

## **Miha Jaklič**

Mentor: prof. dr. Stane Srčič

Somentor: doc. dr. Klemen Kočevar

### **Segregacija v vertikalnih cevni povezavah z zaprtim dnom: obravnava procesa s postopkom numerične analize tokov in eksperimentalno potrditvijo modela**

Gravitacijski transport po vertikalnih cevni povezavah je osnoven in hkrati ključen proces transporta praškastih snovi v farmacevtski industriji. Gibanje pa predstavlja priložnost za mešanje snovi in hkrati za njeno segregacijo, kar ima znaten vpliv na enakomernost vsebnosti in druge ključne biofarmacevtske lastnosti končnih farmacevtskih izdelkov.

Spoznanja v doktorski disertaciji dr. Mihe Jakliča osvetljujejo problematiko segregacije v vertikalnih cevni povezavah tako s teoretičnega kot s praktičnega vidika. V eksperimentalnem delu je nazorno prikazal komplementarnost eksperimentalne in simulacijske obravnave tokovnih struktur in segregacije: eksperiment potrjuje simulacijo, hkrati pa simulacija dodaja vpoglede v obravnavani proces z ločljivostjo in prostostno stopnjo, ki jo z eksperimentom težko dosežemo. Z opredelitvijo obsega segregacije na enokomponentnih materialih je obravnaval problematiko segregacije z novega zornega kota. Prvi je pokazal, kakšen je realen obseg variacij velikosti delcev pri takšni segregaciji, ugotovljene razlike pa je obravnaval s stališča vpliva na kakovost končnega izdelka, saj se je posebej posvetil kvantifikaciji segregacije pomožnih snovi, ki se uporabljajo v realnih farmacevtskih izdelkih.

Za prakso pomemben rezultat je predvsem ugotovljen velik obseg segregacije v primeru modificirane celuloze, hipromeloze, ki bi lahko izkazoval tudi vpliv na kinetiko sproščanja učinkovine iz ogrodnih tablet z nadzorovanim sproščanjem. Drugi, za prakso prav tako pomemben podatek pa je, da je pri kombinaciji mikrokristalne celuloze in laktoze sušene z razprševanjem opaziti nizko tendenco segregacije v širšem koncentracijskem območju.

Nikakor pa ne gre prezreti originalnih izsledkov na področju poznavanja tokovnih struktur v vertikalnih cevni povezavah. V nalogi je prvič jasno in podrobno opisana razlika v tokovnih strukturah in pretoku granularne snovi, ki jo pogojuje način izpusta: zaprta cev, odprta cev ali pa izpust v prazno, kar bo pomembno pri uvajanju optimalnih rešitev v realnih industrijskih procesih. Dr. Jaklič, kot industrijski raziskovalec na področju razvoja novi farmacevtskih oblik svoje ugotovitve že vpeljuje v vsakdanjo prakso.

Pristop v obravnavi segregacije granularne snovi v vertikalnih cevni povezavah je lahko z manjšimi modifikacijami praktično uporaben tudi v drugih gospodarskih panogah.

Rezultate svojega raziskovalnega dela je objavil v dveh mednarodnih revijah s faktorjem vpliva in sodeloval je na več mednarodnih konferencah.

## **Tina Roblek**

Mentor:izr. prof. dr. Mitja Lainščak

Somentor: prof. dr. Aleš Mrhar

## **Vloga kliničnega farmacevta pri obravnavi klinično pomembnih interakcij med zdravili pri bolnikih s srčnim popuščanjem**

Srčno popuščanje je povezano z zmanjšano funkcijo organskih sistemov in številnimi komorbidnostmi. Smernice priporočajo intenzivno farmakoterapijo, katere dosledna uporaba pogosto lahko vodi do klinično pomembnih interakcij med zdravili. Kljub možnemu vplivu na potek in tudi izhod bolezni je raziskav na tem področju relativno malo.

Kandidatka je v prvi fazi doktorske naloge opravila sistematičen pregled literature o programski opremi za ugotavljanje interakcij med zdravili. Na osnovi rezultatov je izbrala ustrezno orodje za ocenjevanje interakcij pri hospitaliziranih bolnikih s srčnim popuščanjem. Ugotovila je, da so interakcije, pri katerih je smiselna sprememba zdravljenja, relativno pogoste. Rezultati raziskave so omogočili načrtovanje prospektivne raziskave, vključno z izračunom velikosti vzorca.

