

Menči Kunstelj

Mentor: prof. dr. Borut Štrukelj

Priprava in ovrednotenje usmerjeno pegiliranih konjugatov filgrastima

Doktorantka Menči Kunstelj se je v svoji doktorski disertaciji ukvarjala s področjem priprave rekombinantnih analogov humanega granulocitne kolonije spodbujajočega dejavnika oziroma filgrastima. Filgrastim se že vrsto let uspešno uporablja za preprečevanje različnih nevtropeničnih stanj, najpogosteje pa nevtropenije, ki je posledica kemoterapije. V začetnem tržnem obdobju je bil za zdravljenje na razpolago le osnovni, nespremenjeni filgrastim, v zadnjih nekaj letih pa je na tržišču tudi pegilirani analog filgrastima. Tako pripravljen PEG-filgrastim, ki ga uvrščamo med biološka zdravila druge generacije, predstavlja velik tržni potencial, vendar je še pod patentno zaščito. Prav velika tržna uspešnost pegilirane oblike filgrastima je pomemben razlog za iskanje novih, še izboljšanih oblik, kar je bil osnovni namen doktorskega dela kandidatke.

V okviru doktorske disertacije je opisana priprava različnih mestno-specifično pegiliranih konjugatov filgrastima po kloniranju in izražanju v bakteriji *E. coli*. Vse izražene rekombinantne analoge je kandidatka okarakterizirala z analitskimi tehnikami, določila pa je tudi biološko aktivnost »*in vitro*«, stabilnost in farmakokinetične ter farmakodinamične parametre, določene na podganjih živalskih modelih. Doktorantka je naredila serijo različnih konjugatov osnovnega filgrastima in karakterizirala tudi nov mestno-specifični diselenidni pegilacijski reagent. S tem reagentom je pripravila konjugat in pokazala, da je konjugacija cisteinov s tvorbo selenilsulfidne vezi zelo selektivna in da si reagent PEG-Se zasluži nadaljnji razvoj. Konjugat, pripravljen z reagentom PEG-Se, je izkazoval nekatere zanimive lastnosti. Najpomembnejši sta visoko ohranjena biološka aktivnost »*in vitro*« in možnost sproščanja aktivnega rekombinantnega filgrastima »*in vivo*«. Konjugat, pripravljen z ortopiridildisulfidnim pegilacijskim reagentom pa je izkazoval najboljši farmakokinetični profil. Ker se je konjugat cisteinskega analoga, pripravljen z maleimidnim reagentom PEG, izkazal kot bistveno bolj stabilen v primerjavi s konjugati z mestom pripetja na Cys₁₈, kandidatka v nadaljevanju predlaga, da bi bilo smiselno nadaljevati s pripravo konjugata cisteinskega analoga z novim reagentom PEG-Se. Izsledke svojih raziskav je doktorantka objavila v treh znanstvenih revijah z dejavnikov vpliva IF.

Jan Pelipenko

Mentorica: prof. dr. Julijana Kristl

Somentorica: doc. dr. Petra Kocbek

JAN PELIPENKO, mag farm, mladi raziskovalec, je zaključil interdisciplinarni doktorski študijski program Biomedicina pod mentorstvom prof. dr. Julijane Kristl in somentorstvom doc. dr. Petre Kocbek z doktorsko nalogo **Polimerna nanovlakna: razvoj, vrednotenje in celični odziv**.

Disertacija Jana Pelipenka predstavlja novo in aktualno področje nanoznanosti, natančneje polimerna nanovlakna, ki imajo zaradi fizikalno-kemijskih lastnosti velik potencial za dostavljanje zdravilnih učinkovin in regeneracijo tkiv. Najpogosteje uporabljena metoda za izdelavo nanovlaken je elektrostatsko sukanje, ki je zaradi medsebojno soodvisnih okoljskih, sistemskih in procesnih dejavnikov, zahteven in

časovno potraten proces. Zaključki o vplivu posameznih dejavnikov na proces elektrostatskega sukanja so si bili, po našem mnenju, zaradi premalo poglobljenih raziskav, v katerih so najpogosteje proučevali vpliv le enega ali nekaj parametrov, ostale pa zanemarili, mnogokrat nasprotujoči.

Pri izdelavi doktorske disertacije je kandidat uporabljal metodo elektrostatskega sukanja z enokanalno ali koaksialno šobo v spreminjajočih tehnoloških pogojih in sodobne metode vrednotenja: reologijo, mikroskopske metode (SEM; TEM; AFM, fluorescenčno) ter metode za vrednotenje biološkega odziva na celičnih linij keratinocitov in fibroblastov (MTS, PCR, statistične in korelacijske metode).

Raziskovalne hipoteze, ki jih je raziskoval in potrdil lahko strnemo v naslednje ugotovitve, da

- lahko s spreminjanjem parametrov elektrostatskega sukanja izdelamo različna nanovlakna, ki se razlikujejo po morfologiji, usmerjenosti in zgradbi,
- je vlaga kritičen parameter okolja, ki vpliva na elektrostatsko sukanje in debelino,
- lahko izdelamo nanovlakna z različnimi mehanskimi lastnostmi,
- je celični odziv odvisen od vrste in lastnosti nanovlaken, na katerih rastejo,
- je celični odziv tudi posledica razlik v genskem izražanju preiskovanih celic,
- lahko z metodo elektrostatskega sukanja v nanovlakna vgradimo biološke makromolekule, ne da bi pri tem vplivali na njihovo biološko aktivnost in tako dosežemo sinergističen učinek nanotopografije in vgrajene zdravilne učinkovine,
- so nanovlakna primerna za uporabo v tkivnem inženirstvu in sodobnih oblogah za rane.

Dosežke je objavil v znanstvenih revijah in predstavil na kongresih. Zaenkrat so najodmevnejši rezultati objavljeni v European Polymer Journal (2012, 48: 1374-1384), ki kažejo, da so polimerne raztopine primerne za elektrostatsko sukanje le takrat, kadar tvorijo prevodne nestrukturirane sisteme, ki izkazujejo bistveno večjo stopnjo plastičnosti kot elastičnosti tako v notranjosti raztopine kot na mejni površini. Doktorand je kot prvi dokazal, da interfacialne reološke lastnosti, v primerjavi z »bulk« reološkimi lastnostmi, izkazujejo bistveno boljšo napovedno vrednost za izvedbo elektrostatskega sukanja.

V WoS bazi podatkov ima 11 enot, 9 izvornih znanstvenih in 2 pregledna članka, vsi v revijah s faktorjem vpliva. Doslej je dosegel že 25 citatov in h-indeks 3 (dne 2.6.2014). Rezultate je predstavil tudi na številnih mednarodnih znanstvenih srečanjih. Doktorand Jan Pelipenko je med študijem pridobil znanje na UL in mednarodnih delavnicah, razvil spretnosti in kompetence za reševanje zahtevnih nalog. Poleg teh pa tudi samostojnost, kreativnost, vztrajnost in delavnost. Takoj po doktoratu se je zaposlil v farmacevtski družbi Lek d.d. kot samostojni raziskovalec v oddelku za razvoj farmacevtskih oblik.

Tina Trdan Lušin

Mentor: prof. dr. Aleš Mrhar

Somentorica: doc. dr. Barbara Ostanek

Farmakogenetski vidiki metabolizma in transporta selektivnih modulatorjev estrogenskih receptorjev

Kandidatka se je v okviru svoje doktorske disertacije podrobneje posvetila raziskavam transporta in metabolizma dveh zdravil, raloksifena in bazedoksifena, ki sta indicirani za zdravljenje in preprečevanje osteoporoze in invazivnega raka dojk. Osnovni problem pri zdravljenju s temi zdravili je velika variabilnost plazemskih koncentracij učinkovin in njihovih metabolitov, s tem pa tudi velika variabilnost želenih in neželenih učinkov.

