

dr. SEBASTJAN REVEN, mag. farm.

**DENDRITSKI POLIMERNI NOSILCI ZA IZBOLJŠANJE VODOTOPNOSTI
TEŽKO TOPNIH ZDRAVILNIH UČINKOVIN**

Mentorica: prof. dr. Julijana Kristl, mag. farm.
Somentorica: znan. sod. dr. Ema Žagar, univ. dipl. kem.

Disertacija dr. Sebastjana Revena sodi na področje farmacevtskih znanosti. Cilj raziskav je bil načrtovanje, priprava in vrednotenje dostavnih sistemov, katerih novost so visoko razvejani polimeri s težko topno zdravilno učinkovino glimepirid, z namenom povečevanja vodotopnosti in hitrosti raztapljanja. Visoko razvejani polimeri in dendrimeri sodijo v isto skupino polimerov z gosto razvejano strukturo in velikim številom reaktivnih skupin. Nova molekularna struktura je zanimiva, vendar doslej malo raziskana, tako z vidika sintez, lastnosti kot koristnosti. Posebnost predstavlja njihovo ne-Newtonovo razmerje med viskoznostjo in molekulsko maso, kjer kažejo visoko razvejani in dendritični polimeri nizko viskoznost pri visoki molekulski masi, kar je v nasprotju z linearnimi polimeri. Dr. Reven je prvi pri nas raziskoval visoko razvejane polimere.

V celoti je uspel raziskati in potrditi tri hipoteze, ki jih je navedel v predlogu teme:

- znatno povečanje vodotopnosti in hitrosti raztapljanja glimepirida z visoko razvejanimi polimeri v primerjavi z linearnim polimerom ali s samo učinkovino, ne glede na njeno fizikalno stanje–kristalno ali amorfno,
- vzrok povečanja vodotopnosti so šibke interakcije med učinkovino in visoko razvejanim polimerom s številnimi funkcionalnimi skupinami,
- možno je vgraditi trdne disperzije glimepirida in visoko razvejenega poliesteramidnega polimera v tablete z direktnim stiskanjem ter jih z oblaganjem tudi stabilizirati.

Dr. Reven je med študijem razvil kompetence kot so samostojnost, kreativnost, vztrajnost in delavnost, ki mu omogočajo uspešno načrtovanje in izvajanje raziskovalnih nalog tudi v kompleksnih situacijah. Objavil je 5 člankov, 4 v revijah s faktorjem vpliva, predstavil raziskovalno delo na številnih mednarodnih konferencah, in pripravil 9 patentnih prijav, 3 patenti so že podeljeni. Zaposlen je v Leku.

dr. IZIDOR SOSIČ, mag. farm.

**STRUKTURNO PODPRTO NAČRTOVANJE IN SINTEZA ENCIMSKIH
INHIBITORJEV S POTENCIALNIM PROTIBAKTERIJSKIM IN PROTITUMORNIM
DELOVANJEM**

Mentor: prof. dr. Stanislav Gobec, mag. farm.

Pojav multi-rezistentnih bakterijskih sevov predstavlja pri zdravljenju infekcij vedno večji problem. Zaradi mehanizmov rezistence se razvoj protibakterijskih učinkovin usmerja na nove tarče ter na razvoj spojin z novim mehanizmom delovanja. Encimi, ki so udeleženi pri biosintezi bakterijskega peptidoglikana, predstavljajo pomembne in neizkoriščene tarče za razvoj novih učinkovin. Tako se je v prvem sklopu doktorskega dela doktorant osredotočil na ligazi MurD in MurF, ki sodelujeta pri sintezi citoplazemskih prekurzorjev peptidoglikana, ter na penicilin vezoče proteine (PBP), ki zunaj celice s premreženjem zaključijo biosintezo peptidoglikana. Pomembno je sodeloval pri razvoju inhibitorjev teh encimov. Najpomembnejši je bil njegov prispevek k razvoju druge generacije sulfonamidnih inhibitorjev MurD, ki imajo vgrajene rigidizirane mimetike D-glutaminske kisline. S tem mu je uspelo izboljšati inhibitorno aktivnost spojin, saj je najboljša spojina izkazovala inhibicijo

MurD z IC_{50} vrednostjo 8.4 μ M. Sinteza te serije inhibitorjev MurD je omogočila pridobitev nove kristalne strukture encima v kompleksu z inhibitorjem ter NMR študijo načina vezave rigidiziranih inhibitorjev. S predstavljenimi rezultati je dr. Sosič postavili dobre smernice za nadaljnje načrtovanje in razvoj izboljšanih inhibitorjev ligaze MurD.

Pomembno zdravstveno problematiko predstavljajo tudi rakava obolenja, saj se zaradi daljšanja življenjske dobe in naraščanja števila prebivalstva število obolelih vztrajno povečuje. Pomembno vlogo pri proteolitičnih procesih, ki vodijo v invazijo in zasevanje tumorskih celic, imajo tudi katepsini, predvsem katepsin B. V drugem delu disertacije se je doktorand posvetili iskanju inhibitorjev tega encima. Na osnovi kristalne strukture kompleksa 8-hidroksikinolina (nitroksolina) s katepsinom B, je načrtoval in sintetiziral različne 7-aminometilirane, 8-alkiloksi- in 8-amino-substituirane 5-nitrokinolinske derivate ter spojine z naftalenskim obročem namesto kinolina. Tako je pripravil spojine z izboljšanim inhibitorynim delovanjem tako na ekso- kakor tudi na endopeptidazno aktivnost katepsina B. V zadnjem delu je sintetiziral še knjižnico 6-substituiranih 4-benziltio-1,3,5-triazin-2(1H)-onov. Z uporabo encimske kinetike smo ugotovili, da inhibirajo katepsin B kot delni mešani inhibitorji s K_i in K_i' vrednostmi med 2,5 in 46,7 μ M. Majhnost molekul ter možnost nadaljnjih strukturnih modifikacij pomenita, da te spojine predstavljajo solidno osnovo za načrtovanje inhibitorjev z močnejšo inhibicijo katepsina B kakor tudi inhibitorjev z izboljšanimi fizikalno-kemijskimi lastnostmi.

Nagel razvoj strukturne biologije, bioinformatike in računalniških metod je na različnih terapevtskih področjih v ospredje iskanja novih zdravilnih učinkovin postavil strukturno podprto načrtovanje. Dr. Izidor Sosič je z uporabo te metode uspešno razvil inhibitorje več različnih encimov s kar dveh terapevtskih področij. Svoje rezultate je do sedaj objavil v osmih znanstvenih člankih (v revijah z IF), šest člankov je še v pripravi. V soavtorstvu je vložil tudi dve mednarodni patentni prijavi.

dr. META KOKALJ, mag. farm.

