeleženi številni patološki procesi, nakazuje, da je za uspešno zdravljenje te bolezni potrebno ciljati na več tarč hkrati. Encim butirilholin-esteraza predstavlja eno izmed atraktivnih tarč za lajšanje simptomov Alzheimerjeve bolezni v njenih poznih stadijih. V svoji disertaciji je Damijan Knez na osnovi strukture selektivnih zaviralcev butirilholin-esteraze načrtoval, sintetiziral in biokemijsko ovrednotil spojine, ki zavirajo ta encim, poleg tega pa imajo še dodatne učinke, pomembne za terapijo Alzheimerjeve bolezni. V prvi seriji multifunkcionalnih spojin na osnovi nitroksolina je tako pripravili derivat, ki selektivno kelira Cu(II) ione in preprečuje agregacijo amiloida  $\beta$  do toksičnih fibrilov. Na osnovi znanega pikomolarnega zaviralca butirilholin-esteraze, razvitega na Fakulteti za farmacijo Univerze v Ljubljani, je nadalje sintetiziral dva derivata 8-hidroksikinolina, ki poleg kelacije dvovalentnih ionov, udeleženih pri Alzheimerjevi bolezni, delujeta antioksidativno, nevroprotektivno pred toksičnimi oblikami amiloida  $\beta$ , preprečita redoks aktivnost keliranih bakrovih ionov in znižata znotrajcelični nivo reaktivnih kisikovih zvrsti. V svoji disertaciji je doktorand razvil tudi serijo dualnih zaviralcev butirilholin-esteraze in monoamin-oksidge B. Kot najboljši se je izkazal derivat N-propargilpiperidina, ki v nizkem mikromolarnem območju zavira oba encima, *in vitro* prehaja krvno možgansko pregrado in deluje nevroprotektivno pred toksičnim amiloidom  $\beta$ .

Iz svojega dosedanjega raziskovalnega dela je Damijan Knez v soavtorstvu objavil 17 izvirnih znanstvenih člankov in en pregledni članek, vse v uglednih mednarodnih revijah z dejavnikom vpliva, dva članka pa sta poslana v objavo.

Alenka Premuš Marušič, mag. farm.

## POJAVNOST PLJUČNE EMBOLIJE IN GLOBOKE VENSKE TROMBOZE V POVEZAVI S FARMAKOTERAPIJO HOSPITALIZIRANIH KIRURŠKIH BOLNIKOV V POMURJU

Mentor: prof. dr. Aleš Mrhar

Somentor: prof. dr. Danijel Petrovič

Alenka Premuš Marušič je v svoji doktorski disertaciji predstavila prikaz obvladovanja venske tromboze pri izbranih bolnikih. Doktorandka je pokazala, da lahko po trenutno veljavnih smernicah kirurške bolnike razvrstimo v ustrezne razrede tveganja za pojav venske tromboze s pomočjo Caprinijevega modela. Pri vsakem bolniku glede na dejavnike tveganja določimo, kakšna je za bolnika ustrezna tromboprofilaksa. Ključna kandidatkinja ugotovitev je, da je v kontrolni skupini terapijo za preprečevanje venske tromboze v skladu s smernicami prejelo 77 % bolnikov, medtem ko je ta delež v testni skupini znašal le 56 %. Verjetnost za pojav venske tromboze je značilno večja, če preventivna antikoagulantna terapija z zdravili za preprečevanje venske tromboze ni v skladu s smernicami.

Zdravljenje s koncentriranimi eritrociti je bilo povezano z večjim tveganjem za pojav pljučne embolije pri kirurških bolnikih, ne pa tudi pri bolnikih globoko vensko trombozo. Zato bi bilo potrebno bolnike, ki med zdravljenjem prejmejo koncentrirane eritrocite, bolj previdno spremljati v pooperativnem obdobju.

Polifarmakoterapija pri kirurških bolnikih je povezana z večjo verjetnostjo za nastanek venske tromboze, večja verjetnost za dogodke venske tromboze pa je prisotna predvsem pri bolnikih z interakcijami tipa X med zdravili v njihovi farmakoterapiji. Povezava med večjo pojavnostjo venske tromboze pri kirurških bolnikih ob uporabi nekaterih zdravil ni bila statistično značilno dokazana, povezava med hiponatriemijo, trombocitopenijo ali trombocitozo in pooperativno pojavnostjo venske tromboze pa je pri hiponatriemiji nakazana.