Doktorska disertacija je bila izvedena v zelo širokem obsegu in z zelo različnimi eksperimentalnimi pristopi, saj vključuje izolacijo raloksifena in sintezo bazedoksifena, razvoj bioanaliznih metod za spremljanje plazemskih koncentracij različnih kemijskih entitet, *in vitro* eksperimente za ugotavljanje metabolnih in transportnih lastnosti ter klinično študijo. Disertacija je dober primer translacijske medicine, za katero je značilno, da *in vivo* opaženo variabilnost pojasnjuje z *in vitro* eksperimenti. Predstavljeni multidisciplinarni pristop translacijskih raziskav je omogočil vpogled v kompleksen mehanizem farmakokinetike in farmakodinamike raloksifena, vključno z vplivom polimorfizma genov, ki kodirajo za metabolne encime in prenašalce. Raziskava prinaša pomembno sporočilo, da bi lahko s pomočjo določitve genomskih označevalcev pred aplikacijo zdravila predvideli odziv na zdravilo in tako prispevali k uvedbi terapije prilagojene posamezniku in s tem k bolj učinkovitemu in varnemu zdravljenju. Pri osteoporozi bi personalizirana terapija pomenila še posebno veliko, saj lahko učinkovitost zdravljenja preverimo šele po daljšem času, prav tako pa je daljši čas potreben tudi za pojav nekaterih neželenih učinkov.

V okviru teme doktorske disertacije je kandidatka do sedaj objavila osem člankov s prvim avtorstvom, od tega sedem v revijah s faktorjem vpliva, še dva članka v revijah s faktorjem vpliva pa sta v postopku sprejemanja.

Katja Čvan Trobec

Mentor: izr. prof. dr. Mitja Lainščak

Somentorica: doc. dr. Mojca Kerec Kos

Vpliv sprememb v telesni sestavi in kaheksije na farmakokinetiko bisoprolola in ramiprila in na oceno ledvične funkcije pri bolnikih s kroničnim srčnim popuščanjem

V naravnem poteku srčnega popuščanja pride do sprememb telesne sestave in funkcije organov, kar lahko vpliva na farmakokinetiko in farmakodinamiko predpisanih zdravil ter pojav klinično pomembnih neželenih učinkov. V literaturi ni podatkov o povezavi med spremembami v telesni sestavi, ledvično funkcijo in farmakokinetiko zdravil pri bolnikih s srčnim popuščanjem.

Na živalskem modelu jetrnega karcinoma je pokazala, da kaheksija pomembno zmanjša tako ledvični očistek zdravil kot tudi njihov jetrni metabolizem. V tem delu naloge je razvila in validirala metodo analize farmakokinetičnih parametrov iz suhe kaplje krvi.

V prospektivni opazovalni raziskavi pri bolnikih s srčnim popuščanjem je ugotovila, da je ocena ledvične funkcije z joheksolom bolj zanesljiva kot uporaba enačb, kar je bilo najbolj izrazito pri bolnikih, zdravljenih z antagonistom aldosterona. Hkrati je ugotovila, da je očistek bisoprolola za tretjino manjši kot pri zdravi populaciji in da se je spreminjal v toku raziskave. Te spremembe niso bile povezane s spremembami v telesni sestavi, ampak so verjetno posledica napredovanja bolezni same. Farmakokinetika ramiprila se pri bolnikih s časom ni spremenila. Očistek ramiprila je bil pri bolnikih s kaheksijo za polovico nižji kot pri nekahektičnih bolnikih.

Rezultati interdisciplinarnega doktorskega dela lahko pomembno vplivajo na način ocene ledvične funkcije v dnevni klinični praksi in opozarjajo na previdnost pri titraciji zdravil skozi naravni potek srčnega popuščanja.

Božena Bürmen

Mentorica: prof. dr. Marija Bogataj

Proučevanje kinetike in mehanizma praznjenja pelet iz želodca po hranjenju s pomočjo matematičnih modelov

Prehod farmacevtskih oblik skozi prebavni trakt po peroralni aplikaciji je izjemno pomemben parameter, ki lahko vpliva na sproščanje zdravilne učinkovine, posledično pa lahko tudi na njeno absorpcijo in biološko uporabnost, ter na terapevtski učinek zdravila. Prehod več enotnih farmacevtskih oblik – pelet skozi prebavni trakt je izjemno kompleksen, kar še posebej velja, če so zaužite po obroku hrane. Božena Bürmen je prehod pelet iz želodca v duodenum v pogojih po zaužitju hrane proučevala na podlagi zbranih literaturnih podatkov. V prvem delu naloge je z metodo multiple linearne regresije analizirala čase, ko polovica pelet zapusti želodec, in ugotovila, da na prehod pelet signifikantno vpliva kalorična vrednost obroka zaužitega pred njihovo aplikacijo, gostota pelet in farmacevtska oblika v katero so pelete vgrajene, tableta ali kapsula. V drugem delu pa je doktorandka postavila matematične modele, s katerimi je opisala potek individualnih profilov praznjenja pelet iz želodca. Med tremi uporabljenimi modeli se je kot najustreznejši pokazal dvojni Weibullovi model, kar je potrdila tudi z enim od parametrov tega modela, ki se je zelo dobro ujema z neposredno določeno vrednostjo v eni od obravnavanih študij. Razviti modeli dajejo nov vpogled v kinetiko, deloma pa tudi v mehanizme prehoda pelet skozi želodec, hkrati pa lahko le z njihovo uporabo ustrezno ponazorimo ta prehod tudi pri testiranju sproščanja zdravilnih učinkovin.

Katra Kolšek

Mentorica: prof. dr. Marija Sollner Dolenc

Somentor: doc. dr. Janez Mavri

Študij mehanizmov bioloških učinkov bisfenola A in njegovih analogov z alternativnimi metodami

Katra Kolšek je tekom doktorskega študija proučevala delovanje bisfenol A in njegovih analogov. Bisfenol A je kontroverzen hormonski motilec, kateremu smo vsakodnevno izpostavljeni preko plastike, papirja, prahu in drugih virov. Katra Kolšek je z uporabo modernih računalniških metod in *in vitro* testov preučevala mehanizme toksičnosti teh hormonskih motilcev. Njeno doktorsko delo se je predvsem nanašalo na odkrivanje novih hormonskih motilcev podobnih bisfenolu A, iskanje povezave med strukturo in delovanjem le-teh, ter iskanje novih računalniško podprtih modelov, ki bi napovedovali endokrino delovanje preiskovanih kemikalij.

Nekonsistentnost eksperimentalnih genotoksičnih rezultatov bisfenola A je spodbudila študij mehanizma reakcije med potencialnim genotoksičnim metabolitom bisfenola A in bazami DNA. S kvantno-kemijskimi metodami je izračunala proste energije aktivacije različnih reakcij in njihovih stopenj. Tako je predpostavila potek reakcije, končne produkte celokupne reakcije in potrdila šibko reaktivnost kinonskega metabolita, ki lahko povzroči genotoksičnost bisfenola A.

S pomočjo molekulskega sidranja je iskala nove hormonske motilce glukokortikoidnega sistema. Računalniške zadetke je ovrednotila na celični liniji s poročevalskim genom in na izoliranem glukokortikoidnem receptorju. Tako je identificirala 9 novih modulatorjev glukokortikoidnega sistema iz različnih razredov kemikalij od insekticidov do ftalatov.

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

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

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

Jože Kastelic

Mentor: prof. dr. Danijel Kikelj

Somentor: prof. dr. Odon Planinšek

Priprava, karakterizacija in določevanje fizikalno-kemijskih lastnosti kokristalov flukonazola s karboksilnimi kislinami

Zdravilne učinkovine lahko obstajajo v različnih trdnih oblikah, ki se med sabo razlikujejo v urejenosti molekul v strukturi, kar je tudi vzrok razlikam v fizikalno-kemijskih lastnostih kot so npr. topnost, hitrost raztapljanja, fizikalna in kemijska stabilnost in mehanske lastnosti. Tekom razvoja zdravila je zato ključnega pomena možnost izbire iz čim večjega nabora različnih trdnih oblik učinkovine. Poleg priprave običajnih kristalnih oblik se vedno bolj uveljavlja priprava kokristalov, ki predstavljajo zanimivo možnost spreminjanja fizikalno-kemijskih lastnosti učinkovin. Doktorand se je v okviru svoje disertacije osredotočil na kokristalizacijo modelne učinkovine flukonazola in različnih karboksilnih kislin. Uspel je pripraviti šest različnih kokristalov flukonazola z malonsko, maleinsko, fumarno, jabolčno, glutarno ter salicilno kislino. Nove kristalne oblike je potrdil z diferenčno dinamično kalorimetrijo, infrardečo spektroskopijo s Fourierovo transformacijo, rentgensko praškovno difrakcijo in jedrsko magnetno resonanco v trdnem. Z izjemo kokristala z jabolčno kislino je vsem ostalim kokristalom uspel določiti kristalne strukture z metodo rentgenske difrakcije na monokristalih.