Protokol randomizirane dvojno slepe s placebom kontrolirane intervencijske raziskave je bil objavljen v spletni bazi ClinicalTrials. Doktorandka je pregledala farmakološko zdravljenje bolnikov s srčnim popuščanjem ob sprejemu v bolnišnico in pripravila seznam potencialnih interakcij med zdravili. Skupina zdravnikov je ocenila, katere interakcije so bile klinično pomembne. Doktorandka je nato pripravila nasvet kliničnega farmacevta, ki ga je po vnaprej pripravljeni randomizaciji prejel lečeči zdravnik polovice bolnikov. S tako intervencijo smo uspeli pomembno znižati število bolnikov z in število klinično pomembnih interakcij v intervencijski skupini, kar pa se ni prevedlo v manjše število z bolniki povezanih dogodkov po 6 mesecih spremljanja.

Rezultati doktorskega dela so bili objavljeni v 3 člankih v priznanih mednarodnih revijah in poudarjajo pomen dela kliničnega farmacevta v obvladovanju kompleksne farmakoterapije bolnikov s kroničnimi boleznimi.

### **Marko Jukić**

Mentor: izr. prof. dr. Marko Anderluh

## **Uporaba naravnih spojin vodnic ter in silico podprto reševanje kemijskih knjižnic pri načrtovanju in sintezi novih protibakterijskih učinkovin in modulatorjev ionskih kanalčkov**

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

Marko Jukić je za načrtovanje strukturnih analogov spojin vodnic iz morskih spužev rodu *Agelas* uporabil klasične farmacevtsko-kemijske pristope kot tudi moderne in silico metode virtualne kombinatorične kemije in farmakofornega modeliranja. Na podlagi izračunanih in predvidenih lastnosti je predlagatelj pripravil usmerjeno knjižnico analogov spojin vodnic. Pripravljene spojine je biološko ovrednotil s celičnimi testi na več tipih napetostno odvisnih natrijevih kanalčkov s pomočjo partnerjev iz Univerze v Leuvenu (Belgija) in farmacevtskega podjetja Xention (Združeno Kraljestvo). Na osnovi teh izsledkov je identificiral strukturne elemente odgovorne za delovanje na napetostno odvisnih natrijevih kanalčkih in pripravil

spojine s piperazinskim skeletom, ki so izkazovale zmerno mikromolarno, vendar selektivno delovanje na tip 1.3 napetostno odvisnih natrijevih kanalčkov.

Spojini vodnici oroidin in klatrodin iz morskih spužev Agelas je Marko Jukič uporabil tudi za načrtovanje zaviralcev DNA giraze B. Z uporabo metod molekulskega sidranja je identificiral tri strukturne razrede potencialnih zaviralcev DNA giraze B, jih sintezno pripravil ter biološko ovrednotil na izoliranem encimu iz bakterijskega seva *E. coli*. Rezultat so bili strukturno novi zaviralci DNA giraze B v nanomolarnem območju konstant zaviranja z razdelanim odnosom med strukturo in delovanjem ter predstavljajo obetavno izhodišče za sledečo optimizacijo in razvoj klinično uporabnih novih protimikrobnih učinkovin. V nasprotju z zaviralci DNA giraze B z znanim mehanizmom delovanja, a odsotnostjo močnega protibakterijskega učinka pa je končni rezultat disertacije tudi serija novih protibakterijskih učinkovin z izotiazolidinonskim skeletom s potrjenim protibakterijskim učinkom.

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

### **Anja Menard Srpčič**

Mentorica: prof. dr. Damjana Drobne

#### **Časovna odvisnost odziva modelnega nevretenčarskega organizma (kopenski rak enakonožec, *Porcellio scaber*, *Isopoda*, Crustacea) na nanodelce TiO<sub>2</sub> v hrani**

V doktorski disertaciji je kandidatka preučevala strupene učinke nanodelcev TiO<sub>2</sub> za modelni nevretenčarski organizem (kopenski rak enakonožec, *Porcellio scaber*, *Isopoda*, Crustacea). Nanodelci TiO<sub>2</sub> so vsestransko uporaben nanomaterial, predvsem zaradi svoje protimikrobne aktivnosti, fotokatalitične sposobnosti in zaščite pred ultravijoličnim sevanjem in se uporablja kot dodatek h hrani, v kozmetiki, zdravilih, sončnih celicah, itd.