Predložena disertacija z metodološkimi pristopi in dobljenimi rezultati predstavlja pomemben izvorni prispevek k



znanosti na področju trombotične profilakse in zdravljenja z zdravili pri hospitaliziranih kirurških bolnikih. Poseben prispevek predstavlja ugotovitev, da sta polifarmakoterapija in zdravljenje s koncentriranimi eritrociti pomembna dejavnika, ki bi ju morali vključiti v Caprinijev model in ovrednotiti vsaj z eno točko.

**Samo Lešnik, mag. farm.**

## RAZVOJ RAČUNALNIŠKE BAZE BIOIZOSTERNIH ZAMENJAV IN PROGRAMA ZA VIRTUALNO REŠETANJE NA OSNOVI LIGANDA

Mentor: doc. dr. Janez Konc

Somentor: prof. dr. Stanislav Gobec

V svoji disertaciji je Samo Lešnik razvil novo bazo, program in spletni strežnik za virtualno reševanje na osnovi liganda, ki omogočajo prepoznavo podobnosti med molekulami na osnovi bioizosternih zamenjav. Razvil je bazo bioizosternih zamenjav, tako da je prilegal vsako vezavno mesto na vsakem proteinu iz proteinske baze PDB z vsemi drugimi vezavnimi mesti. Kokristalizirane ligande v prileganih vezavnih mestih je nato fragmentiral in izmeril stopnje prileganja med vsemi pari fragmentov. Predpostavil je, da so fragmenti, ki so prostorsko dovolj blizu v prileganih vezavnih mestih proteinov, bioizosterno zamenljivi.

Razvil je program za virtualno reševanje na osnovi liganda, ki je bil uspešno eksperimentalno validiran na primeru inhibitorjev butirilholin-esteraze. Program je v bazi več milijonov malih molekul prepoznal aktivne, a skeletno raznolike spojine. Nekaj od teh je tudi boljše aktivnih kot izhodiščna aktivna molekula. Razvil je tudi spletni strežnik, ki omogoča hitro in preprosto iskanje bioizosternih zamenjav.

Rezultati doktorandovega dela so izviren znanstveni prispevek na področju farmacije in bodo prispevali k hitremu iskanju novih, skeletno različnih zdravilnih učinkovin. Programe, ki jih je razvil Samo Lešnik, so že večkrat uporabili tudi tuji avtorji, saj omogočajo uspešen, učinkovit in z eksperimenti podprt razvoj novih kandidatov za zdravilne učinkovine.

Iz svoje doktorske disertacije je Samo Lešnik objavil deset člankov v uglednih mednarodnih revijah, od tega je pri petih člankih prvi avtor.

**Snežana Marković, univ. dipl. kem.**

## UPORABA NIR SPEKTROSKOPIJE ZA ŠTUDIJO KLJUČNIH FIZIKALNO-KEMIJSKIH PARAMETROV NEKATERIH FARMACEVTSKIH OBLIK

Mentor: prof. dr. Janez Kerč

Doktorska disertacija Snežane Marković je osredotočena na področje raziskav s pomočjo NIR-spektroskopije v laboratoriju (*off-line*) in med tehnološkim procesom (*in-line*). Glavni cilji disertacije so bili proučiti informacije, skrite v NIR-spektrih, in razširiti uporabo te spektroskopske metode pri raziskovanju procesnih mehanizmov in lastnosti farmacevtskih oblik med razvojem in proizvodnjo farmacevtskih oblik in določanju fizikalno-kemijskih parametrov, ki so povezani z različnimi mehanizmi sproščanja zdravilne učinkovine iz proučevanih farmacevtskih oblik (pelete s prirejenim sproščanjem in obložene tablete s prirejenim sproščanjem), ter interakcij zdravilne učinkovine s pomožnimi snovmi v liofilizatu.

Doktorandka je v disertaciji potrdila postavljeni hipotezi in dokazala, da lahko z NIR-metodami kvalitativno in kvantitativno ugotavljamo ključne parametre polizdelkov in končnih izdelkov. Ugotovila je, da so značilnosti gastrorezistentne obloge, kot sta debelina in sestava obloge, kritični parametri za zagotavljanje kakovosti in funkcionalnosti farmacevtskega izdelka. Z novo inovativno tehniko interprocesne NIR-metode z medprocesnim vzorčenjem je dosegla enako dobre rezultate kot z zelo obsežno multivariantno analizo statistične kontrole procesa (MSPC). Prav tako je z NIR-metodo uspešno dokazala ter kvalitativno in kvantitativno analizirala medmolekularno estrsko vez med zdravilno učinkovino in manitolom v strukturi liofilizirane pogače, kar z drugimi metodami ni bilo možno.