IDENTIFIKACIJA RASTLINSKIH VRST S POMOČJO INFRARDEČE SPEKTROSKOPIJE

Mentor: prof. dr. Samo Kreft, mag. farm.

Meta Kokalj je v okviru doktorata reševala zanimiv izziv, kako s pomočjo IR spektroskopije ugotoviti vrsto rastline. V farmaciji npr. preverjamo, ali je rastlina, iz katere izdelujemo zdravilo res npr. šentjanževka in ne morda kakšna strupena rastlina. IR spekter izmerimo zelo hitro in poceni, v idealnem primeru v nekaj sekundah, brez uporabe topil ali drugih kemikalij. Doktorandka Meta Kokalj je raziskovala, kako izmed množice podatkov, ki so v IR spektru, izluščiti želene informacije.

V prvem delu raziskave je primerjala informativnost štirih tehnik, ki se med seboj razlikujejo po tem, ali IR svetloba prodira skozi rastlino ali se od nje odbije; ter po zdobljenosti rastline. Najboljše ločevanje med vrstami vrbovcev, ki se med seboj razlikujejo po dlačicah na površini lista, je dobila z ATR odbojno tehniko. Za ločevanje med vrstami krčnic, ki se razlikujejo po žlezah v notranjosti listov, pa se je bila najboljše presečna tehnika s tabletami uprašene rastline in KBr. V drugem delu je doktorandka raziskovala različne tehnike matematične obdelave spektra. Ugotovila je, da glajenje spektra, ki se pogosto uporabljajo pri identifikaciji kemijsko čistih snovi, ni primerno za identifikacijo rastlin. S t.im. Fourjerjevo in valjčno transformacijo spektrov, je ugotovila, da so informacije v podrobni strukturi rastlinskega spektra, zato glajenje zmanjša informativnost, odvajanje spektra pa informacije poudari. V zadnjem delu doktorske naloge je raziskovala statistične metode za identifikacijo

rastlin iz IR spektrov. Presenetljivo je ugotovila, da uspešnost multivariantnih metod izboljšamo, če spremenljivke predhodno selekcioniramo z univariantno metodo.

Dr. Mate Kokalj je tako z raziskavami rešila nekaj temeljnih teoretičnih problemov, prišla pa tudi do praktično uporabne metode.

dr. ŠPELA MAGISTER, univ. dipl. biokem.

REGULACIJA CISTEINSKIH PROTEAZ Z INHIBITORJEM CISTATINOM F V IMUNSKIH CELICAH

Mentor: prof. dr. Janko Kos, univ. dipl. kem.

Dr. Špela Magister je v doktorskem delu raziskovala vlogo cistatina F in njegovih tarčnih proteinov v nekaterih imunskih celicah. Pokazala je, da ta inhibitor cisteinskih proteaz lahko vpliva na delovanje integrinskega receptorja Mac-1 pri okužbi z bakterijo *Helicobacter pylori*. Delovanje tega receptorja je uravnavaano z katepsinom X, njegova povečana aktivnost pa vodi do supresije imunskega odgovora, nastanka kronične okužbe in neuspešnega zdravljenja. Vloga cistatina F je pomembna tudi pri zorenju dendritičnih celic. S kolokalizacijskimi študijami, encimsko kinetiko in modeliranjem kompleksov je pokazala, da je najverjetnejša funkcija cistatina F uravnavanje aktivnosti katepsina L v adherentnih zorečih dendritičnih celicah, kar omogoča celično adhezijo in posledično zorenje dendritičnih celic. Delovanje cistatina F je preučevala tudi v naravnih celicah ubijalkah. V teh celicah cistatin F lahko zavira delovanje katepsina C, pomembnega aktivatorja celične citotoksičnosti, vendar povezave cistatina F z izgubo citotoksične funkcije NK celic ni uspela dokazati. Dr. Špela Magister je rezultate doktorskega dela predstavila na večih mednarodnih konferencah in do sedaj objavila v treh člankih v revijah z dejavnikom vpliva.

dr. JANA DRAGOJEVIČ, mag. farm.

ADIPOGENEZA IN LIPOTOKSIČNOST V KOSTNEM TKIVU

Mentorica: prof. dr. Janja Marc, mag. farm., spec. med. biokem.

Obstaja vse več dokazov o interakciji med maščobnimi in kostnimi celicami. Komunicirajo lahko na sistemskem ali lokalnem nivoju v kostnem mozgu, kjer so te celice v neposrednem stiku. Poleg tega imajo osteoblasti in adipociti tudi istega predhodnika, to so mezenhimske matične celice. Zaradi obojega bi lahko pospešen razvoj adipocitov (adipogeneza) in/ali izločki zrelih adipocitov vplivali na kostno remodelacijo in zavirali sintezo kostnega tkiva. Z dokazanim vplivom adipocitov na kostno tkivo bi dobili vpogled v nov dodatni mehanizem za razvoj osteoporoze, saj je dokazano, da se s staranjem večja volumen maščobe ter manjša volumen trabekularne kostnine v kostnem tkivu. S svojim delom je kandidatka želela preveriti tri trditve:

- pri osteoporozi sta procesa osteoblastogeneze in adipogeneze recipročna, pri čemer ima pomembno vlogo transkripcijski kofaktor WWTR1, saj aktivira prepisovanje tarčnih genov RUNX2 in zavira prepisovanje tarčnih genov PPAR γ ,
- lipotoksičnost adipocitov je povezana s spremenjenim izražanjem gena za adiponektin ter genov za privzem in sproščanje prostih maščobnih kislin,
- genske spremembe v glavnem regulatornem proteinu za adipogenezo PPAR γ vplivajo na MKG in biokemijske kazalce kostne premene v serumu.

Na osnovi svojih rezultatov zaključila, da:

- sta v osteoporoznem kostnem tkivu procesa osteoblastogeneze in adipogeneze sicer nižja, a uravnotežena, ob tem pa sta bili po pričakovanju višji osteoklastogeneza in aktivnost osteoklastov. Izražanje WWTR1 ni bilo povezano s patogenezo osteoporoze in verjetno ne vpliva na kostno premeno,
- lipotoksičnost z merjenjem adiponektina in PMK se klinično ni izrazila s spremembami mineralne kostne gostote ali parametri μ CT,
- alel G polimorfizma v genu za PPAR γ je bil povezan z zmanjšanim tveganjem za osteoporozni zlom kolka, višjim serumskimi koncentracijami RANKL ter odzivnostjo na zdravljenje z alendronatom.