Glavni namen doktorske disertacije je bil opisati časovno odvisnost odziva modelnega nevretenčarskega organizma *P. scaber* na nanodelce TiO<sub>2</sub> v hrani. Za preučevanje strupenih učinkov nanodelcev TiO<sub>2</sub> na modelni organizem *P. scaber* je kandidatka uporabila ekotoksikološki laboratorijski test določanja strupenosti kemikalij s kopenskim rakom, ki omogoča merjenje odzivov na različnih nivojih biološke organizacije. Za namen testiranja pa je izpopolnila histopatološke analize prebavnih žlez. S histološkim vrednotenjem je opisala različna fiziološka stanja testiranih organizmov, medtem ko je na ravni organizma opazovala vpliv nanodelcev TiO<sub>2</sub> na samo prehranjevanje, spremembo telesne teže in smrtnost.

Kandidatka je ugotovila, da je potencialna strupenost zaužitih nanodelcev TiO<sub>2</sub> za modelni organizem *P. scaber* odvisen od odmerka in trajanja izpostavitve. To pomeni, da je potrebno standardne teste strupenosti spremeniti tako, da bodo omogočili tudi opazovanje sprememb v daljšem časovnem obdobju.

Dognanja in zaključki so izvirni, kar brez dvoma dokazuje tudi izjemna citiranost njenega članka (*Ecotoxicity of nanosized TiO<sub>2</sub>. Review of in vivo data*), ki je dosegel status »Highly Cited Paper«. Ta članek je bil med 1% najbolj citiranih člankov na področju. »As of July/August 2015, this highly cited paper received enough citations to place it in the top 1% of its academic field based on a highly cited threshold for the

field and publication year.« (Menard, A., Drobne, D., Jemec, A. 2011. Ecotoxicity of nanosized TiO<sub>2</sub>. Review of in vivo data. Environmental Pollution 159, 677-684).

### **Daniela Milosheska**

Mentor: izr. prof. dr. Iztok Grabnar

Somentor: izr. prof. dr. Tomaž Vovk

### **Klinična farmakokinetika lamotrigina, okskarbazepina in topiramata pri bolnikih z epilepsijo**

Zdravljenje epilepsije je v večini primerov simptomatsko s protiepileptičnimi zdravili. Zaradi narave bolezni je klinično spremljanje učinkovitosti in varnosti zdravljenja težavno. V pomoč pri načrtovanju odmerjanja so lahko meritve koncentracije zdravilne učinkovine v krvi bolnika.

Kandidatino delo lahko razdelimo v dva sklopa. V prvem je predstavljen razvoj analiznih metod za terapevtsko spremljanje koncentracije protiepileptičnih zdravil, v drugem sklopu pa so podani rezultati dveh kliničnih farmakokinetičnih študij na bolnikih z epilepsijo.

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

### **Aleksandar Aleksovski**

Mentor: doc. dr. Rok Dreu

### **Mini tablete in mini ogrodja kot večnotni dostavni sistemi s prirejenim sproščanjem**

Disertacijo je izdelal ob mentorstvu doc. dr. Roka Dreua. Eksperimentalno delo je opravil na UL, Fakulteti za farmacijo in Univerzi v Ghentu, Fakulteti farmaceutskih znanosti. V svoji doktorski disertaciji se je Aleksandar Aleksovski posvetil raziskavam in razvoju peletam alternativnih večnotnih sistemov s podaljšanim sproščanjem učinkovine, ki so osnovani na mini ogrodjih in izdelani z več različnimi tehnologijami. Takšni večnotni sistemi s podaljšanim sproščanjem izboljšajo terapevtski izid, saj poleg zmanjšanja nihanja plazemskih koncentracij učinkovine izboljšajo sodelovanje bolnikov pri terapiji v smislu redne rabe zdravil, alternativno pa takšna mini ogrodja omogočajo lažje požiranje, kar je pomembno tako pri otrocih kot starostnikih. S svojimi rezultati je doktorand pokazal, da mini tablete omogočajo učinkovito

kombiniranje zakasnjene in podaljšane sproščanja in kot takšne predstavljajo racionalno osnovo za razvoj večnotnih dostavnih sistemov s podaljšano sigmoidno ali linearno kinetiko sproščanja dobro topne učinkovine. Stabilno, fiziološko robustno in in-vitro podobno 24h sproščanje paliperidona, kot ga podaja profil referenčnega izdelka z osmotsko črpalko, je bilo mogoče uspešno zasnovati z in-silico reševanjem kombiniranih večnotnih sistemov. Doktorand je v drugem delu raziskav izdelal in primerjal lastnosti večnotnih sistemov s podaljšanim sproščanjem, ki temeljijo na enotah lipidnega ogrodja z dobro topno učinkovino, a so izdelani z različnimi tehnološkimi pristopi. Lipidna mini ogrodja enake sestave so bila izdelana s stiskanjem zrn v mini tablete, izdelavo cilindričnih enot s tehnologijo iztiskanja talin ter izdelavo sfer s tehnologijo ohlajanja kapljic taline. V primeru gliceril behenata, kot lipidnega ogrodnega nosilca, je bila ugotovljena medsebojna zamenljivost tehnologij, saj so sistemi izkazovali skoraj invariantne profile sproščanja glede na tehnologijo izdelave, sestavo medija za sproščanje ter staranje ogrodij pri sobni temperaturi. Nasprotno pa so v primeru gliceril palmitostearata prej navedeni vplivi spremenili profile sproščanja. Sklep o medsebojni zamenljivosti tehnologij je torej odvisen od vrste lipidnega ogrodja.