Doktorska disertacija predstavlja izvirne prispevke k znanosti, od katerih so bile nekatere že objavljene v mednarodnih znanstvenih revijah z dejavnikom vpliva. Njeno delo in rezultati bodo bistveno prispevali k izboljšanju razumevanja lastnosti in mehanizmov izbranih tehnoloških procesov za izdelavo proučevanih, pa tudi drugih farmacevtskih oblik.



Mateja Lumpert, mag. farm., univ. dipl. mikrobiol.

## ETNOFARMAKOLOŠKE RAZISKAVE UPORABE RASTLIN IN GLIV NA OBMOČJU KRASA IN DOLENJSKE S PRIMERI FITOKEMIJSKE KARAKTERIZACIJE

Mentor: prof. dr. Samo Krefc

Somentorica: doc. dr. Nina Kočever Glavač

Mateja Lumpert je v okviru svojega doktorata raziskovala ljudsko uporabo zdravilnih rastlin v Sloveniji. Pri tem je kombinirala metodo terenskih intervjujev, nabiranje rastlin in laboratorijske analize. Njeno delo je obsegalo tri sklope, ki so objavljeni vsak v svojem znanstvenem članku.

V prvem sklopu je primerjala uporabo zdravilnih rastlin na Krasu in pod Gorjanci. Evidentirala je uporabo 94 vrst rastlin in pri vsaki tudi enega ali več načinov in namenov uporabe. Ugotovila je, da ljudje kljub različnim klimatskim in kulturno-zgodovinskim okoliščinam uporabljajo zelo podobno nabor rastlin. Zelo pogosto uporabljane rastline (bezeg, šipek, kamilica, žajbelj in rman) uporabljajo približno enako pogosto v obeh regijah. Razlike so samo pri redkeje uporabljenih rastlinah, kot sta šetraj in komarček, katerih uporabo je na Krasu navedla približno polovica sogovornikov, na Gorjancih pa nihče. Pri pljučniku je situacija obratna, doktorandka je ugotovila nekaj uporabe na Gorjancih, medtem ko ga na Krasu niso uporabljali. Več razlik je ugotovila pri namenu uporabe, npr. kamilico so na območju Gorjancev uporabljali za zdravljenje okužb dihal, boleznih prebavil in vnetja oči, na Krasu pa kot pomirjevalo.

V drugem delu doktorata je Mateja Lumpert raziskovala uporabo rdeče mušnice za lovljenje muh. Tako na Krasu kot na Gorjancih so to gobo poznali skoraj vsi informanti. Toda na Krasu so od 25 informantov le trije, ki so bili po rodu iz drugih delov Slovenije, vedeli za njeno uporabo za lovljenje muh. Na Gorjancih je 13 informantov od 25 opisalo to uporabo. Skupno je kandidatka zabeležila devet različnih metod priprave rdeče mušnice, ki so se razlikovali po tem, ali in koliko so mušnico zdrobili, ali so jo kuhali ter ali so jo pripravili z mlekom ali z vodo. V laboratorijski raziskavi je ugotovila, da količina sproščenih ibotenske kisline in muscimola, ki sta glavni učinkovini v mušnici, s časom na-

rašča. Sproščanje ni bilo odvisno od topila, pa vendar so ljudje večkrat uporabljali mleko kot vodo. Dodatna toplotna in mehanska obdelava sta pospešili sproščanje učinkovin. V tretjem delu doktorata je Mateja Lumpert potrdila obstoj redke tradicije uporabe strupene rastline preobjede (*Aconitum napellus*) v zdravilne namene na Solčavskem. Tinkture korenin so uporabljali peroralno proti vročini, bolečinam, kašlju in za splošno stimulacijo telesa. Z laboratorijsko analizo je doktorandka dokazala vsebnost akonitina v ekstraktih, dobljenih pri informantih.

Ana Krese, mag. farm.