Na ta način je kandidatka prvo hipotezo ovrgla, drugo potrdila le delno, tretjo hipotezo pa potrdila v celoti. Opisani rezultati potrjujejo vpliv genetskih sprememb v razvoju adipocitov na razvoj osteoporoze. Doktorska disertacija je napisana v obliki poglavij s tremi znanstvenimi članki od kateri sta dva objavljena v revijah z dejavnikom vpliva SCI eden pa poslan v objavo. Rezultati in iz njih izvedeni zaključki doktorske disertacije dr. Jane Dragojevič so originalni in predstavljajo nov doprinos k znanosti na področju kostne biologije.

dr. DRAGANA LAKIĆ, mag. farm.

FARMAKOEKONOMSKO VREDNOTENJE BOLEZNI SRCA IN OŽILJA

Mentor: doc. dr. Mitja Kos, mag. farm.

Namen doktorskega dela dr. Dragane Lakić je bil farmakoekonomsko ovrednotenje srčnožilnih bolezni v Srbiji, natančneje: bremena bolezni za srčnožilne dogodke v Republiki Srbiji, napovedne moči in stroškovne učinkovitosti napovednih modelov za koronarno arterijsko bolezen iz kombinacije biomarkerjev, stroškovne učinkovitosti antihipertenzivov v Srbiji in vpliva diskontiranja pri farmakoekonomske raziskavah. Področje doktorata je Farmacija. Doktorandka je ugotovila, da skupni stroški, ki vključujejo neposredne ter posredne stroške srčnožilnih bolezni znašajo 514,3 milijonov EUR in predstavljajo cca 1,8% BDP v Srbiji. Večina stroškov je posledica neposrednih medicinskih stroškov, kot so: zdravila, bolnišnično oskrbni dan, diagnostične intervencije. Ocenjeno je bilo, da skupne stroške sestavlja samo četrtina posrednih stroškov, kar je v nasprotju s podobnimi raziskavami v razvitih državah. Rezultati analize stroškovne učinkovitosti multimarkerskega pristopa za napovedovanje koronarne arterijske bolezni kažejo, da so strategije, ki vključujejo kazalce oksidativnega stresa bolj stroškovni učinkoviti, kot strategije, ki vključujejo lipidne oz. vnetne markerje. Stroškovna učinkovitost antihipertenzivov je bila ovrednotena za osebe s povprečno starostjo 55 let. Strategija zdravljenja z diuretiki se pri tem kaže kot stroškovno učinkovita monoterapija za zdravljenje hipertenzije. V nasprotju z rezultati farmakoekonomske raziskave so v praksi preferirani precej dražji zaviralci ACE. Rezultati študije, ki je proučevala vplive vrednosti diskontne stopnje, kažejo na to, da ima vrednost diskontne stopnje precejšen vpliv na rezultate farmakoekonomske študij in odločitve za najbolj primerno farmakoterapijo v praksi. Raziskave so bile objavljene v treh člankih v revijah s faktorjem vpliva, en članek pa je še v postopku recenzije. Doktorska disertacija omogoča poznavanje in razumevanje ekonomskih vplivov, stroškov in stroškovne učinkovitosti antihipertenzivov oz. srčnožilnih bolezni na splošno z vidika plačnika ter družbe v Srbiji.

dr. SABINA DEVJAK NOVAK, mag. farm.

**PROUČEVANJE NEKATERIH S FUNKCIONALNOSTJO POVEZANIH
LASTNOSTI HIPROMELOZE KOT TVORILCA OGRODNIH TABLET**

Mentorica: izr. prof. dr. Saša Baumgartner, mag. farm.
Somentor: izr. prof. dr. Franc Vrečer, mag. farm.

Doktorska disertacija dr. Sabine Devjak Novak sodi na področje farmacevtske tehnologije. Glavni cilj naloge je bil iskanje novih s funkcionalnostjo povezanih lastnosti (FRC) hipromeloze ter ovrednotenje pomena obstoječih FRC na mehanizem in kinetiko sproščanja različnih zdravilnih učinkovin iz hidrofilnih ogrodnih tablet. Doktorandka je potrdila, da je posledica široko postavljenih farmakopejskih zahtev za navidezno viskoznost statistično signifikantno različno sproščanja modelne učinkovine iz hidrofilnih ogrodnih tablet, zato je nujno, da proizvajalci zdravil določijo ožje FRC meje že v fazi razvoja vsakega posameznega izdelka. V nadaljevanju je proučevala tudi reološke lastnosti hipromeloz, saj struktura gelske plasti, ki nastane na površini tablete med nabrekanjem, vpliva na sproščanje zdravilnih učinkovin. V doktorski nalogi je dokazala, da se vzorci hipromeloze, kljub enaki izmerjeni kapilarni in rotacijski viskoznosti, statistično signifikantno razlikujejo v nekaterih viskoelastičnih parametrih, zato je kot novo FRC lastnost predlagala z oscilacijsko reometrijo določeno točko prekrivanja oziroma frekvenco, kjer sta G' in G'' enaka. Velik del njenih raziskav je bil posvečen proučevanju vpliva postopka izdelave hipromeloze na njene izbrane fizikalno-kemijske lastnosti. Kandidatka je s pomočjo uporabe bližnje infrardeče spektroskopije uspela razviti kvantitativne PLS modele za določanje velikosti delcev hipromeloz znanega izvora. Dodatno pa je potrdila, da je poleg velikosti delcev znotraj določenih velikostnih frakcij pomemben FRC parameter tudi ustrezno razmerje med metoksilnimi in hidroksipropilnimi skupinami posameznih vzorcev hipromeloz. Dr. Sabina Devjak Novak v svojem delu osvetljuje nekatere ključne principe pri iskanju novih FRC lastnosti hipromeloz oziroma pomožnih snovi. Njene ugotovitve bodo pripomogle k boljšemu razumevanju in načrtovanju tablet s podaljšanim sproščanjem. Svoje raziskovalno delo je predstavila v do sedaj objavljenih 3-eh člankih, za svoje doktorsko delo pa je prejela tudi veliko KRKINO nagrado.

dr. MATIJA ROJNIK, mag. farm.

VLOGA IN DELOVANJE KATEPSINA H V ČLOVEŠKIH CELICAH

Mentor: prof. dr. Janko Kos, univ. dipl. kem.