Doktorand je v znanstveno indeksiranih revijah (SCI) kot prvi avtor do sedaj objavil tri članke s področja disertacije, vsakokrat v publikaciji iz prve četrtine.

### Gregor Jug

Mentor: izr. prof. dr. Marko Anderluh  
Somentor: doc. dr. Tihomir Tomašič

### **Uporaba molekulskega modeliranja pri načrtovanju antagonistov DC-SIGN in in vitro vrednotenje njihovega učinka**

Gregor Jug je opravil raziskave s področja Farmacevtske kemije kot del podiplomskega študija Biomedicine, znanstvenega področja Farmacija. Izsledki njegovih raziskav so originalni znanstveni prispevek na področjih modeliranja, načrtovanja in vrednotenja novih antagonistov receptorja DC-SIGN ter na področju biotehnološkega pridobivanja in čiščenja zunajcelične domene proteina DC-SIGN, ki ni komercialno dostopna.

Gregor Jug je sistematično preizkusil različne programske pakete za molekulsko sidranje s stališča ustreznosti sidranja v razmeroma odprto in slabo definirano vezavno mesto za ogljikohidratne ligande receptorja DC-SIGN. Njegovi rezultati predstavljajo prvi tovrstni prispevek primerjave in silico metod za molekulsko sidranje ligandov v vezavna mesta lektinov tipa C. Z metodo molekulske dinamike je uspešno simuliral vezavo manoznih ligandov na DC-SIGN.

V sklopu doktorskega dela je Gregor Jug pridobil znatne količine zunajcelične domene DC-SIGN. Kot dodaten cilj si je zadal pripravo rekombinantnega fluorescenčno označenega proteina DC-SIGN ECD, ki bi ga uporabili pri razvoju novega in vitro testa za preverjanje afinitete vezave načrtovanih antagonistov DC-SIGN. Ta del raziskovalnega dela je opravil na inštitutu IBS («Institut de Biologie Structurale») v Grenoblu v Franciji.

Načrtovane spojine, za katere je predvidel potencialno visoko afiniteto vezave, je v sklopu raziskovalnega dela Katedre za farmacevtsko kemijo uporabil pri izvedbi in vitro testa. S testom, ki temelji na kompetitivni vezavi spojine in gp120 na zunajcelično domeno DC-SIGN, je določil uspešnost vezave 32 načrtovanih spojin.

Pri dveh spojinah je izmeril IC50 vrednosti v mikromolarnem območju ter predstavil nove smernice pri načrtovanju antagonistov receptorja DC-SIGN z višjo afiniteto. Rezultate svojega raziskovalnega dela je Gregor Jug objavil v treh člankih z dejavnikom vpliva. Pomen njegovega dela pa sega onkraj omenjenih publikacij, saj je v sklopu doktorske disertacije delal in sodeloval z raziskovalci IBS v Grenoblu, Kemijskega inštituta v Ljubljani in Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani in tako pomembno vplival k mednarodni in medinstitucionalni vpetosti delovanja Univerze v Ljubljani.

### **Urban Košak**

Mentor: prof. dr. Stanislav Gobec

#### **Načrtovanje, sinteza in vrednotenje novih zaviralcev holin-esteraz**

V svoji disertaciji je Urban Košak načrtoval, sintetiziral in biokemijsko ovrednotil nove zaviralce butirilholin-esteraze (BChE), pomembne tarče za razvoj zdravil za zdravljenje Alzheimerjeve bolezni. Ciljne spojine je načrtoval na osnovi znane kemijske strukture inhibitorja, razvitega na FFA, in na osnovi kristalne strukture kompleksa te spojine z BChE. Za izboljšanje učinkovitosti zadetka je doktorand sintetiziral knjižnico strukturno podobnih spojin, pri čemer se je oprl na koncept bioizosterije in sistematičnega uvajanja strukturnih sprememb, ter na koncept strukturno-podprtega načrtovanja novih učinkovin.