Ugotovil je, da so za kokristalizacijo s flukonazolom kot sotvorci primerne kratkoverižne alifatske dikarboksilne kisline s tremi do petimi ogljikovimi atomi kakor tudi aromatske kisline z eno karboksilno skupino, npr. salicilna kislina. Karboksilna skupina se je pri vseh kokristalih izkazala kot ključna pri povezovanju flukonazola s sotvorci preko vodikovih vezi z dušikovim atomom triazolskega obroča. Doktorand je pokazal, da sta za pripravo kokristalov primerna tako postopek z odparevanjem topila iz raztopine kot tudi mletje zmesi komponent, ki sta primerna tudi za pripravo večjih

količin kokristalov flukonazola, potrebnih za vrednotenje fizikalno-kemijskih lastnosti novih kristalnih oblik. Ugotovil je, da ima kokristal flukonazola z maleinsko kislino bistveno povečano hitrost raztapljanja v primerjavi s samo učinkovino.

Rezultate svojega raziskovalnega dela je doktorand objavil v treh člankih v mednarodnih znanstvenih revijah, en članek z rezultati raziskav v okviru doktorske disertacije pa je še v pripravi.

Žiga Hodnik

Mentor: prof. dr. Danijel Kikelj

Somentorica:izr. prof. dr. Lucija Peterlin Mašič

Načrtovanje, sinteza in vrednotenje analogov bioaktivnih spojin iz morskih spužev rodov *Agelas* in *Theonella*

Sekundarne metabolite iz morskih spužev *Agelas* in *Theonella* odlikuje velika strukturna raznolikost kot tudi nabor raznolikih bioloških aktivnosti, zato predstavljajo obetaven vir novih spojin vodnic za razvoj zdravilnih učinkovin, kar pa omejujejo njihove izjemno majhne količine v naravnem okolju. V okviru doktorskega dela, ki je bilo umeščeno v EU projekt 7. okvirnega programa MAREX, je zato doktorand načrtoval, sintetiziral in biološko ovrednotil kemijsko dostopnejše analoge alkaloidov iz spužev rodu *Agelas* ter solomonsterolov A in B iz spužev rodu *Theonella*.

Z namenom priprave selektivnih modulatorjev napetostno odvisnih natrijevih kanalov je pripravil serijo rigidiziranih analogov klatrodina, ki so izkazali modulatorne aktivnosti na podtipih Nav1.3, Nav1.4 in Nav1.7 kakor tudi odsotnost aktivnosti na Nav1.5 podtipu napetostno odvisnih natrijevih kanalov. Pripravljeni analogi klatrodina predstavljajo potencialne kandidate za razvoj novih selektivnih blokatorjev napetostno odvisnih natrijevih kanalov, z zmanjšanimi neželenimi učinki na srčni mišici. Nekateri izmed pripravljenih analogov klatrodina in oroidina so se izkazali kot novi zaviralci razvoja bakterijskih biofilmov. Izbrane spojine – analogi alkaloidov iz morskih spužev rodu *Agelas* so izkazovale proapoptotične aktivnosti na celicah humanega hepatoma, kakor tudi na akutnih monocitnih levkemičnih celicah.

Z uporabo steroidomimetičnega pristopa je načrtoval in sintetiziral modulatorje pregnanskega-X-receptorja (PXR) na osnovi solomonsterolov A in B s steroidnim skeletom iz morskih spužev rodu *Theonella*. V prvi seriji analogov je kot mimetik steroidnega skeleta uporabil bazedoksifen in transaktivacijski eksperimenti na HepG2 celični liniji so v nasprotju z aktivnostjo solomonsterolov A in B razkrili PXR-antagonistično delovanje nekaterih steroidomimetičnih analogov, študij odnosa med strukturo in delovanjem pa pomembno vlogo hidroksilnih skupin kot donorjev vodikovih vezi pri antagonizmu PXR receptorja. Pripravljene spojine imajo potencial za zaviranje od PXR odvisnih metaboličnih reakcij prve faze. Pripravil je tudi dietilstilbestrolne analoge solomonsterolov A in B, od katerih so nekateri imeli solomonsterolu A in B podobno agonistično delovanje, drugi pa antagonistično delovanje na PXR receptorju v nizkem mikromolarnem območju.

Rezultate raziskav v okviru doktorskega dela je doktorand objavil v petih člankih v mednarodnih znanstvenih časopisih, en članek pa je bil poslan v objavo v mednarodno revijo.

Polona Žigon

Mentor: prof. dr. Borut Božič

Somentorica: doc. dr. Saša Čučnik

Vezava antiprotrombinskih protiteles v in vitro in ex vivo modelih ter njihova klinična uporabnost pri bolnikih z avtoimunskimi boleznimi

Avtoimunost je odziv imunskega sistema proti lastnemu organizmu. Če je obseg avtoimunskih reakcij velik, vodi v okvaro tkiv in nastanek avtoimunskih bolezni. Ena od njih je antifosfolipidni sindrom, ki se klinično kaže skozi venske in arterijske tromboze, zastoje rasti plodu in splave, laboratorijsko pa s prisotnostjo specifičnih avtoimunskih protiteles. Osrednja tema doktorata Polone Žigon so avtoprotitelesa proti protrombinu, enemu od dejavnikov strjevanja krvi. Doktorandka je proučevala pojav na ravni metodologije torej laboratorijske detekcije, klinične uporabnosti rezultatov v diferencialni diagnostiki in mehanizmov delovanja protiteles v procesu nastanka tromboze. Dokazala je, da jakost vezi med protitelesi in protrombinom pomembno vpliva na klinično izražanje bolezni in na laboratorijsko določljivost protiteles z različnimi diagnostičnimi orodji. Spremenjena izvedba encimsko imunske metode omogoča detekcijo tudi nizko avidnih protiteles, kar v konkretnem primeru bistveno poveča klinično uporabnost laboratorijskih rezultatov. Dokazala je, da se protrombin in posledično tudi protitelesa proti protrombinu vežejo ne samo na apoptotične, torej umirajoče celice, ampak tudi na žive celice. Preko signalne poti, ki vključuje fosforilacijo kinaz se take celice dodatno aktivirajo. Posledica je povečano izražanje tkivnega faktorja, kar lahko vodi v trombozo oziroma druge bolezenske znake antifosfolipidnega sindroma. Rezultati so objavljeni v štirih izvirnih znanstvenih člankih v revijah z dejavnikom vpliva SCI.

Marko Štefanič

Mentorica: prof. dr. Marija Bogataj
Somentor: prof. dr. Franc Vrečer

Pomen kinetike prehoda gastrozistentnih pelet skozi želodec v stanju na tešče za vrednotenje in vitro sproščanja ter in vitro / in vivo korelacijo

Sproščanje zdravilne učinkovine iz farmacevtske oblike je izjemno pomemben parameter, saj lahko močno vpliva na absorpcijo in biološko uporabnost zdravilne učinkovine, ter na terapevtski učinek zdravila. Kako se bo učinkovina sproščala iz farmacevtske oblike je odvisno od same oblike in od pogojev na mestu sproščanja, pomembno pa je tudi, koliko časa je oblika izpostavljena pogojem, značilnim za vsak del prebavnega trakta. V okviru svoje naloge je doktorand proučeval gastrozistentne pelete. Sproščanje iz njih se namreč močno razlikuje med želodcem in tankim črevesom, zato je odvisno tudi od časa zadrževanja posamezne frakcije pelet v želodcu. Postopen prehod pelet iz želodca je v *in vitro* poskusih ponazoril z različnimi časi zadrževanja v kislem mediju, in s pomočjo že prej postavljenega matematičnega modela izračunal napovedani *in vivo* profil sproščanja. Ustreznost uporabljenega pristopa je potrdil z dobro *in vitro in vivo* korelacijo, ki je z običajnim pristopom ni bilo mogoče dobiti, in jo je uspel doseči tako v farmakopejskih, kot tudi v biorelevantnih pogojih sproščanja.