Dr. Matija Rojnik je v doktorskem delu raziskoval delovanje cisteinske proteaze katepsina H v različnih tumorskih celicah in dokazal, da razlike v njenem izražanju in procesiranju vplivajo na lastnosti celic. Podrobno je preučil delovanje tega encima na kostne morfogenezne proteine, še posebej protein BMP-4 in v nasprotju z dosedanjimi trditvami dokazal, da katepsin H kot aminopeptidaza ne razgrajuje tega proteina, pač pa posredno vpliva na njegovo povečano izražanje. Ima pa katepsin H bistveno vlogo pri razgradnji citoskeletnega proteina talina, ki je znan po uravnavanju celične migracije. Na celicah raka prostate je dokazal, da razgradnja te molekulske tarče vpliva na aktivnost $\alpha V\beta 3$ integrinov in posledično na migracijo in invazijo tumorskih celic. Nadalje je doktorand dokazal, da je aktivacija katepsina H avto-katalitični, večstopenjski proces, ki poteka od neaktivne pro-oblike, preko vmesne (30 kDa) do zrele oblike, pri tej pretvorbi pa imata pomembno vlogo endopeptidazni cepitveni mesti Tyr87P in Gly90P. V nekaterih celicah je proces pretvorbe omejen, kar vodi do znižanja ravni zrele oblike in akumulacije vmesne oblike. Doktorand je

razvil in okarakteriziral tudi različne oblike polimernih nanosistemov za ciljan vnos protitumorskih učinkovin, ki lahko izboljšajo dosedanje terapevtske pristope. Dr. Rojnik je rezultate doktorskega dela objavil v šestih člankih v uglednih revijah z dejavnikom vpliva in predstavil na mednarodnih konferencah.

dr. MATJAŽ BRVAR, mag. farm.

STRUKTURNO PODPRTO NAČRTOVANJE INHIBITORJEV DNA GIRAZE B

Mentor: prof. dr. Tomaž Šolmajer, dipl. ing. fiz.

Somentorica: izr. prof. dr. Lucija Peterlin Mašič, mag. farm.

Dr. Matjaž Brvar je svoje delo zasnoval z metodo strukturno podprtega načrtovanja, ki obsega načrtovanje na osnovi poznavanja vezavnega mesta tarče, sintezo in/ali reševanje knjižnic spojin, biološko ovrednotenje in določitev strukture kompleksa ligand-receptor. Uvodoma je predstavil problem bakterijske rezistence na protibakterijske učinkovine in DNA girazo kot obetavno tarčo za razvoj novih protimikrobnih učinkovin. Zaradi pretirane in pogosto tudi napačne uporabe antibiotikov v preteklih letih se je število bakterijskih sevov, ki so odporni na večino obstoječih in v klinični praksi uporabljenih antibiotikov v zadnjih letih drastično povečalo. Napredek pri odkrivanju in razvoju novih protibakterijskih učinkovin je velikega pomena, pri čemer se raziskovalci opirajo na nove mehanizme inhibicije pri že uveljavljenih tarčah ali pa iščejo povsem nove tarče. Na osnovi mehanizma delovanja topoizomeraz IIA je utemeljil ATP vezavno mesto na podenoti GyrB kot možno tarčo za razvoj novih učinkovin. Pomankljivosti do sedaj poznanih inhibitorjev GyrB so predvsem njihova slaba topnost, toksičnost ter nezadostna *in vivo* učinkovitost. Na podlagi podatkov o vezavi ciklotialidinov, naravnih giraznih zaviralcev iz gliv iz družine *Streptomyces*, je pripravil farmakoforni model, ki ga je uporabil za virtualno reševanje. Med dobljenimi zadetki je odkril serijo 2,4-dihidroksifeniltiazolov kot novih giraznih zaviralcev v nizkem mikromolarnem območju. S superpozicijo struktur teh spojin je z reševanjem odkril še eno serijo giraznih zaviralcev z 5-(2'-hidroksibenziliden)rodaninskim skeletom, ki jo je tudi biofizikalno ovrednotil. V nadaljnji raziskavi pa je za izhodišče izbral kumarine, skupino naravnih zaviralcev giraze z delovanjem na ATP vezavno mesto. Na osnovi kristalne strukture kompleksa med proteinom G24 (24kDa dolg fragment GyrB) in klorobiocinom je postavil farmakoforni model, po uspešni validaciji modela, s katero je potrdil ujemanje z eksperimentalno strukturo kompleksa, pa ga je uporabil za virtualno reševanje knjižnice približno 5 milijonov komercialno dostopnih spojin. Po začetnih zadetkih je izbral knjižnico substituiranih 4,5'-bitiazolov, ki jo je sidral v aktivno mesto proteina. Na ta način je odkril 6 novih spojin s protigirazno aktivnostjo v nizkem mikromolarnem območju in tudi zanimivo *in vivo* protibakterijsko aktivnostjo. Njihovo vezavo je ovrednotil še z biofizikalnimi metodami kot so diferenčna dinamična fluorimetrija (DSF), površinska plazmonska resonanca (SPR) in mikrotermoforeza (MST) in uspešno določil tudi kristalno strukturo kompleksa med proteinom in eno od spojin. Ta struktura je razkrila interakcije, pomembne za vezavo v vezavno mesto. Dobro ujemanje med napovedano in eksperimentalno določeno vezavno konformacijo liganda je ponovno potrdilo ustreznost postavljenega modela za odkrivanje novih potencialnih zaviralcev bakterijske giraze B. Disertacija dr. Brvarja je samostojen in izviren prispevek k znanosti in pomembno izhodišče za nadaljnji razvoj novih inhibitorjev DNA giraze B z delovanjem na ATP vezavnem mestu.

dr. VERONIKA ŠKEDELJ, mag. farm.

NAČRTOVANJE, SINTEZA IN VREDNOTENJE INHIBITORJEV D-ASPARTAT LIGAZE IN D-ALANIL-D-ALANIN LIGAZE

Mentorica: doc. dr. Anamarija Zega, mag. farm.

Iskanje in preučevanje novih tarč in načrtovanje protibakterijskih učinkovin z novimi mehanizmi delovanja je pomemben pristop v boju z bakterijsko rezistenco, ki predstavlja vedno večji problem v sodobnem zdravstvu. Bakterijski peptidoglikan je eno pomembnejših tarčnih mest za razvoj novih protibakterijskih učinkovin saj zaviranje njegove biosinteze vodi do lize celice in do bakterijske smrti. Dr. Veronika Škedelj je v okviru svojega doktorskega dela načrtovala, sintetizirala in biološko ovrednotila ATP-kompetitivne inhibitorje dveh bakterijskih encimov, ki sodelujeta v procesu biosinteze peptidoglikana, in sicer D-aspartat ligaze ter D-alanil-D-alanin ligaze.