Doktorand je v okviru disertacije razvil dve večji seriji zanimivih biološko aktivnih spojin. Pri tem je najprej razvil splošni in enostavni sintezni postopek za pripravo ortogonalno zaščitene derivatov piperidin-3-iletanaminov in piperidin-4-iletanaminov kot osnovnih sinteznih gradnikov. Prvo serijo predstavljajo novi selektivni reverzibilni zaviralci BChE, med katerimi ima najboljša spojina odlične lastnosti tudi v živalskih modelih Alzheimerjeve bolezni, saj izboljša spomin, kognitivne funkcije in učne sposobnosti miši v skopolaminskem modelu amnezije. Gre za prvi primer reverzibilnega zaviralca BChE, ki ima dokazano in vivo delovanje proti Alzheimerjevi bolezni. Te spojine je doktorand v nadaljevanju strukturno spremenil tako, da delujejo na več tarč hkrati (BChE, monoamin oksidaza B, agregacija amiloida beta). S sintezo velikega števila analogov in ovrednotenjem njihovega biološkega učinka je doktorand pomembno izboljšal razumevanje odnosa med strukturo in delovanjem za obe seriji spojin.

Iz svoje doktorske disertacije je Urban Košak objavil 3 članke v uglednih mednarodnih revijah, dva pa sta poslana v objavo.

### **Alja Plošnik**

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

#### **Endokrine in genotoksične lastnosti sestavin kozmetičnih izdelkov iz podatkovne baze CosIng z *in silico* metodami in luciferaznimi reporterskimi testi**

V svoji disertaciji je dr. Alja Plošnik obravnavala kemikalije, ki se uporabljajo v kozmetični industriji in ki jih na evropskem trgu ureja Evropska kemijska uredba



REACH in Evropska kozmetična uredba. Ti uredbi predpisujeta tudi oceno njihovih fizikalno-kemijskih, ekotoksikoloških in toksikoloških lastnosti. Alja je izbrala iz baze kozmetičnih kemikalij (CosIng) nabor spojin, za katere je določila genotoksične in endokrine lastnosti z in silico in in vitro metodami.

V delu je združila tri sklope študij: QSAR modeliranje, kjer je uporabila programski paket CAESAR; molekulsko sidranje na jedrne receptorje, kjer je uporabila program DISRUPTOME in in vitro teste, ki jih je izvedla na dveh celičnih linijah, ki izražata tri receptorje: MDA-kb2 za androgene (AR) in glukokortikoidi receptor (GR), in GH3.TRE-Luc za tiroidni receptor (TR).

Alja je z uporabo omenjenih metod predstavila hiter in učinkovit sistem za presejevanje nizov spojin glede na izbrane toksikološke lastnosti. Takšna obravnava velikih nizov spojin igra pomembno vlogo v zakonski regulaciji kemikalij. Disertacija pa je tudi prispevek k bazični znanosti, saj je obravnavala toksikološke efekte vzdolž celotne toksikološke poti, to je od efektov na molekulski in celični ravni (sidranje in in vitro testi) do efektov na organizmih in populaciji (QSAR modeli). Disertacija je napisana jasno in objektivno in kaže na dobro poznavanje problematike. Opisane so evidence, ki kažejo na povezavo med vezavo na jedrne receptorje, mutagenostjo, karcergenostjo in razvojno toksičnostjo.

Iz svoje doktorske disertacije je Alja objavila 3 članke v uglednih mednarodnih revijah, eden je poslan v objavo.

### **Marina Gjorgjieva**

Mentor: prof. dr. Danijel Kikelj

Somentorica: prof. dr. Lucija Peterlin Mašič

### **Načrtovanje, sinteza in vrednotenje zaviralcev DNA giraze B z benzotiazolskim skeletom**

Odpornost bakterij proti večini protibakterijskih učinkovin postaja vse večji problem, zato se potreba po novih protibakterijskih učinkovinah povečuje in dejstvo, da odkrivanju novih protibakterijskih učinkovin farmacevtska industrija posveča premalo pozornosti postaja vse bolj zaskrbljujoče.

ATP vezavno mesto bakterijske DNA giraze ponuja dobro priložnost za načrtovanje novih protibakterijskih učinkovin. Podobnost v strukturi med bakterijsko girazo B in Par E podenoto topoizmeraze IV odpira možnost za načrtovanje protibakterijskih učinkovin s sinergističnim delovanjem na dve tarči v bakterijski celici.

