

**9. SIMPOZIJ STUDENATA
FARMACIJE I MEDICINSKE BIOKEMIJE**

Knjiga sažetaka

Zagreb, 30. rujna 2021.

Izdavač / Publisher

Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Ante Kovačića 1, 10 000 Zagreb, Hrvatska

www.pharma.unizg.hr

Urednici / Editors

Toma Keser

Davor Šakić

Tehnički urednici / Technical editors

Robert Kerep

Domagoj Kifer

Kristina Pavić

Tisak / Printed by

Recedo d.o.o.

Prigornica ul. 2, 10090, Zagreb

CIP

CIP zapis je dostupan u računalnome katalogu Nacionalne i sveučilišne knjižnice u Zagrebu pod brojem 001113143.

ISBN

978-953-8273-09-4

Zagreb, 2021.

Organizator



Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko – biokemijski fakultet
Studentski zbor

Zlatni sponzori



Sponzori



Donatori



Organizacijski odbor

Toma Keser, predsjednik

Domagoj Kifer, tajnik

Dora Belec

Edvin Brusač

Ana Cvetko

Andrea Čeri

Robert Kerep

Sara Koprivica

Zvonimir Mlinarić

Laura Nižić Nodilo

Kristina Pavić

Sofia Shkunnikova

Marko Tijardović

Programski odbor

Davor Šakić, predsjednik

Andrea Hulina Tomašković

Marija Kindl

Marijan Marijan

Mirela Matić

Hrvoje Rimac

Zora Rukavina

Miranda Sertić

Počasni odbor

Jasmina Lovrić, dekanica

Cvijeta Jakobušić Brala, prodekanica za studente i studijske programe

Ivan Pepić, prodekan za poslovanje i financije

Zrinka Rajić, prodekanica za znanost i istraživanje

Sadržaj

Uvodna riječ predsjednika simpozija.....	6
Program.....	7
Plenarno predavanje	9
Usmena priopćenja	13
Posterska priopćenja	25
Sponzorska priopćenja	49
Popis autora	58

Uvodna riječ predsjednika simpozija

Drage kolegice i kolege,

dobro došli na 9. Simpozij studenata farmacije i medicinske biokemije (FARMEBS 2021) koji organizira Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu (FBF) u suradnji sa Studentskim zborom FBF-a. Nažalost, zbog pandemije COVID-19 imali smo jednogodišnju stanku. Međutim, ova je pandemija potvrdila veliku važnost naših biomedicinskih struka koje posebno dolaze do izražaja u ovakvim javnozdravstvenim krizama. Stoga je osobito korisno ulagati u nove mlade biomedicinske stručnjake. Srdačno zahvaljujemo na potpori upravi FBF-a te brojnim pokroviteljima koji su to prepoznali i bez kojih ovaj simpozij ne bi bio moguć.

FARMEBS 2021, kao i proteklih godina, posvećen je svim aspektima istraživanja lijekova te medicinsko-biokemijskoj dijagnostici, s tim da će ove godine u plenarnom predavanju prof. dr. sc. Vladimira Trkulje poseban naglasak biti na cjepivima protiv COVID-19 i njihovoj ulozi u savladavanju pandemije.

Znanstveni i stručni simpoziji uvijek su odlična prigoda za učenje, razmjenu mišljenja i iskustava, upoznavanje, druženje i povezivanje. Prezentacijama znanstveno-istraživačkih radova svojim kolegama omogućujemo plodonosne rasprave i konstruktivne kritike, uspostavljanje novih suradnji čime postajemo bolji stručnjaci. FARMEBS je mnogima od vas prvi od mnogih takvih kongresa u vašim karijerama i zbog toga bismo željeli da vam trajno ostane u lijepom sjećanju.



dr. sc. Toma Keser
predsjednik Organizacijskog odbora



doc. dr. sc. Davor Šakić
predsjednik Programskog odbora

Program

11.00 – 11.45 | REGISTRACIJA SUDIONIKA

12.00 – 12.15 | OTVARANJE SIMPOZIJA

Plenarno predavanje

12.15 – 13.00 | CJEPIVA PROTIV **COVID-19** BOLESTI: ISKUSTVA VS. OČEKIVANJA

prof. dr. sc. Vladimir Trkulja

1. sekcija

13.00 – 13.15 | **NOVE TEHNIKE U PROUČAVANJU BIOMOLEKULARNIH INTERAKCIJA**

Robert Kerep

13.15 – 13.30 | **JESMO LI SPREMNI ZA CJEPLJENJE U LJEKARNAMA?**

Dora Belec

13.30 – 13.45 | **MIKROFLUIDIČKI ENZIMATSKI MIKROREAKTOR ZA ISTRAŽIVANJE INTESTINALNOG METABOLIZMA LIJEKOVA**

Zrinka Duvnjak

13.45 – 14.00 | **EXCELLENCE IN INTEGRATED DRUG DISCOVERY SERVICES**

(predavanje sponzora)