Doktorandka se je v začetni fazi doktorskega dela posvetila še malo poznani D-aspartat ligazi (Asl_{fm}), encimu, ki sodeluje v procesu prečnega premreženja peptidoglikanskih vlaken. Razvila je postopek izolacije rekombinantnega encima in postavila encimski test s katerim je preučila kinetiko izoliranega encima in nato z uporabo spletnega strežnika ENZO ter dobljenih ekperimentalnih krivulj poiskala model katalitičnega mehanizma Asl_{fm} . Dobljen model potrjuje predhodno znana dejstva o mehanizmu reakcije ter se sklada z mehanizmi ostalih encimov, ki spadajo v isto družino ATP-grasp encimov. Po podrobnejši karakterizaciji Asl_{fm} je sledilo načrtovanje spojin, ki bi zavrle delovanje tega bakterijskega encima. Pri rešetanju manjše banke že znanih ATP-kompetitivnih inhibitorjev bakterijskih encimov, ki spadajo v ATP-grasp družino je uspela odkriti sploh prvi inhibitor tega encima in z optimizacijo dobljenega zadetka tako s sinteznim pristopom kot tudi s pomočjo postavitve farmakofornega modela in virtualnim rešetanjem kar za 15-krat izboljšala inhibitorno aktivnost. Vezavo inhibitorjev v aktivno mesto tarčnega encima je potrdila in termodinamsko karakterizirala s pomočjo izotermne titracijske kalorimetrije. V nadaljevanju doktorskega dela je načrtovala piridopirimidinske inhibitorje bakterijskega encima D-alanil-D-alanin ligaze. S klasičnim rešetanjem spojin iz interne knjižnice znanih ATP-kompetitivnih inhibitorjev je odkrila nov inhibitor tarčnega encima, ki ga je uporabila kot izhodišče za optimizacijo s sintezo analogov osnovnega skeleta treh različnih tipov. Vezavo inhibitorjev na tarčni encim je potrdila še s pomočjo površinske plazmonske resonance, s kinetičnimi študijami je potrdila vezavo inhibitorjev v ATP-vezavno mesto in s pomočjo izotermne titracijske kalorimetrije določila termodinamske parametre vezave.

Rezultati raziskovalnega dela dr. Veronike Škedelj so bili objavljeni v dveh izvornih znanstvenih člankih v mednarodnih revijah s faktorjem vpliva, del njenih rezultatov pa je zbran v še dveh rokopisih člankov, poslanih v objavo.

dr. ANDREJA ZELENIK PEVEC, univ.dipl.inž.kem.teh.

**BIOTRANSFORMACIJA ARZENOVEGA TRIOKSIDA IN URAVNAVANJE
IZRAŽANJA METALOTIONEINOV V HUMANI GLIOBLASTOMSKI CELIČNI
LINIJI U87 MG**

Mentorica: prof. dr. Janja Marc, mag. farm., spec. med. biokem.

Somentorica: doc. dr. Ingrid Falnoga, mag. farm.

Glioblastomi so najbolj pogosta vrsta primarnih možganskih tumorjev, preživetje pa je zaradi visoke rezistence na zdravljenje zelo nizko. V Sloveniji zboli približno 40 do 50 oseb letno. V zadnjem desetletju se poleg kirurške odstranitve in radioterapije standardno izvaja tudi hkratna kemoterapija, ki je potrojila povprečni delež bolnikov z dvoletnim preživetjem, iz 8% na 25%. Kot kemoterapevtik se uporablja temozolamid, v zadnjem času pa se klinično preizkušajo tudi novi načini kot na primer uporaba arzenovega trioksida z ali brez askorbinske kisline.

Doktorandka je v nalogi spremljala biotransformacijo arzenovega trioksida in interakcije arzena z metalotioneini v človeški glioblastomski celični liniji U87 MG, ki je bila modelni sistem za tumor. Oba procesa lahko bistveno vplivata na terapevtsko učinkovitost arzenovega trioksida. Ugotovila je, da tako nutritivna sestava medijev kot farmakološki odmerki askorbinske kisline vplivajo na oksidacijo arzenovega trioksida v biološko manj aktiven arzenat. Iz vidika celične odpornosti, pa je pomembno, da je kandidatki uspelo dokazati vezavo arzena na stresne beljakovine metalotioneine in identificirati šest metalotioneinskih subizoforn na nivoju genske ekspresije. Potrdila je njihov koncentracijsko časovni odziv na arzenov trioksid, ki je bil najbolj izražen pri izoformah *1f*, *2a* in *1x*. Z dobljenimi podatki o vezavi arzena na metalotioneine, o vplivu arzena na povečano sintezo posameznih metalotioneinskih izoform ter o znatni pretvorbi arzenovega trioksida v biološko manj aktivno obliko ob dodajanju askorbinske kisline, je kandidatkinino delo pomemben prispevek k pojasnitvi nekaterih možnih problemov z učinkovitostjo arzenovega trioksida pri zdravljenju glioblastomov. Zato dr. Andreja Zelenik Pevec zaključuje, da terapevtska kombinacija arzenovega trioksida s farmakološkimi odmerki askorbinske kisline ni primerna, ker zmanjšuje privzem arzena v celice.

dr. PETRA PETELIN, mag. farm.

**PROUČEVANJE VPLIVA STABILIZATORJEV IN DRUGIH POMOŽNIH SNOVI
TER TEHNOLOŠKIH PARAMETROV NANONIZACIJE NA STABILNOST SLABO
TOPNE UČINKOVINE V TRDNI FARMACEVTSKI OBLIKI**

Mentor: izr.prof.dr. Janez Kerč, mag. farm.

Somentorica: raz.svet.dr. Simona Bohanec, univ. dipl. kem.

Doktorska disertacija dr. Petre Petelin je osredotočena na področje stabilnosti nanosuspenzij težko topne učinkovine sirolimusa v trdni farmacevtski obliki, pripravljene z različnimi tehnološkimi postopki. Glavni cilji naloge so bili proučiti ključne razkrojne produkte sirolimusa in poti njihovega nastanka in primerjava profilov razkrojev v končni farmacevtski obliki v različnih stopnjah tehnološkega postopka in z različnimi fizikalnimi oblikami učinkovine. Doktorandka je preučevala kompatibilnost učinkovine s potencialnimi pomožnimi snovmi in kemijsko stabilnost sirolimusa v obliki nanosuspenzij z vidika razgradnje učinkovine in določitve razkrojnih produktov s kromatografskimi metodami,

fizikalne lastnosti nanosuspenzij pa je vrednotila z meritvami porazdelitve velikosti delcev, zeta potenciala in SEM analizo. Potrdila je hipotezo, da izbira pravega stabilizatorja in drugih pomožnih snovi ter ustreznega tehnološkega postopka nanonizacije in izdelave končne farmacevtske oblike značilno vpliva na stabilnost težko topne učinkovine sirolimusa. Dokazala je tudi, da med rezultati študij pospešene in dolgoročne stabilnosti obstaja korelacija ter da lahko na osnovi kratkotrajnejših študij na povišani temperaturi in vlagi napovemo dolgoročno stabilnost tablet. Doktorska disertacija predstavlja izvirne prispevke k znanosti, od katerih so bile nekatere tudi že objavljene v mednarodnih znanstvenih revijah s faktorjem vpliva. Delo in rezultati dr. Petre Peterlin lahko v prihodnosti pripomorejo k znanstveno podprtemu načrtovanju stabilnih farmacevtskih oblik s tako ali podobno sestavo, osnovano na nanonizaciji težko topne učinkovine.

dr. JANJA ZUPAN, mag. farm.