Matej Repič

Mentor: doc. dr. Janez Mavri

Računalniško modeliranje katalitičnega mehanizma in zaviranja monoamin-oksidge

Dr. Matej Repič je v svojem doktorskem delu z računalniškimi metodami preučeval delovanje in zaviranje encima monoamin-oksidge, ki je ključen encim v metabolizmu dopamina, serotonina in noradrenalina in predstavlja validirano farmakološko tarčo za zdravljenje Parkinsonove bolezni in depresije. Hkrati je zaviranje monoamin oksidge tudi obetaven pristop za zaviranje odmiranja nevronov in posledične upočasnitve napredovanja nevrodegenerativnih bolezni.

V svojem raziskovalnem delu je uporabil večnivojske sklopljene metode kvantne in molekulske mehanike za preučevanje mehanizma delovanja monoamin-oksidge in v svoje doktorskem delu opisal delovanje encima na molekularnem nivoju, kar je izjemnega pomena za racionalno načrtovanje novih inhibitorjev in iz njih razvitih zdravil. Kot prvi je kvantitativno izračunal katalitični prispevek encima in pojasnil kako encim doseže pospešitev reakcije za 9 velikostnih redov.

V doktoratu se je ukvarjal tudi z zaviralci preučevanega encima in kvantitativno izračunal kolikšne so aktivacijske proste energije za reakcijo med encimom in klinično uporabljanimi inhibitorji.

Delo dr. Mateja Repiča prestavlja pomemben metodološki prispevek k slovenski znanosti, saj gre za prvo uporabo metode empirične valenčne vezi v Sloveniji, hkrati pa rezultati dela nudijo iztočnice za razvoj novih zdravil za uporabo v terapiji depresije in nevrodegenerativnih bolezni.

Dr. Matej Repič je iz teme doktorske disertacije objavil 5 člankov.

Anja Fic

Mentorica: izr. Prof. dr. Lucija Peterlin Mašič

Doktorska disertacija Anje Fic z naslovom ***In vitro* molekularni mehanizmi delovanja bisfenola A in njegovih analogov v hormonsko odzivnih celicah** spada na področje toksikologije. Tako strokovna kot laična javnost sta vedno bolj zaskrbljeni nad možnimi škodljivimi učinki, ki jih povzročajo hormonski motilci. Gre za kemikalije, prisotne v našem okolju, v hrani in potrošniških izdelkih, ki motijo delovanje hormonskega sistema. Primeri takšnih kemikalij so sestavina plastike bisfenol A (BPA) in zaviralci gorenja, s katerimi vsakodnevno prihajamo v stik. Evropska unija je povečala nadzor nad temi kemikalijami ter hkrati pozvala k razvoju varnejših alternativ. Kot nadomestne kemikalije bisfenola A in zaviralcev gorenja se uporabljajo njihovi strukturni analogi in derivati, vendar pa redke objavljene raziskave o toksičnosti teh spojin kažejo, da so tudi ti potencialni hormonski motilci, zato ne moremo trditi, da so njihova varnejša alternativa.

V okviru doktorske disertacije je Anja Fic ovrednotila potencialne molekularne mehanizme toksičnega delovanja spojin, ki zamenjujejo uporabo BPA in starejšo generacijo zaviralcev gorenja. Svoje ugotovitve je objavila v treh znanstvenih člankih v uglednih mednarodnih znanstvenih revijah s področja toksikologije.

Potrdila je, da prav tako kot BPA in starejši zaviralci gorenja tudi analogi in derivati BPA in novejši bromirani zaviralci gorenja izkazujejo aktivnost v izbranih *in vitro* metodah ter da strukturne razlike med njimi in metabolizem vplivata na molekularne mehanizme toksičnega delovanja teh spojin. Rezultati vsegenomske analize pa kažejo vpliv bisfenolov na izražanje genov, povezanih s kardiovaskularnim sistemom in razvojem zarodka. Analiza transkriptoma razkriva tudi možen vpliv BPA na imunske procese ter potencialen vpliv BPAF in BPS na sintezo izoprenoidov in

skeletni razvoj zarodka ter potrjuje, da je čas izpostavitve bistven za tip toksičnosti. Odkrila je do sedaj še neznan mehanizem toksičnosti izbranih kemikalij ter tako poglobila naše razumevanje delovanja teh spojin na molekularnem in celičnem nivoju. Pridobljeni rezultati bodo prispevali k določanju ocene tveganja teh kemikalij.

Martin Banovec

Mentor: prof. dr. Franc Vrečer

Somentor: prof. dr. Odon Planinšek

Vpliv sestave filmske obloge na njene mehanske lastnosti in adhezijo na tabletna jedra

Doktorska disertacija Martina Banovca sodi na področje farmacevtske tehnologije. Doktorand je svoje raziskovalno delo usmeril v študij adhezije filmskih oblog z izbranimi sestavami na tabletna jedra. Omenjena tematika je, kljub kljub dejstvu, da jo je obravnavalo že več raziskovalnih skupin v svetu, še vedno pušča številna vprašanja brez znanstvenega odgovora, hkrati pa je zagotavljanje ustrezne adhezije filmskih oblog na trdne farmacevtske oblike ključno za zagotavljanje ustrezne učinkovitosti, varnosti in kakovosti farmacevtskih izdelkov, torej je tematika pomembna tako z znanstveno-raziskovalnega kot tudi industrijsko-aplikativnega vidika.

Doktorand je svojo nalogo razdelil v več poglavij. V svojem eksperimentalnem delu, se je v prvem delu naloge posvetil tehnični rešitvi, t.j. izboljšanju instrumentalne metode za vrednotenje adhezije oblog na trdne farmacevtske oblike, predvsem tablete. Za izhodišče je vzel komercialni analizator teksture, za katerega je razvil orodja in jih v nadaljevanju svojega eksperimentalnega dela tudi uporabil, ki sedaj omogočajo ponovljivo in natančno merjenje sile adhezije oblog na tabletna jedra.

V nadaljevanju je preučeval vpliv tako sestave same filmske obloge oz. disperzije na izbrane, tehnološko relevantne lastnosti npr. natezno trdnost in elastičnost samega filma, tako izoliranega kot tudi realnega t.j. filmske obloge na tabletnejem jedru. Oba imenovana parametra oz. lastnosti filmskih oblog so ključne za zagotavljanje njihove ustrezne funkcionalnosti.

V zadnjem delu naloge se je posvetil raziskavi vplivov sestave filmske obloge kot tudi lastnosti tabletnih jeder na parametre adhezije obloge na jedra. Pri tem je ugotovil, da je v primeru oblaganja jeder s hidrofiličnimi filmskimi oblogami potrebno paziti na ustrezno hidrofiliteto jeder, s previsoko vsebnostjo drsil, ki so običajno hidrofobne narave, namreč lahko bistveno poslabšamo adhezijo oblog na jedra.

Rezultate svojega raziskovalnega dela v okviru doktorata je objavil v več izvirnih raziskovalnih člankih v revijah s faktorjem vpliva. Hkrati, se njegova tehnična rešitev kot tudi izsledki njegovega eksperimentalnega dela uspešno uporabljajo v podjetju Krka, d.d., Novo mesto.

Jan Fabris

Mentor: doc. dr. Zdenko Časar

Doktorand Jan Fabris se je v okviru svojega doktorskega dela z naslovom "**Sinteza nekaterih super-statinov in študija tridimenzionalne strukture njihovih analogov s pomočjo jedrske magnetne resonance.**" ukvarjal z raziskavami na področju sinteze super-statinov, ki so pomembna skupina učinkovin za zniževanje

holesterola v krvi. Del svojih raziskav je doktorand usmeril tudi v določevanje 3D strukture analogov super-statinov.