V okviru doktorskega dela je doktorandka načrtovala, sintetizirala in biološko ovrednotila potencialne pirolkarboksamidne inhibitorje DNA giraze z benzotiazolskim skeletom kot nadaljevanje raziskav inhibitorjev DNA giraze s 4,5,6,7-tetrahidrobenzo[d]tiazolnim ogrodjem, ki so bili nedavno odkriti v raziskovalni skupini. Pripravljene spojine so izkazovale močno in vitro inhibitorno aktivnost na DNA girazo E. coli, nekatere spojine pa tudi zaviralno aktivnost na DNA girazo bakterije S. aureus. Najboljši inhibitor DNA giraze E. coli je imel 33 nM IC<sub>50</sub> vrednost. Določene spojine so pokazale dvojno zaviralno delovanje, tako na DNA girazo iz E. coli in S. aureus kot tudi na topoizomerozo IV iz E. coli in S. aureus. Vezavo pripravljenih inhibitorjev v ATP vezavno mesto DNA giraze smo potrdili s kristalno strukturo kompleksa giraze B iz E. coli z enim od pripravljenih inhibitorjev. Sintetizirani inhibitorji DNA giraze in topoizomeroze IV so bili testirani tudi na protibakterijsko aktivnost na Gram-pozitivne (S. aureus, Enterococcus faecalis) in Gram-negativne

bakterijske seve (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), vendar niso pokazali znatne protibakterijske aktivnosti. Za eno od spojin smo pokazali, da je substrat AcrAB-tolC efluksne črpalke, s čimer lahko razložimo njeno slabo protibakterijsko aktivnost na testirane Gram-negativne bakterijske seve.

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

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

Rezultati dobljeni v okviru doktorske disertacije Marine Gjorgjieve so bili objavljeni v članku v ugledni reviji *Journal of Medicinal Chemistry*.

### Ivana Klopčič

Mentorica: prof. dr. Marija Sollner Dolenc

Somentor: izr. prof. dr. Janez Mavri

### **Raziskave endokrinih učinkov fenolnih analogov bisfenola A in njihovih mešanic *in silico* in *in vitro***

V svojem delu se je Ivana Klopčič osredotočila na identifikacijo potencialnih hormonskih motilcev fenolnih analogov bisfenola A (BPA) iz skupin zdravil, onesnažil in kozmetičnih sestavin, na njihovo pleiotropno delovanje ter preučevanje hormonskih učinkov njihovih mešanic. Z metodo *in silico* je s pomočjo prosto dostopnega programskega orodja Endocrine Disruptome napovedala afiniteto vezave z 12 različnimi jedrnimi receptorji za izbran niz spojin. Predvsem se je osredotočila na bromirane zaviralce gorenja ter aminofenolne analoge BPA iz skupine zdravil (npr. diklofenak, paracetamol) ter nekatere kozmetične sestavine (npr. avobenzon) ter njihove metabolite. Testirala jih je tudi *in vitro* na celičnih linijah s poročevalskim genom za luciferazo. Za spojine, ki so izkazovale glukokortikoidno in androgeno moduliranje, je izvedla še potrditveni test vezave *in vitro*. Med prvimi je za prej omenjene spojine dokazala njihove različne hormonske učinke na estrogenskem (ER), androgenem, glukokortikoidnem in tiroidnem receptorju pri koncentracijah, katerim smo ljudje lahko izpostavljeni. V drugem delu doktorske disertacije je dokazala, da je hormonski učinek proučevanih spojin na zgoraj omenjene receptorje odvisen od hkratne prisotnosti drugih snovi, in da imajo hormonsko aktivni fenolni analogi BPA



pleiotropni učinek. Poleg modulacije jedrnih receptorjev se je namreč osredotočila tudi na njihovo genotoksično in imunomodulatorno delovanje. Rezultati na celični liniji LCL kažejo, da imajo določeni aminofenolni analogi BPA imunomodulatorno delovanje pri koncentracijah, najdenih v človeški plazmi ter da na njega znatno vpliva metabolizem teh spojin. Dokazala je, da lahko predvsem fenolni analogi BPA kot hormonski motilci glukokortikoidnega receptorja spremenijo imunski odziv izpostavljenih posameznikov. Ker je še vedno odprto vprašanje o genotoksičnosti paracetamola, ki ga je izbrala kot eno izmed spojin, ki jo uvrščamo med fenolne analoge bisfenola A iz skupine zdravil in ima endokrino delovanje, je s pomočjo kvantno-kemijskih metod skupaj s sodelavci prva predstavila mehanizem direktne interakcije med DNA in toksičnim metabolitom paracetamola (NAPQI) in predpostavila, v kakšnih pogojih v celici do teh poškodb DNA lahko pride.