Fidelta

14.00 – 15.00 | **PAUZA ZA RUČAK**

2. sekcija

15.00 – 15.15	RAZVOJ NOVIH BIOANALITIČKIH METODA ZA INDIVIDUALIZACIJU TERAPIJE RAKA DOJKE <i>Lu Turković</i>
15.15 – 15.30	SINTEZA I KARAKTERIZACIJA NOVIH HIBRIDA HARMINA I PRIMAKINA S POTENCIJALNIM CITOSTATSKIM DJELOVANJEM <i>Ivana Vrdoljak, Jakov Vuk</i>
15.30 – 15.45	N-GLIKOZILACIJA IMUNOGLOBULINA A U ŠEĆERNOJ BOLESTI TIPA 1 KOD DJECE <i>Sofia Shkunnikova</i>
15.45 – 16.00	ISPITIVANJE INTERAKCIJA MIKOTOKSINA STERIGMATOCISTINA S CIKLODEKSTRINIMA I HUMANIM SERUMSKIM ALBUMINOM SPEKTROFOTOMETRIJSKIM METODAMA <i>Lucija Šćur</i>
16.00 – 16.15 (predavanje sponzora)	KLINIČKA PREHRANA <i>Boris Vukadin (Fresenius Kabi)</i>
16.15 – 17.15	POSTER SEKCIJA UZ KAVU

3. sekcija

17.15 – 17.30 (predavanje sponzora)	SVJETLOM KATALIZIRANE REAKCIJE PREGRAĐIVANJA RADIKALA. PREDSTAVLJANJE PROJEKTA LIGHT-N-RING <i>doc. dr. sc. Davor Šakić</i>
17.30 – 17.45	VISOKOPROTOČNO OBOGAĆIVANJE C3 KOMPONENTE KOMPLEMENTA IZ LJUDSKE PLAZME POMOĆU LEKTINSKOG AFINITETNOG MEDIJA <i>Dinko Šoić</i>
17.45 – 18.00	SINTEZA I KARAKTERIZACIJA NOVIH HIBRIDNIH DERIVATA ANTRANILNE KISELINE I KINOLINA KAO POTENCIJALNIH AGENSA ZA SUZBIJANJE BAKTERIJSKIH BIOFILMOVA <i>Anja Kučević, Ivan Džajić</i>
18.00 – 18.15	PROGNOŠTIČKI ZNAČAJ PREDOPERATIVNIH RAČUNSKIH HEMATOLOŠKIH UPALNIH PARAMETARA KOD PACIJENTICA S KARCINOMOM DOJKE <i>Karmela Ana Popović</i>
18.15 – 18.30	DODJELA NAGRADA I ZATVARANJE SLUŽBENOG DIJELA SIMPOZIJA
18.30 – 22.00	DRUŽENJE

PLENARNO PREDAVANJE

Cjepiva protiv COVID-19 bolesti: iskustva vs. očekivanja

Vladimir Trkulja

Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet

vladimir.trkulja@mef.hr

Od trenutka izbijanja pandemije COVID-19 ljudi su imali čitav niz očekivanja u vezi (mogućih) cjepiva kao izglednog važnog oruđa za „rješenje problema“. Primjerice, očekivanja su bila da ljudski rod može u razumno kratkom vremenu doista razviti funkcionalno cjepivo (djelotvorno i sigurno, tj. s povoljnim odnosom koristi i rizika). Kad je cjepivo stvoreno, neki su očekivali da će ljudi jedva dočekati da se cijepe; neki su očekivali da će čovječanstvo cijelu stvar „voditi“ na neki suradljiviji način, da će oni među nama određeni da „rukovode situacijom“ komunicirati na najbolji mogući način, da neće biti pojedinaca – samoproglasnih autoriteta – koji će pandemiju koristiti za neku osobnu korist ili za liječenje vlastite psihopatologije itd. U kojoj mjeri su ta razna očekivanja ispunjena ili nisu i zašto nisu – predmet je kojim se mogu baviti razne struke, politički analitičari, sociolozi i psihijatri. Naš je fokus na medicinskom aspektu cijele priče: jesu li, u tom smislu, očekivanja bila opravdana, tj. jesu li potvrđena tijekom proteklog vremena? Ovdje se iznosi *(i)* stav da su prethodna znanja apsolutno podupirala očekivanje brzog razvoja funkcionalnog cjepiva s izrazito prevladavajućom koristi u odnosu na potencijalne rizike i *(ii)* stav da su ta očekivanja i ostvarena; te se elaborira kako i zašto je takav stav činjenično utemeljen.