Doktorand je v okviru svojih raziskav razširil znano metodo sinteze super-statinov s pomočjo Wittigove reakcije z uporabo aldehydnega tipa kiralnega prekursorja statinske stanske verige v laktonizirani obliki na pitavastatin. Do sedaj je bila ta metoda uporabljena le na primeru rosuvastatina. Prav tako je razvil metodo za pripravo super-statinov z uporabo prej omenjenega prekursorja preko Julia–Kocienski olefinacije, ki se je izkazala kot visoko stereoselektivna in »čistejša« kot Wittigova reakcija. Tak pristop je povsem nov in prej še ni bil opisan v literaturi. Prav tako je bilo v okviru doktorata pojasnjeno prej neraziskano obnašanje Z-geometrijski izomerov super-statinov in njihovih laktoniziranih analogov pri nuklearni magnetni resonanci v raztopini, ki je posledica nastanka različnih atropomerov in/ali rotamerov.

Aleš Žula

Mentor: izr. prof. dr. Janez Ilaš

Somentor: prof. dr. Danijel Kikelj

Načrtovanje, sinteza in vrednotenje analogov alkaloidov spužev rodu *Agelas* in peptidov cianobakterij rodu *Nodularia*

Sekundarne metabolite iz morskih organizmov odlikuje velika strukturna raznolikost kot tudi nabor raznolikih bioloških aktivnosti, zato predstavljajo obetaven vir novih spojin vodnic za razvoj zdravnih učinkovin, kar pa omejujejo njihove izjemno majhne količine v naravnem okolju. V okviru doktorskega dela, ki je bilo umeščeno v EU projekt 7. okvirnega programa MAREX, je zato doktorand načrtoval, sintetiziral in biološko ovrednotil kemijsko dostopnejše analoge alkaloidov iz spužev rodu *Agelas* ter peptidov cianobakterij rodu *Nodularia*.

Morski alkaloid klatrocin izoliran iz spužev rodu *Agelas* je po literaturnih podatkih izkazoval delno blokado napetostno odvisnih natrijevih kanalov in kot tak predstavljal spojino vodnico za načrtovanje blokatorjev Na_v . Z optimizirano sintezno potjo je kandidat pripravil naravne spojine klatrocin, himenidin in oroidin v zadostni količini potrebni za biološko vrednotenje s sodobnimi tehnikami "voltage clamp" in "patch clamp" na številnih podtipih Na_v kanalov. Hkrati je pripravil tudi večje število analogov 2-aminoimidazolskih morskih alkaloidov. Pridobljeni rezultati so ovrgli predvidevanja, da klatrocin modulira Na_v kanale, so pa strukturni analogi izkazovali aktivnost na Na_v kanalih in s tem potrdili strukturo 2-aminoimidazolopirrolnih alkaloidov kot ključnega skeleta za načrtovanje novih modulatorjev Na_v kanalov.

Izbrane spojine so tudi izkazovale proapoptotične aktivnosti na celicah humanega hepatoma, kakor tudi na akutnih monocitnih levkemičnih celicah.

Doktorand se je v nadaljevanju usmeril k načrtovanju, sintezi in k biološkemu ovrednotenju analogov spumiginov, ki spadajo v skupino naravnih morskih tetrapeptidov izoliranih iz cianobakterije *Nodularia spumigena* in vsebujejo zaporedje D-Phe-Pro-Arg, direktnih inhibitorjev trombina. Pripravljeni analogi spumigina so izkazovali inhibicijo trombina v nizkem mikromolarnem območju. Rezultati predstavljajo izviren prispevek pri načrtovanju novih inhibitorjev trombina, kot pomembne tarče pri razvoju novih antikoagulantnih učinkovin

Rezultate raziskav v okviru doktorskega dela je doktorand objavil v sedmih člankih v mednarodnih znanstvenih časopisih, en članek pa je bil poslan v objavo v mednarodno revijo.

Tanja Šuligoj

Mentor: prof. dr. Borut Božič

Somentorica: prof. dr. H. Julija Ellis

Ugotavljanje imunogenosti glutenskih peptidov pri celiakiji

Celiakija je vnetna črevesna bolezen, ki jo sproži uživanje glutena v žitih pri posameznikih z genetsko pogojenostjo. Tanja Šuligoj je raziskovala škodljivost glutena v treh smereh: preverjala je klinično uporabnost rezultatov nekaterih laboratorijskih metod v diagnostiki celiakije, ugotavljala je mehanizme sprožitve imunskega odziva limfocitov T s strani različnih sort pšenic in nadgrajevala možnosti imunokemijskega določanja vsebnosti glutena ter s tem nadzora varnosti hrane za bolnike s celiakijo. Dve hipotezi je potrdila, eno pa z ustreznim pristopom zavrgla. Dokazala je, da maltazna aktivnost ne more služiti kot pokazatelj toksičnih učinkov glutena na celice črevesja, saj ostaja tudi po odmrtnju celic v kulturi. Dokazala je, da so tudi glutenini kot ena izmed dveh skupin založnih proteinov v glutenu škodljivi za bolnike s celiakijo. Z uporabo testa proliferacije na gluten-specifičnih linijah limfocitov T in merjenjem višine enterocitov bolnikov s celiakijo je pokazala, da imajo testirani predstavniki gluteninov sposobnost sprožitve prirojenega imunskega odziva, pri manjšini bolnikov pa tudi pridobljenega. Bolniki z nezdravljeno celiakijo imajo povišane ravni protiteles proti podenotam gluteninov z visoko molekulsko maso, vendar pa le-ta niso uporabnejša v diferencialni diagnostiki celiakije od že uporabljenih označevalcev bolezni. Razmerja med glutenini in gliadini v vzorcih škroba variirajo v širokem obsegu, zato samo računski pristop ocene gluteninov ni ustrezen; za varno prehrano bi bilo potrebno uporabljati kontrolo z razširjenim repertoarjem monoklonskih protiteles. Pri tem pa starodavne pšenice v splošnem niso bolj varne za bolnike s celiakijo od novodobnih. Rezultati so objavljeni v treh izvirnih znanstvenih člankih v revijah z dejavnikom vpliva SCI, eden je 6,5.

Katja Lakota

Mentorica: doc. dr. Snežna Sodin-Šemrl

Somentor: prof. dr. Borut Božič

Vloga serumskega amiloida A pri vnetju in njegov vpliv na pridobljeno imunost

Katja Lakota je v doktorskem delu raziskovala fiziološke in patološke vplive akutno faznega proteina serumskega amiloida A (SAA) na humane endotelijske celice koronarne arterije (HCAEC), njegov diagnostični pomen in njegovo prepletanje v naravni in pridobljeni imunski odziv.

Ker je SAA evolucijsko ohranjen protein akutne faze in pokazatelj vnetja je pomembno meriti in zasledovati njegove nivoje v cirkulaciji. Izražanje SAA je zvišano tako v akutnem kot pri kroničnem vnetju. Iz doktorskega dela so prišli naslednji zaključki:

1. HCAEC so lahko boljši celični model vnetja in aterogeneze kot HUVEC, kar je pomembno, ker je prav ateroskleroza koronarnih arterij najpogostejši vzrok smrti v razvitem svetu.
2. HCAEC in HUVEC izražajo vse do sedaj opisane receptorje za SAA. Znotraj HCAEC, SAA povzroči fosforilacijo ERK1/2, JNK, NF-KBp65, NF-KBp105 in vodi v povečano izločanje citokinov in kemokinov.