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

Rezultate svojega raziskovalnega dela v okviru doktorata je Ivana Klopčič objavila v 6 izvirnih raziskovalnih člankih v revijah z visokim dejavnikom vpliva, 4 članki pa so poslani v objavo. Svoje delo je predstavila tudi na več mednarodnih in domačih znanstvenih konferencah.

## Jure Peklar

Mentor:izr. prof. dr. Mitja Kos

Somentor: prof. dr. Martin Henman

### **Zdravje starostnikov in oseb s posebnimi potrebami ter njihova uporaba zdravil in prehranskih dopolnil**

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

17% starostnikov je poročalo redno uporabo prehranskih dopolnil, 14% pa redno sočasno uporabo tako prehranskih dopolnil, kot tudi zdravil. 4,5% primerov sočasnih uporab bi lahko privedlo do klinično pomembnih interakcij.

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

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

## **Osama Fathy Abdelwahab Mohamed Aly Mousa**

Mentor: izr. prof. dr. Milan Skitek

Somentor: doc. dr. Aleš Jerin

### **Vloga proteinov Klotho in CYR61 pri zgodnjem odkrivanju akutne poškodbe ledvic po operaciji srca**

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

Doktorand je v okviru disertacije razvil metode podprte s tehnologijami, ki se uspešno uporabljajo v podobnih raziskavah. Dokazal je, da se CYR61 v serumu lahko uporablja kot prihodnje orodje za stratifikacijo in razvrščanje ALO po stopnjah glede na resnost, da protein Klotho v serumu lahko odkrije bolnike z visokim tveganjem za resno ALO v prvih časovnih intervalih operacije srca s KPO (diagnostična moč proteina Klotho v serumu ni bila zadostna zaradi verjetnih vplivov starosti, oksidativnega stresa in ateroskleroze) in da je kombinacija proteina Klotho in kreatinina v serumu lahko uporabna za napoved odpovedi ledvic v daljšem časovnem obdobju po KPO. Disertacija predstavlja pomemben doprinos k znanosti na področju spoznavanja in pojasnjevanja dogajanja pri akutni ledvični poškodbi, posebej po operacijah na srcu.

Iz svoje doktorske disertacije je Osama Fathy Abdelwahab Mohamed Aly Mousa, mag. med. biokem., objavil 2 članka v uglednih mednarodnih revijah, dva pa sta poslana v objavo.

## **Luka Kristanc**

Mentor: doc. dr. Bojan Božič

Somentorica: prof. dr. Marija Sollner Dolenc

### **Učinki porotvornega nistatina na lipidne mehurčke celičnih velikosti**

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

V svoji doktorski disertaciji je predstavil vsebino treh svojih člankov, ki so objavljeni v uglednih mednarodnih revijah.

## Katarina Bolko Seljak

Mentorica: prof. dr. Mirjana Gašperlin

Somentor: prof. dr. Janez Kerč

### **Tehnološki pristopi za razvoj na lipidih osnovanih trdnih sistemov**

Področje doktorske disertacije Katarine Bolko Seljak, mag. farm., je razvoj novih na lipidih osnovanih sistemov za izboljšanje biofarmacevtskih lastnosti vanje vgrajenih učinkovin ter pretvorba teh sistemov v trdne farmacevtske oblike, tako enoenotne (tablete) kot večnotne (mikrokapsule). Za modelno učinkovino je bil v prvem raziskovalnem sklopu izbran polifenol naravnega izvora resveratrol, katerega širšo terapevtsko uporabo ovirata njegova slaba topnost in predsistemski metabolizem.

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

Rezultati doktorske naloge so mednarodno primerljivi in objavljeni v 4 člankih s faktorjem vpliva, 5 pa je poslan v objavo.

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

## Samo Rožman

Mentor: prof. dr. Iztok Grabnar

Somentorica: izr. prof. dr. Barbaa Jezeršek Novaković

### **Farmakokinetične lastnosti in klinična učinkovitost rituksimaba pri bolnikih z difuznim velikoceličnim limfomom B**

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

Za preskus te hipoteze je Samo Rožman izvedel klinično raziskavo na bolnikih z novoodkritim velikoceličnim limfomom B. Bolnikom je v vsakem krogu zdravljenja določil koncentracijo rituksimaba v krvnem serumu z encimsko-immunsko metodo.