VPLIV VNETHNIH CITOKINOV NA SISTEM DEJAVNIKOV RANK/RANKL/OPG V KOSTNEM TKIVU PRI BOLNIKIHZ OSTEOPOROZO IN OSTEOARTROZO

Mentorica: prof.dr. Janja Marc, mag.farm., spec. med. biokem.

S pojavom vede osteoimunologije so začeli obravnavati imunski in kostni sistem kot enovito celoto in dajati poudarek na vnetni komponenti v patogenezi kostnih bolezni npr. pri osteoporozi (OP) in osteoartrozi (OA). Vnetni citokini (interleukini in interferoni), vplivajo na kostne celice verjetno preko modulacije sistema dejavnikov RANK/RANKL/OPG in s tem verjetno regulirajo kostno presnovo. Vplivi med kostnim in imunskim sistemom so kompleksni in so bili dokazani večinoma *in vitro* in na transgenih živalskih modelih, njihova razjasnitev v humanem kostnem tkivu še ni bila proučevana. Namen doktorske naloge je bil ovrednotiti vlogo vnetnih citokinov pri patogenezi OP in OA ter določiti interakcije genskih sprememb nekaterih citokinov z OP fenotipom.

Doktorska disertacija je napisana v obliki petih poglavij. V prvem poglavju so v preglednem članku predstavljena znana dejstva o vplivu vnetnih citokinov na osteoklaste. Drugo poglavje predstavlja eksperimentalni članek, ki podaja oceno kvalitete kostnine s trenutno najbolj točno metodo t.j. z mikro računalniško tomografijo (μ CT). Uvedba te metode je bila izrednega pomena za pravo vrednotenje genetskih vplivov in vplivov posameznih citokinov, ki je v doktorski nalogi sledilo. Tretje in četrto poglavju predstavljata eksperimentalna članka, kjer je kandidatka dokazovala povezanost izražanja genov ter DNA sprememb v genih za vnetne citokine, njihove receptorje in izbrane osteoklastne gene z vsemi aktualnimi kostnimi fenotipi kot npr. z MKG, biokemijskimi kazalci kostne presnove ter strukturnimi parametri kostnine. Zadnje, peto poglavje pa predstavlja članek o povezanosti genskih interakcij med vnetnimi citokini in komponentami sistema RANK/RANKL/OPG, ki je najpomembnejši regulator kostne presnove. Na osnovi rezultatov je Janja Zupan potrdila pomemben vpliv vnetnih citokinov na kostno presnovo ter tako doprinesla k pojasnitvi genetskih izhodišč v patogenezi OP in OA. Pomagala je k razkritju novih molekul, ki bi lahko predstavljale potencialne tarče za zdravila in/ali diagnostiko teh kostnih bolezni.

Rezultati dr. Janje Zupan na področju osteoimunologije so pomembni in mednarodno primerljivi, kar je razvidno iz njene bibliografije, ki jo sestavljajo trije članki objavljeni v revijah z IF ter dva članka, ki sta poslana v objavo. Del rezultatov doktorske naloge je predstavila z vabljenim predavanjem ter v obliki dve posterjev na mednarodnih srečanjih.

dr. BLAŽ VEHAR, mag. farm.

UPORABA MOLEKULARNEGA MODELIRANJA PRI NAČRTOVANJU ENCIMSKIH INHIBITORJEV KOT POTENCIALNIH PROTIBAKTERIJSKIH UČINKOVIN

Mentor: prof.dr. Stanislav Gobec, mag. farm.

Somentorica: prof. dr. Dušanka Janežič, univ. dipl. ing. matematike

Predmet disertacije dr. Blaža Veharja je razvoj in uporaba metod molekularnega modeliranja pri načrtovanju novih inhibitorjev bakterijskih encimov s poudarkom na D alanil-D alanin ligazi. Kandidat je v svojem delu združil različne računalniške pristope za odkrivanje novih zdravih učinkovin: virtualno reševanje, iskanje inhibitorjev po podobnosti z znanimi aktivnimi spojinami, primerjalno modeliranje, napovedovanje proteinskih vezavnih mest z lokalnim strukturnim prileganjem ter simulacije molekulske dinamike za napoved mehanizma konformacijskih sprememb znotraj tarčnih encimov. Istovetnost in čistost ligandov ter njihovo encimsko inhibitorno in protimikrobno delovanje je ugotavljal s pomočjo partnerjev s Fakultete za farmacijo v Ljubljani in z Univerze v Leedsu. Blaž Vehar je v doktorskem delu predstavil in analiziral različne pristope pri odkrivanju novih inhibitorjev D alanil-D alanin ligaze (DdlB). Dva izmed tako odkritih inhibitorjev, derivata elipticina in 9 aminoakridina, ki sta bila aktivna tudi na protimikrobnih preizkusih, je kandidat uporabil kot izhodišče za iskanje spojin s podobnimi strukturami. Elipticinski skelet je uporabil tudi kot izhodišče za sintezo serije strukturnih analogov, med katerimi so bile zelo aktivne spojine s kvarternim metilpiridinijevim obročem in ugotovil, da omenjeni inhibitorji delno delujejo po nespecifičnem mehanizmu destabilizacije celičnih membran. Nadalje je kandidat opisal konformacijski premik v DdlB, ki poteka sočasno z vezavo substratov v aktivno mesto encima. Znotraj C-terminalne domene encima obstaja zanka, ki med potekom reakcije pokriva aktivno mesto encima, sicer pa je njena struktura odprta in obdana z molekulami topila. Odkril je šest novih mikro- do milimolarnih inhibitorjev DdlB, za katere je zaradi zasedenosti vezavnega mesta za ATP med virtualnim reševanjem napovedal selektivno vezavo v bimolekularno vezavno mesto za D-alanin. Kandidat je v programskem jeziku Python razvil računalniški program za hierarhično zbiranje zadetkov virtualnega reševanja v skupke. S tem je v postopek izbire nabora spojin za laboratorijsko preučevanje vpeljal kriterij medsebojne različnosti spojin, katerega strogost lahko poljubno prilagaja potrebam posamezne raziskave. Sodeloval je tudi pri razvoju in analizi nove metode lokalnega strukturnega prileganja (LSA) za napovedovanje vezavnih mest na proteinih, ki temelji na iskanju evolucijsko ohranjenih delov proteinskih površin. Metoda je neodvisna od aminokislinskih zaporedij primerjanih proteinov in računa podobnosti v površinskih strukturah proteinov z algoritmom za iskanje maksimalnih klik v proteinskih produktih grafih. DR. Blaž Vehar je dosežke s področja teme doktorske disertacije objavil v petih člankih v mednarodno priznanih revijah najvišjega ranga, ki jih indeksira SCI. Kandidat je pri enem članku prvi avtor. Njegove objave so bile 22-krat čisto citirane. Najodmevnejše delo je že 17-krat čisto citirano.