3. SAA v HCAEC poveča tudi izražanje TLR2. Od SAA signaliziranja prek TLR2 je v HCAEC v veliki meri odvisno izražanje tudi GM-CSF, ICAM-1, IL-6, ki so značilni za aktivacijo nevtrofilcev. SAA v HCAEC ni povzročil izražanja genov pomembnih za monocitno/makrofagno aktivacijo. Tako bi SAA lahko spodbudil najzgodnejši, nevtrofilno odvisni del aterogeneze.
4. HCAEC prek TLR2 avtokrino izražajo SAA.
5. Večji del celičnega SAA kolokalizira z mikrotubuli. SAA se nahaja tudi nevezan v citoplazmi, nakazuje se tudi možno izmenjevanje proteina med celicami po nanotubah. SAA je bil najden tudi v jedru HCAEC.
6. Na pomembno fiziološko vlogo in potrebo po natančnem prepoznavanju SAA kažejo tudi protitelesa proti SAA. Prisotna so v serumih 98% zdravih krvodajalcev, kar jih uvršča med kandidate za naravna protitelesa.
7. SAA kolokalizira tudi z znotrajceličnimi bakterijskimi kolonijami uropatogenih *E.coli* in pripelje do zaviranja formacije bakterijskega biofilma in tako lahko zaključimo, da ima SAA protimikrobne lastnosti.

Kot mentorica ugotavljam, da je Katja Lakota doktorsko delo uspešno zaključila. Med leti 2010 in 2014 je objavila ali sodelovala pri objavi 11 originalnih znanstvenih člankov (od teh kar 6, s prvim avtorstvom), 2 preglednih člankih, 3 poglavij v knjigah ter pri 1 patentni prijavi. Katja Lakota je bila nagrajena tudi z Fulbrightovo 9-mesečno štipendijo, katero je financirala Ameriška vlada.

Marko Slana

Mentorica: prof. dr. Marija Sollner Dolenc

Razgradnja enrofloksacina v iztrebkih piščancev pitancev

Enrofloksacin je eden najbolj uporabljenih protimikrobnih učinkovin pri intenzivno rejenih živalih, predvsem pa prevladuje v terapevtskem zdravljenju pri perutnini. Izločki tretiranih ali netretiranih živali se kompostirajo in nato raztresejo po poljih, zato je koncentracija enrofloksacina, ki prehaja v okolje, odvisna predvsem od načina in količine apliciranega zdravila, pa tudi od dolžine terapije. Kako dolgo bo posamezna učinkovina prisotna v okolju in kakšni bodo njeni ekotoksikološki vplivi, je odvisno predvsem od fizikalno-kemijskih, razgradnih ter toksikoloških lastnosti učinkovine. Zaradi široke uporabe enrofloksacina, njegovega potencialnega zadrževanja v okolju in prenosa v prehranjevalno verigo je doktorand Marko Slana skušal v svoji doktorski disertaciji raziskati, kakšna je razgradnja EF in njegovih metabolitov v iztrebkih v intenzivni reji piščancev ter v laboratorijski raziskavi izvedeni v skladu s predpisi EMA.

Raziskava je pokazala, da se v piščančjih izločkih pojavlja 72,3 % nespremenjenega enrofloksacina, 25,5 % ciprofloksacina, 0,9 % dezetilen-enrofloksacina in 0,3 % dezetilen-ciprofloksacina. Spremljanje razgradnje metabolitov v hlevu, v fazi rejnega cikla piščancev, je pokazalo, da se enrofloksacin in ciprofloksacin deloma razgrajujeta v iztrebkih že v hlevu pred prenosom iztrebkov v naravo. Prav tako je v hlevski fazi narastla koncentracija dezetilen-enrofloksacina, ki je metabolni in razgradni produkt enrofloksacina. Spremljanje koncentracije analitov v kompostiranih iztrebkih v naravi je pokazalo, da se razgradnja enrofloksacina in ciprofloksacina ter tvorba dezetilen-enrofloksacina v naravi nadaljuje. V kompostiranih iztrebkih je zasledil tudi nov razgradni produkt; hidroksiliran enrofloksacin. Vzporedno spremljanje razgradnje enrofloksacina pod različnimi laboratorijskimi pogoji je

pokazalo, da je razgradnja erofloksacina pod laboratorijskimi pogoji počasnejša v primerjavi z naravnimi pogoji.

Na osnovi podatkov, ki jih je v svojem doktorskem delu pridobil Marko Slana in ostalih do sedaj že objavljenih podatkih lahko zaključimo, da se enrofloksacin razgrajuje pod različnimi pogoji prisotnimi v okolju, zato so njegovi preostanki v okolju minimalni in posledično ne predstavljajo tveganja za okolje in človeka.

Rok Šibanc

Mentor: doc. dr. Rok Dreu

Numerično modeliranje dvofaznega toka v Wursterjevi komori z računalniško dinamiko tekočin

Disertacijo je izdelal ob mentorstvu doc. Roka Dreu. Eksperimentalno delo je opravil na Fakulteti za farmacijo. V svoji doktorski disertaciji se je Rok Šibanc ukvarjal z razvojem numerične simulacije dvofaznega toka zrak-delci znotraj klasične in modificirane Wursterjeve procesne komore za oblaganje delcev ter z eksperimentalno validacijo rezultatov simulacije. Za namen modeliranja sistema je izbral pristop računalniške dinamike tekočin, kjer je v Euler-Euler simulaciji dvofaznega toka izbral ustrezne modele, predpisal realne začetne in robne pogoje ter celoten popis sistema dopolnil z lastnimi funkcijami. Eksperimentalno je sistem popisal z vrednotenjem lokalnega volumskega deleža delcev z metodo transmisije in z vrednotenjem lokalne hitrosti delcev z metodo dvojnega osvetljevanja. Razumevanje odziva sistema oblaganja delcev je zaokrožil z razvojem inovativne metode za slikovno vrednotenje debeline obloge na posameznih delcih. Originalni znanstveni prispevek disertacije je zasnova dvo- in tridimenzionalne Euler- Euler simulacije dvofaznega toka pelete-zrak v komori za oblaganja delcev, ki je bila potrjena z rezultati eksperimentalnih meritev. Uporabna vrednost razvitih simulacij se je pokazala s tem, da je doktorand skozi serijo numeričnih eksperimentov uspel pokazati vpliv izbranih procesnih in snovnih spremenljivk na lokalne volumske deleže in hitrosti pelet. Z opisanimi vplivi lahko na kvalitativnem nivoju predvidimo izid eksperimentov oblaganj. Z izvedbo tridimenzionalnih simulacij za klasično Wursterjevo komoro in modificirano Wursterjevo komoro z generatorjem vrtnčenja je doktorandu uspelo pokazati na bistveno razliko v trajektorijah različno velikih pelet med obema sistemoma in s tem prispeval k razumevanju nastanka oblog različne kakovosti. Rezultate raziskovalnega dela, vezanega na doktorsko disertacijo, je doslej objavil v dveh člankih, v prestižni reviji iz prve četrtine.

Nataša Nagelj Kovačič

Mentorica: prof. dr. Marija Bogataj

Vpliv sestave umetnih želodčnih medijev v pogojih po obroku na sproščanje učinkovin iz ogrodnih tablet na osnovi hidroksipropil metil celuloze

Sproščanje zdravilne učinkovine iz farmacevtske oblike pogosto močno vpliva na absorpcijo in biološko uporabnost zdravilne učinkovine, ter na terapevtski učinek zdravila. Kako se bo učinkovina sproščala iz farmacevtske oblike je odvisno od same oblike in od pogojev na mestu sproščanja; pomembna je tudi prisotnost zaužite hrane v prebavnem traktu in koliko časa je oblika izpostavljena pogojem v posameznih delih prebavnega trakta. V okviru svoje naloge je doktorandka spremljala sproščanje v

kompleksnih medijih, ki ponazarjajo pogoje v želodcu po zaužitju hrane in ugotovila, da jih lahko z enostavnimi mediji, v katerih spreminjamo samo pH vrednost, ponazorimo v omejenem obsegu. Da bi lahko pojasnila mehanizme v ozadju teh dogajanj, je v naslednji fazi s simulacijo pogojev na tešče pokazala na velik in ključen vpliv pH želodčnega medija in časa zadrževanja farmacevtskih oblik v njem, ne samo na sproščanje modelne zdravilne učinkovine, ampak tudi na njene simulirane plazemske koncentracijske profile. V *in vitro* sistemu je uspela ponazoriti tudi pogoje v želodcu po zaužitju sadnega soka, identificirala ključne komponente, ki v tem mediju vplivajo na sproščanje učinkovine, in tako odprla vrata raziskavam mehanizmov interakcij, ki so v ozadju teh procesov.

