

**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 se v ta namen uporabljajo različne metode pospeševanja dermalnega in transdermalnega vnosa. Doktorsko delo je 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 nadaljnemu razvoju novih načinov vnosa molekul v telo preko kože.

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

**Samo Lešnik, mag. farm.**

## **Razvoj računalniške baze bioizosternih zamenjav in programa za virtualno reševanje na osnovi liganda**

Mentor: doc. dr. Janez Konc

Somentor: prof. dr. Stanislav Gobec

V svoji disertaciji je dr. 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 butirilholinesteraze. 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 dela dr. Sama Lešnika so izviren znanstveni prispevek na področju farmacije in bodo prispevali k hitremu iskanju novih, skeletno različnih zdravilnih učinkovin. Programi, ki jih je razvil dr. Samo Lešnik, so bili že večkrat uporabljeni s strani tujih avtorjev, saj omogočajo uspešen, učinkovit, in z eksperimenti podprt razvoj novih kandidatov za zdravilne učinkovine.

Iz svoje doktorske disertacije je dr. Samo Lešnik objavil 10 člankov v uglednih mednarodnih revijah, od tega je pri petih člankih prvi avtor.

**Ana Mitrović, mag. farm.**

## **Vloga cisteinskih katepsinov B in X in njihovih 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 epitelijскими in mezenhimskimi označevalci in celičnim fenotipom. Ovrednotila je tudi veliko število spojin, ki bi lahko bile potencialni zaviralci omenjenih katepsinov in preverila je njihovo delovanje na in vitro in in vivo modelih tumorske migracije, invazije, angiogeneze in metastaziranja, procesov, ki so povezani z epitelno mezenhimskim prehodom. Dokazala je, da so višje koncentracije katepsinov B in X povezane z invazivnim mezenhimskim celičnim fenotipom in spodbujajo epitelno mezenhimski prehod. Nasprotno pa lahko obraten proces

mezenhimsko-epitelnega prehoda sprožimo z njunim hkratnim utišanjem. Kot močnejši promotor epitelno mezenhimskega 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 mezenhimskega prehoda pri raku. Izmed velikega števila testiranih zaviralcev katepsina B, ki lahko preprečijo epitelno mezenhimski prehod, se je kot primeren izkazal že znan 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 (AB) je napredujoča motnja centralnega živčnega sistema, ki vodi v propad nevronov v specifičnih predelih možganov, posledično izgubo spomina ter motenj drugih kognitivnih funkcij. Kompleksna patofiziologija bolezni, v kateri so udeleženi številni patološki procesi, namiguje, da je za uspešno zdravljenje te bolezni potrebno ciljati 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 AB. 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, je nadalje sintetiziral dva derivata 8-hidroksikinolina, ki poleg kelacije dvovalentnih ionov, udeleženih pri Alzheimerjevi bolezni, delujejta antioksidativno, nevroprotektivno pred toksičnimi oblikami amiloida  $\beta$ , preprečita redoks aktivnost keliranih bakrovih ionov in znižata znotrajcelični nivo reaktivnih kisikovih zvrsti. V svoji disertaciji je Damijan Knez razvil tudi serijo dualnih zaviralcev butirilholin esteraze in

monoamin oksidaze 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 (IF), dva članka pa sta poslana v objavo.

**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 UL FFA, 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 hidrokispropil metilcelulozo, 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 pa 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 hidrokispropil metilceluloznih ogrodij v medijih z višjimi koncentracijami topljencev.

Dobljene rezultate je Ana Krese, objavila v dveh znanstvenih člankih v revijah s faktorjem vpliva.

**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

Doktorandka je v svoji doktorski disertaciji predstavila prikaz obvladovanja venske tromboze pri izbranih bolnikih.

Doktorandka je pokazala, da se po trenutno veljavnih smernicah kirurške bolnike s pomočjo Caprini modela lahko razvrsti v ustrezne razrede tveganja za pojav venske tromboze. Pri vsakem bolniku se glede na dejavnike tveganja tako določi, kakšna je za bolnika ustrezna tromboprofilaksa. Ključna kandidatkinina 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.

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

Zadnja ugotovitev, polifarmakoterapija pri kirurških bolnikih je povezana z večjo verjetnostjo za nastanek venske tromboze, večja verjetnost za dogodke venske tromboze pa je nakazana 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 originalni prispevek k znanosti na področju tromboprofilakse in zdravljenja z zdravili pri hospitaliziranih kirurških bolnikih. Poseben prispevek predstavlja ugotovitev, da sta polifarmakoterapija in zdravljenje s koncentriranimi eritrociti pomembna dejavnika, ki bi morala biti vključena v Caprini model in ovrednotena vsaj z eno točko.

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

**Uporaba NIR spektroskopije za študij ključnih fizikalno-kemijskih parametrov nekaterih farmacevtskih oblik**

Mentor: prof. dr. Janez Kerč

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

Doktorandka je v disertaciji je uspela potrditi postavljeni hipotezi in dokazala, da lahko z NIR metodami kvalitativno in kvantitativno določujemo ključne parametre polizdelkov in končnih izdelkov in ugotovila, da so karakteristike gastrozistentne obloge, kot so debelina in sestava obloge, kritični parametri za zagotavljanje kakovosti in funkcionalnosti farmacevtskega izdelka. Z novo razvito 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 tudi že objavljene v mednarodnih znanstvenih revijah s faktorjem 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 Kreft

Somentorica: doc. dr. Nina Kočevar 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 zdravnih 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 kljub različnim klimatskim in kulturno zgodovinskim okoliščinam uporabljajo zelo podoben nabor rastlin. Rastline, ki se zelo pogosto uporabljajo (bezeg, šipek, kamilica, žajbelj in rman) se približno enako pogosto uporabljajo v obeh regijah. Razlike so samo pri redkeje uporabljenih rastlinah, npr. šetraj in komarček, je na Krasu navedla približno polovica sogovornikov, na Gorjancih pa nihče. Pri pljučniku pa je bila situacija obratna, z nekaj uporabe na Gorjancih in brez nje na Krasu. Več razlik je ugotovila pri namenu uporabe, npr. kamilico so na območju Gorjancev uporabljali za zdravljenje okužb dihal, bolezni 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. Vendar so na Krasu od 25ih informantov, le trije, ki so bile po rodu iz drugih delov Slovenije, vedeli za njeno uporabo za lovljenje muh. Na Gorjancih pa je 13 informantov od 25ih 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 s časom narašča količina sproščene ibotenske kisline in muscimola, ki sta glavni aktivni snovi v mušnici. Sproščanje pa 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 bil na Solčavskem potrjen obstoj redke tradicije uporabe strupene rastline preobjede v zdravilne namene. Z laboratorijsko analizo pa dokazana vsebnost akonitina v ekstraktih dobljenih pri informantih. Tinkturo korenin so uporabljali peroralno proti vročini, bolečinam, kašlju in za celo splošno stimulacijo telesa.

**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 Marko Krošelj v uglednih mednarodnih revijah objavil 5 člankov, ki celovito pokrivajo problematiko razvoja radiofarmaka - od načrtovanja in vrednotenja radiooznačenih ligandov, 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 ciljane terapije neuroendokrinih tumorjev in medularnega karcinoma ščitnice.