## VPLIV HIDRODINAMSKO- MEHANSKIH DOGODKOV IN SESTAVIN HRANE NA SPROŠČANJE UČINKOVINE IZ OGRODNIH TABLET

Mentorica: prof. dr. Marija Bogataj

Farmacevtske oblike (tablete) so po peroralni aplikaciji izpostavljene širokemu spektru različnih pogojev, od katerih je močno odvisno sproščanje zdravilne učinkovine, pa tudi njena absorpcija in v končni fazi terapevtski učinek. Kako se bo učinkovina sproščala iz farmacevtske oblike, je odvisno od same oblike, od njene sestave in od pogojev na mestu sproščanja. V okviru svoje naloge je doktorandka najprej določila pogoje v napravi za testiranje sproščanja, razviti na Fakulteti za farmacijo Univerze v Ljubljani, v katerih se hitrost gibanja tablete in frekvenca spreminjanja njene hitrosti približata parametrom *in vivo* gibanja tablete. Sledila je opredelitev izbrane farmacevtske oblike, tablet s hidrok-sipropilmetilcelulozo, z vidika vrste polimera in ionske moči medija ter prisotnosti sladkorjev in pektina, kot komponent hrane, v medijih. Poleg sproščanja je spremljala tudi nabrekanje tablet in sodelovala pri uvedbi nove metode s kamerami. V tretjem segmentu naloge je smiselno povezala prva dva: mehanske vplive in vplive sestave medija na sproščanje iz ogrodnih tablet. Testiranje sproščanja v dveh sistemih z različnimi mehanskimi obremenitvami oblike je pokazalo večjo mehansko občutljivost hidrok-sipropilmetilceluloznih ogrodij v medijih z večjimi koncentracijami topljenec.

Dobljene rezultate je Ana Krese objavila v dveh znanstvenih člankih v revijah z dejavnikom vpliva.



Marko Krošelj, mag. farm.

## NAČRTOVANJE, SINTEZA IN VREDNOTENJE RADIOOZNAČENIH LIGANDOV ZA SOMATOSTATINSKE IN HOLECISTOKININSKI-2 RECEPTOR

Mentorica: doc. dr. Tanja Gmeiner

Somentorica: prof. dr. Irena Mlinarič-Raščan

V svoji disertaciji je Marko Krošelj načrtoval, sintetiziral in ovrednotil nove radiooznačene analoge minigastrina, pomembne za razvoj varnejše in učinkovitejše terapije bolnikov z rakom, ter uspešno sintetiziral hibridno molekulo, ki združuje minigastrinski in somatostatinski del in je potencialno sposobna vezave na različne tipe receptorjev, ki so izraženi na neuroendokrinih tumorjih. Novi analogi izkazujejo izboljšano serumsko stabilnost *in vitro* ter izboljšano razmerje kopičenja v tumorju in ledvici na živalskem modelu *in vivo*, kar je pomembno s stališča izboljšanja varnostnega profila radiofarmaka in njegove učinkovitosti.

Iz svoje doktorske disertacije je doktorand v uglednih mednarodnih revijah objavil pet člankov, ki celovito pokrivajo problematiko razvoja radiofarmaka – od načrtovanja in vrednotenja radiooznačenih ligandov ter avtomatizirane priprave radiofarmakov do vpliva geometrije virov sevanja pri izvajanju meritev radioaktivnosti pri pripravi in odmerjanju radiofarmakov.

Rezultati raziskav so na predkliničnem nivoju pokazali, da so novi radiooznačeni analogi minigastrina, ki jih je Marko Krošelj razvil v okviru disertacije, potencialno varnejši in učinkovitejši od analogov, ki so v fazi kliničnega preskušanja za uporabo pri obravnavi bolnikov z medularnim rakom ščitnice. Primerni so za označevanje z različnimi radioaktivnimi izotopi, ki so v uporabi v diagnostične ali terapevtske namene, kar omogoča t. i. teranostični pristop obravnave onkoloških bolnikov. Uspešno razvita metoda za avtomatizirano radiooznačevanje minigastrinskih analogov omogoča nižjo sevalno obremenitev osebja in omogoča hitrejšo oziroma lažjo translacijo novih izsledkov v klinično prakso in personaliziran pristop pri obravnavi bolnikov.

Izvirni rezultati in zaključki so osnova in pomemben prispevek v razvoju multireceptorskega pristopa prikazovanja in ciljne terapije neuroendokrinih tumorjev in medularnega karcinoma ščitnice.