Dobljene rezultate je Nataša Nagelj Kovačič, objavila v dveh znanstvenih člankih v revijah z visokim faktorjem vpliva.

Klemen Naveršnik

Mentor: prof. dr. Aleš Mrhar

Vloga korelacij v farmakoekonomskih modelih

Glavnino doktorandovega raziskovanja predstavlja proučevanje korelacij v farmakoekonomskih modelih. Le-ti so lahko enostaven set matematičnih enačb, ki iz vhodnih spremenljivk generirajo farmakoekonomski rezultat, lahko pa so tudi rezultat kompleksne simulacije velikega števila vhodnih spremenljivk. V splošnem so vhodni podatki učinkovitost zdravil, incidence oz. prevalence zdravstvenih stanj, ocene zdravstvene koristnosti raznih stanj ter stroški izdelkov in storitev. Glavni izhod modela pa so inkrementalni stroški in inkrementalne koristi izračunane za vse intervencije, ki jih primerjamo. Ko pa so vhodne in izhodne spremenljivke podane kot porazdelitve, govorimo o stohastični analizi negotovosti. Po sistematičnem pregledu literature je doktorand ugotovil, da prav na tem področju obstaja deficit znanja. Postavil si je dve hipotezi: prvič, v določenih primerih je predpostavka o neodvisnosti vhodnih parametrov neupravičena, kar pomeni, da vhodne korelacije močno vplivajo na rezultate farmakoekonomske analize, in drugič, izhodne korelacije imajo vpliv na rezultate farmakoekonomske analize in velikost negotovosti.

Jedro doktorske disertacije predstavljajo 4 objavljeni članki v revijah z visokim dejavnikom vpliva in doktorandom kot prvim avtorjem. Postavljeni hipotezi je potrdil v prvih dveh člankih, ki vsebujeta metodološka dognanja s področja korelacij v farmakoekonomskih analizah, druga dva članka pa opisujeta ekonomski vidik nove e-storitve s področja depresije in predstavljata lep primer ilustracije pomena korelacij med spremenljivkami. Predložena disertacija predstavlja originalen prispevek k znanosti na področju stohastičnih farmakoekonomskih analiz.

Doktorand Klemen Naveršnik je prejel dekanovo nagrado Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani za leto 2014 za znanstveni članek objavljen v reviji *Journal of Medical Internet Research*, ki je vodilna v kategoriji *Medical Informatics*.

Nejc Horvat

Mentor:izr. prof. dr. Mitja Kos

Vrednotenje lekarniške dejavnosti z vidika pacientov in stroke

Namen raziskovalnega dela Nejca Horvata, mag. farm. je bil razvoj zanesljivih in veljavnih instrumentov ter metodologij vrednotenja lekarniške dejavnosti ter s tem tudi ovrednotenja nivoja lekarniške dejavnosti z vidika pacientov in stroke. Lekarniška dejavnost namreč predstavlja mesto izdaje zdravil in strokovnega svetovanja o zdravilih, magister farmacije pa je običajno zadnji v verigi zdravstvenih delavcev, ki pacienta pospremi z ustreznim nasvetom.

Za namen ovrednotenja lekarniške dejavnosti z vidika pacientov je bil v okviru doktorske disertacije razvit in validiran instrument za vrednotenje zadovoljstva pacientov z lekarniškimi storitvami. Pacienti so izkazovali visoko zadovoljstvo z lekarniškimi storitvami, saj je bila povprečna ocena 83 % maksimalne možne ocene. Najmanj so bili zadovoljni s strukturo lekarne, predvsem z organizacijo prostorov v smislu zagotavljanja zasebnosti. Relativno slabše ocenjene so bile tudi postavke, ki naslavlajo svetovanje farmacevta o varnosti zdravljenja z zdravili, to je neželenih učinkih, interakcijah in kontraindikacijah. Pacienti so bili drugače zelo zadovoljni z odnosom, ki so jih imeli farmacevti do njih.

Z vidika stroke je bila lekarniška dejavnost ovrednotena tako pri izdaji zdravil na recept, kot tudi brez recepta.

Svetovanje ob izdaji zdravil brez recepta je bilo ovrednoteno na primeru izdaje paracetamola. V ta namen je bila uporabljena metoda navideznih pacientov v 17 zunanjih lekarnah. Farmacevti so svetovali bistveno več, če je pacient predstavil simptome, kot če je neposredno zahteval določen izdelek. Najpogosteje podane informacije so bile odmerjanje in neželeni učinki. Rezultati kažejo na možnost nadgradnje obstoječih praks v smeri boljše prepoznave potencialno tveganih uporab zdravil.

Izdaja zdravil na recept z vidika stroke je bila ovrednotena s pomočjo dejanskih pacientov. V ta namen je bil pripravljen vprašalnik, s pomočjo katerega je bilo ovrednoteno znanje pacientov o zdravilih na recept, ki jih prejema. Opravljenih je bilo 400 intervjujev pred 20 naključno izbranimi lekarnami. Rezultati so pokazali, da večina pacientov pozna namen svojega zdravila, odmerek, pogostost jemanja, čas aplikacije in način aplikacije. Med 80 in 90 % pacientov je vedelo tudi, kako jemati zdravilo s hrano, kolikšno je trajanje zdravljenja in kako bodo prepoznali, da zdravilo deluje. Slabše znanje so imeli pacienti o varnostnih vidikih uporabe zdravil. Le 18 % pacientov je vedelo karkoli o relevantnih tveganjih ob jemanju zdravila in le 27 % je vedelo karkoli o neželenih učinkih svojega zdravila. Odgovori pacientov so bili drugače večinoma konsistentni z zapisi v Povzetkih glavnih značilnosti zdravil.

Emilija Arsovska

Mentorica: izr. prof. dr. Anamarija Zega

Načrtovanje inhibitorjev bakterijskih encimov D-alanil:D-alanin ligaze (DdIB) in ligaze MurD z uporabo NMR spektroskopije

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.

Emilija Arsovska je v okviru svojega doktorskega dela dokazala uporabnost NMR spektroskopije na različnih nivojih načrtovanja zaviralcev dveh bakterijskih encimov,

ki sodelujeta v procesu biosinteze peptidoglikana, in sicer ligaze MurD in D-alanil-D-alanin ligaze.

Doktorandka je z uporabo pristopa načrtovanja novih zdravilnih učinkovin na osnovi fragmentov (FBDD) z uporabo NMR spektroskopije načrtovala in nato pripravila strukturno nove tipe zaviralcev encimov DdlB in MurD ligaze.

Sodelovala je pri optimizaciji zaviralcev encima (DdlB) D-alanil-D-alanin ligaze iz družine 6-arilpirido[2,3-*d*]pirimidinov in s pomočjo NMR spektroskopije potrdila vezavo izbranih zaviralcev na encim ter določila lego zaviralcev v vezavnem mestu encima.

V nadaljevanju doktorskega dela je potrdila uporabnost NMR spektroskopske metode za detekcijo Michaelovih akceptorjev in tako tudi lažno pozitivnih zadetkov ter raziskala reaktivnost benziliden rodaninov in benziliden barbituratov, ki so se izkazali za zaviralce bakterijskih Mur ligaz, obenem pa se v literaturi pojavljajo domneve, da so take spojine le lažno pozitivni zaviralci.

Rezultati raziskovalnega dela Emilije Arsovske so bili objavljeni v dveh izvirnih znanstvenih člankih in enem preglednem članku v mednarodnih revijah s faktorjem vpliva, del njenih rezultatov pa je zbran še v rokopisu članka, poslanega v objavo.