dr. MARTINA GOBEC, mag. farm.

VREDNOTENJE SINTEZNIH INHIBITORJEV SERINSKIH PROTEAZ KOT INDUKTORJEV APOPTOZE IN MODULATORJEV IMUNSKEGA ODZIVA

Mentorica: prof. dr. Irena Mlinarič Raščan, mag. farm.

Poglavitni namen doktorske disertacije je bil identificirati in biološko ovrednotiti sintezne inhibitorje serinskih proteaz, ki so sposobni sprožiti proces apoptoze in modulirati imunski sistem. Doktorska disertacija je pisana v obliki 6. originalnih znanstvenih člankov z razširjenim povzetkom v slovenskem jeziku. V uvodu avtorica predstavi proces apoptoze in razloži njen fiziološki ter patofiziološki pomen. Nadalje razlaga modulacijo proliferacije in apoptoze preko signalne poti transkripcijskega faktorja NF κ B ter naslovi nekatere modulatorje tega procesa.

V prvem poglavju z naslovom Spojine z amidinopiperidinskim skeletom so selektivno citotoksične za celice Burkittovega limfoma, kandidatka ovrednoti nabor 16 spojin. Za spojine z N-amidinopiperidinskim skeletom dokaže selektivno citotoksičnost na celice Burkittovega limfoma, ter dokaže molekularni mehanizem, ki poteka preko NF κ B signalne poti in inhibicije proteolitične aktivnosti proteasom (rezultati so objavljeni v reviji Plos One).

V drugem poglavju predstavi farmakogenomski pristop k iskanju tarč inhibitorjev serinskih proteaz. Ugotovi, da je fenoksibenzamin, antagonist α -adrenergičnih receptorjev, selektivno citotoksičen za celice Burkittovega limfoma. V tretjem poglavju z naslovom Vrednotenje imunomodulatornih lastnosti inhibitorja proteasoma z N-amidinopiperidinskim skeletom ovrednoti vpliv izbrane spojine na imunski sistem. Dokaže, da izbrana spojina ne vpliva na preživetje ali diferenciacijo dendritičnih celic. (Oba segmenta sta pripravljena za objavo).

V četrtem predstavi vlogo prostaglandinskega receptorja EP4 v nezrelih limfocitih B in dokaže, da predstavlja EP4 potencialno tarčo v razvoju terapije avtoimunih boleznih kot tudi levkemij in limfomov (objavljeno v Journal of Pharmacy and Pharmacology). V petem in šestem poglavju predstavi imunomodulatorne lastnosti desmuramildipeptidnih spojin. Identificira spojine z imunostimulatornim učinkom, ki bi delovale kot adjuvansi (objavljeno v: European Journal of Medicinal Chemistry, in Journal of Medicinal Chemistry).

Izvirnost raziskovalnega dela dr. Martine Gobec je v odkrivanju in vrednotenju novih tarčnih molekul, ki služijo za ciljan razvoj učinkovin – modulatorjev apoptoze in s tem novih pristopov pri zdravljenju malignih in avtoimunih obolenj.

dr. MAJA ŠANTL, mag. farm.

VPLIV NAČINA AGLOMERIRANJA TRDNIH DELCEV NA PROCES STISKANJA IN LASTNOSTI TABLET

Mentorica: izr. prof. dr. Saša Baumgartner, mag. farm.

Somentor: prof. dr. Franc Vrečer, mag. farm.

Doktorska disertacija Maje Šantl sodi na področje farmacevtske tehnologije. Doktorandka si je za izhodišče svojega raziskovalnega dela postavila kompresibilnost in kompaktilnost zmesi pomožnih snovi in vpliv postopkov aglomeriranja teh zmesi na njihove mehanske lastnosti. Tako kompresibilnost kot kompaktilnost zmesi prahov sta pomembna parametra v stroškovno učinkoviti proizvodnji kakovostnih trdnih farmacevtskih izdelkov izdelanih s stiskanjem.

V prvem delu raziskovalnega dela je doktorandka preučila vpliv različnih načinov aglomeracije na mehanske lastnosti zmesi za tabletiranje izdelanih v polindustrijskem merilu, t.j. njihovo kompresibilnost in kompaktilnost. Ugotovila je, da doseže najboljše mehanske lastnosti zmesi z njihovo aglomeracijo v zvrtničenih plasteh. Dokazala je tudi linearno povezavo med Hecklovim in Walkerjevim modelom napovedovanja stisljivosti, pri čemer je slednji izkazal večjo diskriminatornost v napovedovanju kompresibilnosti.

V nadaljevanju raziskovalnega dela je preučila vpliv velikosti delcev zmesi za tabletiranje izdelane z direktnim mešanjem izbranih ingredienc oz. z njihovo predhodno aglomeracijo, na njene mehanske lastnosti. Ugotovila je, da velikost delcev zmesi ne vpliva bistveno na kompresibilnost zmesi, bistveno pa vpliva na njeno kompaktilnost. Dokazala je, da lahko z večjimi delci doseže višjo natezno trdnost, nižjo krušljivost in nižji delež elastične relaksacije stisnjenih tablet.