Določil je tudi genski polimorfizem receptorja Fc-gama. Za farmakokinetično analizo je uporabil pristop populacijske farmakokinetične analize z nelinearnim modeliranjem mešanih učinkov. Klinični odgovor je bil ocenjen v skladu s Chesonovimi kriteriji.

Samo Rožman je ugotovil, da farmakokinetiko rituksimaba najbolje opisuje 2-prostorni model s konstantnim in časovno-spremenljivim očistkom. Konstantni očistek je nižji pri starejših bolnikih in tistih z nižjo telesno maso, volumen centralnega prostora pa je večji pri moških. Bolniki, pri katerih je prišlo do napredovanja bolezni, so imeli počasnejši upad časovno-spremenljivega očistka rituksimaba in zato višji celokupni očistek ter nižje serumske koncentracije rituksimaba. Hitrost upada časovno spreminljivega očistka rituksimaba zato lahko služi kot napovedni dejavnik uspešnosti zdravljenja. Med različnimi genotipi receptorja Fc-gama kandidat ni ugotovil značilno različnega odgovora na zdravljenje. Opazil pa je trend boljšega odgovora pri bolnikih, ki so homozigoti za valin na mestu 158. Rezultati disertacije so inovativni v mednarodnem merilu, predstavljajo pomemben doprinos k znanosti, imajo pa tudi potencialno uporabno vrednost pri izboljšanju zdravljenja bolnikov z difuznim velikoceličnim limfomom B.

**Tomaž Nerat, mag. farm.**

Mentor: izr. prof. dr. Mitja Kos

### **Vpliv vodljivosti bolnikov s sladkorno boleznijo tipa 2 na breme bolezni in stroškovno učinkovitost zdravil**

Kandidat je ovrednotil sodelovanje bolnikov s sladkorno boleznijo tipa 2 pri zdravljenju z zdravili ter njegov vpliv na rezultata bremena bolezni in stroškovne učinkovitosti.

Bolniki s sladkorno boleznijo tipa 2 v Sloveniji dobro sodelujejo pri zdravljenju z zdravili (91 %). V primeru ustrezne prehrane so bolniki srednje sodelujoči (60 %) in v primeru telesne aktivnosti dobro sodelujoči (90 %). Kljub visoki stopnji sodelovanja pri jemanju zdravil pa so imeli vključeni bolniki sorazmerno slabo urejeno glikemijo.

Breme plačnika zdravstvenega varstva (obvezno in dopolnilno zavarovanje) v Sloveniji je bilo ovrednoteno na 99.120.419 EUR oz. 4,18 % planiranih javnih stroškov za zdravstvo. Navedeni delež je primerljiv z rezultati v drugih zahodno evropskih državah.

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

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

**Jernej Luzar**

Mentorica: izr. prof. dr. Mojca Lunder

Somentor: izr. prof. dr. Peter Korošec

## **Identifikacija in ovrednotenje mimotopov izbranih alergenov Fel d 1 in Ara h 2**

Jernej Luzar je v svoji doktorski nalogi razvijal nove pristope za specifično imunoterapijo alergij. Specifična imunoterapija z alergeni je sicer učinkovit vzročni način zdravljenja, vendar njeno uporabo pri nekaterih alergijah omejuje tveganje za anafilaktične reakcije. Jernej Luzar je zato svoje raziskave usmeril v iskanje ustreznih fragmentov alergenov z zmanjšano ali odsotno alergogenostjo. Identificiral je peptidne mimetike epitopov najpomembnejšega alergena pri alergiji za mačko in alergiji za arašide. Z računalniškim prileganjem je določil najverjetnejše mesto na alergenu, ki ga mimotopi posnemajo. Pokazal je, da mimotopi ohranijo afiniteto do igE iz serumov alergičnih pacientov, vendar ne aktivirajo njihovih efektorskih celic in posledično ne sprožijo izločanja mediatorjev alergijskih reakcij, oziroma niso alergogeni. Mimotope je nato s pomočjo tehnologije rekombinantne DNA izrazil na površini imunogenih nosilcev, ki bi omogočili sublingvalno dostavo, spodbudili ustrezen imunski odziv in omogočili razvoj imunske tolerance na alergen. Kot imunogeni nosilec za mimotope mačjega alergena je uporabil nitaste bakteriofage in za mimotope alergena iz arašidov mlečnokislinske bakterije. Pokazal je, da imunogeni nosilci z izraženimi mimotopi spodbudijo T celični imunski odziv usmerjen v tip 1. Rezultati njegovega dela pomembno prispevajo k razvoju pripravkov za varno in učinkovito zdravljenje alergij.