Nina Brvar

Mentor: izr. prof. dr. Iztok Grabnar

Vrednotenje kinetike absorpcije učinkovin za farmacevtske oblike s takojšnjim in prirejenim sproščanjem

Področje doktorske disertacije Nine Brvar je farmakokinetična analiza procesov absorpcije zdravilnih učinkovin. Ta ima pomembno vlogo pri razvoju novih farmacevtskih oblik, saj omogoča razvoj *in vitro* – *in vivo* korelacije in z njo napoved farmakokinetičnih profilov na osnovi rezultatov testov *in vitro*. Kandidatka je ovrednotila absorpcijo tramadola in alprazolama iz farmacevtskih oblik s takojšnjim in podaljšanim sproščanjem. Preizkusila je različne metode za vrednotenje kinetike absorpcije učinkovin, in sicer Wagner-Nelsonovo metodo, Loo-Riegelmanovo metodo ter dekonvolucijo točka-površina. Uporabila je tudi pristope populacijske farmakokinetične analize in preizkusila različne modele dispozicije in absorpcije učinkovin, kot sta inverzna Gaussova funkcija in model prehodnih prostorov. Kandidatka je rezultate različnih metod analizirala in opredelila prednosti in slabosti posamezne metode.

Temeljna hipoteza njene doktorske disertacije je, da je z uporabo naštetih metod in rezultatov bioekvivalenčnih študij po dajanju farmacevtskih oblik s takojšnjim in prirejenim sproščanjem, brez podatkov po intravenskem dajanju učinkovine, možna analiza kinetike absorpcije učinkovin. Poznavanje teh metod pa omogoča večjo uporabnost obstoječih rezultatov bioekvivalenčnih študij in predstavlja kompetitivno prednost v razvoju novih generičnih zdravil.

Kandidatka je ugotovila, da je za uporabo klasičnih od modela odvisnih metod vrednotenja kinetike absorpcije ključno poznavanje dispozicije učinkovine, ki predstavlja osnovo za izbiro prave metode. V okviru disertacije je kandidatka razvila in objavila programsko kodo NONMEM za analizo absorpcije učinkovin z inverzno Gaussovo funkcijo pri večkratnem dajanju zdravila. Pristop nelinearnega modeliranja mešanih učinkov se je izkazal kot koristno orodje za sočasno analizo podatkov po enkratnem in večkratnem dajanju oblik s takojšnjim in podaljšanim sproščanjem učinkovine. Poudariti velja tudi uporabo kombinacije obeh pristopov, ki predstavlja

originalni prispevek k znanosti. Ta v literaturi še ni opisana, omogoča pa verjetnostno analizo kinetike absorpcije ob minimalnem številu predpostavk o kinetiki absorpcije. Rezultati raziskav doktorskega dela so vidni in so mednarodno primerljivi, kar je razvidno iz doktorandkine bibliografije.

Bosa Mirjanić – Azarić

Mentor: prof. dr. Darko Černe

Proučevanje izražanja genov odgovornih za pleiotropne učinke atorvastatina z analizo mRNA v plazmi bolnikov s stabilno angino pectoris

Ugodne učinke statinov na žilno steno, neodvisne od znižanja holesterola LDL, imenujemo pleiotropični učinki statinov. Model statinske pleiotropije se še vedno razvija. Podpirajo ga predvsem rezultati raziskav *in vitro*, kliničnih dokazov pa je še vedno malo. Številne nejasnosti na tem področju so zagotovo posledica tudi odsotnosti definitivnega označevalca statinske pleiotropije.

V raziskovalnem delu je doktorandka Bosa Mirjanić Azarić preučevala vpliv statinov na gene žilne stene vpletene v etiologijo ateroskleroze in sicer z merjenjem njihovih mRNA v plazmi. Najprej je optimizirala obstoječe in razvila nove postopke merjenja mRNA v plazmi, tistih, ki izvirajo iz pleiotropičnih genov žilne stene; nato pa v klinični študiji preučevala vpliv atorvastatina na omenjene gene pri statinsko naivnih bolnikih s stabilno angino pectoris. Merjenje izvenseličnih mRNA v plazmi omogoča neinvazivno analizo izražanja genov žilne stene *in vivo* – v humanem modelu ateroskleroze.

Dokazala je, da zdravljenje z atorvastatinom (20 mg/dan, 10 tednov) neodvisno od znižanja holesterola LDL zmanjša izražanje genov za MCP1, ICAM1 in VCAM1. Pojasnila je nasprotujoče izsledke predhodnih raziskav na tem področju. Odkrila je nov, ugoden pleiotropični učinek atorvastatina na katepsin S: zdravljenje znižuje ekstracelularno koncentracijo in aktivnost katepsina S ter istočasno in neodvisno izboljša aterogeni LDL profil, pri tem pa ne spreminja izražanja gena za katepsin S. Zdravljenje z atorvastatinom zviša tudi koncentracijo bilirubina v plazmi, vendar vzrok temu ni zvečano izražanje gena za hem oksigenazo 1.

S sočasnim merjenjem aterosklerotičnih mRNA in njihovih proteinov v plazmi je potrdila, pojasnila in odkrila nove ugodne pleiotropične učinke atorvastatina na žilno steno in sicer *in vivo* ter na humanem modelu ateroskleroze. Izviren analitski pristop (sočasno merjenje aterosklerotičnih mRNA in njihovih proteinov v plazmi) pa predstavlja izjemno aplikativno vrednost tudi za prihodnja neinvazivna preučevanja mehanizmov aterogeneze *in vivo*.

Mateja Egart

Mentor: prof. dr. Stane Srčič

Somentorica: doc. dr. Biljana Janković

Vrednotenje strukturno-mehanskih lastnosti zdravilnih učinkovin z instrumentalno nanoindentacijo ter njihov pomen pri izdelavi tablet

Ekperimentalno delo je opravila na Fakulteti za farmacijo in Naravoslovnotehniški fakulteti.

Cilj disertacije je bil proučiti mehanske lastnosti polimorfni oblik zdravilnih učinkovin s tehniko instrumentalne nanoindentacije. Doktorandka je za izhodišče postavila hipotezo, da je na osnovi študij mehanskih lastnosti na nivoju posameznih kristalov

(delcev) mogoče napovedovati obnašanje materiala na razsežnostnem nivoju pri tehnoloških procesih drobljenja, mešanja in komprimiranja. V nalogi je predvsem proučevala povezavo s procesom komprimiranja, ki se uporablja pri izdelavi najbolj uporabljane oblike zdravil, t.j. tablete.

Materiali, ki jih uporabljamo pri izdelavi zdravil, so v procesih izdelave izpostavljeni različnim mehanskim obremenitvam in je zato za optimalno izdelavo nujno poznati, v kolikšni meri so materiali elastični, plastični in kako se, če se, tudi lomijo.

Doktorandka je izbrala nekaj modelnih učinkovin, njihove polimorfne modifikacijo pa je potrdila z rentgensko analizo in s termično analizo.

Vpliv različne urejenosti molekul v kristalu je proučila na primeru antiulkusne učinkovine famotidina, kjer je meritve izvedla na obeh znanih polimorfni oblikah, A in B. Vrednosti Young-ovega modula elastičnosti, sta bili podobni za obe obliki. Signifikantne razlike pa je potrdila pri vtisni trdnosti, s katero ocenimo plastičnost materiala. Polimorfna oblika B je imela precej nižjo vrednost vtisne trdnosti in s tem bolj izraženo plastičnost. Pri tej strukturi je ugotovila, da so molekule v kristalu urejene tako, da tvorijo drsne ravnine, ki zagotavljajo plastičnost te oblike. Molekule v modifikaciji A pa so močno premrežene z vodikovimi vezmi v vseh smereh in taka struktura je zato veliko bolj toga in manj plastična. V nadaljevanju je to različnost plastičnosti obeh oblik potrdila tudi na razsežnostnem nivoju delcev s Hecklovo in Walkerjevo analizo, ki se sicer uporabljata študijah izdelave tablet. Potrdila je pravilnost postavljene izhodiščne hipoteze, t.j., korelacijo mehanskih lastnosti med mikro in razsežnostno skalo.

Del rezultatov disertacije je že objavljeno v dveh vrhunskih revijah s področja, ostali pa so v postopkih objavljanja in priprave.

Doktorandka je v svojem delu pokazala na izjemno uporabnost instrumentalne nanoindentacije pri študijah deformacije materialov na majhnem vzorcu, kar je predvsem pomembno v zgodnji fazi razvoja zdravila.