V zadnjem delu raziskovalnega dela, pa se je posvetila študiju vpliva velikosti delcev polnila/veziva, kot bistvene pomožne snovi v izbrani formulaciji zmesi za tabletiranje, na njeno stisljivost. Ugotovila je, da velikost delcev uporabljenega večfunkcionalnega veziva nima pomembnega vpliva na kompresibilnost in kompaktilnost zmesi za tabletiranje, izdelane z aglomeracijo zmesi prahov v zvrtničenih plasteh, pri čemer ta ugotovitev velja za relativno majhne razlike v velikosti delcev komercialno dostopnih tipov izbranega veziva. Doktorsko delo Maje Šantl predstavlja primer znanstveno-raziskovalnega pristopa reševanja konkretnih izzivov razvoja in proizvodnje farmacevtskih izdelkov in s tem zasledovanje modernih trendov v farmacevtski industriji kot je implementacija »Quality by Design«. Rezultate svojega raziskovalnega dela v okviru doktorata je oz. bo dr. Maja Šantl objavila v več izvirnih raziskovalnih člankih v revijah s faktorjem vpliva ter o njih poročala na mednarodni znanstveni konferenci.

dr. TANJA VEHOVEC, mag. farm.

VPLIV S FUNKCIONALNOSTJO POVEZANIH IN OSTALIH LASTNOSTI MIKROKRISTALNE CELULOZE NA STABILNOSTNI PROFIL ZDRAVILNIH UČINKOVIN

Mentor: izr. prof. dr. Aleš Obreza, mag. farm.

Doktorska naloga Tanje Vehovec sodi na področje analize in stabilnosti zdravil. To je področje farmacije, ki zagotavlja, da bolnik v deklariranem časovnem obdobju prejme kvalitetno, učinkovito in varno zdravilo. Zdravilo sestavlja ena ali več zdravilnih učinkovin in običajno večje število pomožnih snovi, ki vstopajo v medsebojne interakcije, kar lahko privede do resnih težav s stabilnostjo končnega zdravila. Tanja Vehovec se je v okviru svoje doktorske disertacije osredotočila na proučevanje vpliva s funkcionalnostjo povezanih (FRC) in drugih fizikalno-kemičnih in površinskih lastnosti mikrokrystalne celuloze, kot ene izmed najpogosteje uporabljenih pomožnih snovi, na stabilnost zaviralcev angiotenzin-konvertaze erbuminijevega perindoprilata in enalaprilijeva maleata. Poleg tega je uspešno razvila analizne metode in postopke in ovrednotila njihovo uporabnost pri proučevanju stabilnosti izbranih zdravilnih učinkovin v stiku z mikrokrystalno celulozo. Z eksperimentalnim delom je na izviren način preučevala vpliv mikrokrystalne celuloze na stabilnost zdravilnih učinkovin v binarnih zmesih. Z merjenjem in identifikacijo nastalih razpadnih produktov je dokazala, da lahko minimalne razlike v lastnostih raznih tipov MMC istega ali različnih proizvajalcev bistveno vplivajo na stabilnost ZU. Iz primerjave in kritičnega ovrednotenja rezultatov posameznih eksperimentov in rezultatov meritev fizikalno-kemičnih lastnosti pomožnih snovi je dokazala kompleksnost strukture mikrokrystalne celuloze in procesov, ki potekajo na njeni

površini. Parametre, ki opisujejo površinske lastnosti preiskovanih tipov mikrokristalne celuloze, kot so na primer sorpcijsko-desorpcijske izoterme, nespecifične interakcije, kislinske in bazične konstante, LOD, pH vodnih suspenzij, velikost delcev, specifična površina, bi tako lahko opredelili kot FRC lastnosti. Izsledke svojih raziskav je dr. Tanja Vehovec predstavila v treh izvirnih znanstvenih člankih in eni evropski patentni prijavi.

dr. SIMON KUKEC, mag. farm.

RAZISKAVE AGLOMERACIJE KARVEDILOLA S TALINAMI V ZVRTINČENIH PLASTEHI

Mentor: prof. dr. Franc Vrečer, mag. farm.

Somentor: doc. dr. Rok Dreu, mag. farm.

Doktorska disertacija Simona Kukca sodi na področje farmacevtske tehnologije. Doktorand je svoje raziskovalno delo usmeril v študij aglomeracije karvedilola s talinami s čimer je želel primarno doseči izboljšanje hitrosti raztapljanja in izboljšanje njegove procesibilnosti v izdelavi tablet. Karvedilol je zdravilna učinkovina iz skupine antihipertenzivov, ki sodi v obsežno skupino slabo topnih a dobro permeabilnih zdravilnih učinkovin, pri katerih je hitrost absorpcije pogojena z njihovo topnostjo oz. hitrostjo raztapljanja v fizioloških pogojih.

Doktorand je razdelil svoje eksperimentalno delo v več sklopov v katerih je raziskoval procese aglomeracije izbrane zdravilne učinkovine kot tudi lastnosti v omenjenih procesih nastalih aglomeratov oz. granul ter trdnih farmacevtskih oblik izdelanih na njihovi osnovi.

Z poglobljeno primerjalno študijo procesnih in formulacijskih spremenljivk aglomeracije s talino veziv ter lastnosti izdelanih granul, kot površinska energija, močljivost, hitrost raztapljanja, kemijsko mapiranje granul idr., je doktorand uspel doseči želeno povečano hitrost raztapljanja ter spremenjene farmacevtsko-tehnološke parametre aglomerirane učinkovine. Hkrati je potrdil, da je povečana hitrost raztapljanja karvedilola pogojena z njegovo povečano močljivostjo, ki je hkrati posledica razprostiranja hidrofilnega veziva po hidrofobni površini delcev karvedilola. Hkrati je v procesih aglomeracije uspešno preskusil »in procesno« vrednotenje rasti granul ter določitev končne točke aglomeracije z metodama za realno-časovno vrednotenje velikosti delcev t.j. FBRM in SFT sond. Doktorand je uspešno preskusil uporabnost omenjenih »in line« metod v optimizaciji prenosa tehnologije aglomeracije v talini med po velikosti in tipu različnimi vrstičnoslojnimi granulirniki. V zadnjem delu eksperimentalnega dela je dokazal, da lahko s postopkom sekundarne obdelave aglomeratov, t.j. z oblaganjem s talino lipofilnih snovi doseže upočasnjeno sproščanje karvedilola, kar bi omogočilo bolnikom prijaznejšo enkrat-dnevno aplikacijo zdravila. Posebna vrednost njegovih rezultatov je v uspešni določitvi procesnih pogojev, ki zagotavljajo, da ne prihaja do sprememb v lastnostih primarnih aglomeratov pri sekundarnem oblaganju s talino lipofilne pomožne snovi.

Doktorsko delo dr. Simona Kukca predstavlja primer znanstveno-raziskovalnega pristopa reševanja konkretnih izzivov razvoja farmacevtskih izdelkov, ki temelji na principu »Quality by Design«. Rezultate svojega raziskovalnega dela v okviru doktorata je oz. bo objavil v več izvirnih raziskovalnih člankih v revijah s faktorjem vpliva ter o njih poročal na mednarodni znanstveni konferenci.