USMENA PRIOPĆENJA

Nove tehnike u proučavanju biomolekularnih interakcija

Robert Kerep, Tino Šeba, Mario Gabričević

Zavod za opću i anorgansku kemiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb

rkerep@pharma.hr

Pojave kao što su vezanje supstrata na enzim, lijeka na njegovu metu, drugi lijek ili protein te razmjena signala između stanica ostvaruju se kroz specifične biomolekularne interakcije. Kontrola nad tim procesom ostvaruje se ili kinetički ili termodinamički. Supramolekularna kemija je interdisciplinarno područje znanosti koje obuhvaća kemijska, fizikalna i biološka svojstva složenijih kemijskih vrsta u kojima se njihovo međusobno vezivanje postiže nekovalentnim interakcijama [1]. Važnost vezanja lijekova na proteine plazme u moduliranju učinkovite koncentracije lijeka na farmakološkim ciljnim mjestima tema je značajnih rasprava i debata među grupama za razvoj lijekova u posljednjih nekoliko desetljeća. Nevezana frakcija ili slobodni udio lijeka je ona frakcija lijeka koja je raspoloživa za aktivnost ili difuziju u okolna tkiva te se stoga samo slobodna frakcija lijeka smatra aktivnim oblikom u skladu s teorijom slobodnih lijekova (engl. free drug theory). Svako naglo povećanje slobodne koncentracije lijeka potencijalno bi moglo uzrokovati toksičnost i možda će trebati prilagoditi dozu [2]. Ovo istraživanje opisuje metode za kvantifikaciju vezanja imipramina na alfa-1 kiseli glikoprotein, kao relevantnog transportnog proteina u plazmi, i primjenu ovih metoda u otkrivanju i razvoju lijekova [3]. Instrumentalne tehnike korištene u istraživanju uključuju mikroskalarnu termoforezu (MST), izotermalnu titracijsku kalorimetriju (ITC) i rezonanciju površine plazmona (SPR). Navedenim tehnikama pokušat će se procijeniti afinitet vezanja supramolekularnog kompleksa protein-lijek koji je ključan za daljnje određivanje farmakokinetičkih parametara u aspektu personalizirane medicine.

Ovaj je rad sufinancirala Hrvatska zaklada za znanost projektom IP-2016-06-3672.

[1] <https://www.frontiersin.org/research-topics/21087/computational-dynamics-of-supramolecular-chemistry>

[2] T. Bohnert, L. S. Gan. Plasma protein binding: From discovery to development. *J Pharm Sci* 102 (2013) 2953–2994.

[3] Z. Huang, T. Ung. Effect of alpha-1-acid glycoprotein binding on pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Curr Drug Metab* 14 (2013) 226–238.

Jesmo li spremni za cijepljenje u ljekarnama?

Dora Belec, Maja Ortner Hadžiabdić

Centar za primijenjenu farmaciju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

dora.belec93@gmail.com

Cijepljenje je neupitno jedno od najvećih dostignuća prošlog stoljeća te predstavlja najučinkovitiju javnozdravstvenu metodu u eradikaciji i sprječavanju širenja zaraznih bolesti. Iako su prednosti i dobrobiti cijepljenja dobro poznati i dalje je prisutan trend nedostatnog cjepnog obuhvata, kada je riječ o sezonskom cijepljenju kao što je cjepivo protiv virusa gripe. Procjena je da godišnje od težeg oblika gripe u svijetu oboli od 3 do 5 milijuna, a 290 do 650 tisuća osoba ne preživi ovu bolest. Cijepljenje je u nekim zemljama svijeta alocirano i na ljekarnike u javnim ljekarnama koji su prepoznati kao važne i javnosti najdostupnije karike lanca primarne zdravstvene zaštite što se pozitivno odrazilo na cjepni obuhvat i položaj farmaceuta.

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi stavove javnih ljekarnika na području Hrvatske o potencijalnoj implementaciji usluge sezonskog cijepljenja u ljekarne. Ova presječna studija provodila se od svibnja do srpnja 2021. godine. Upitnici su dizajnirani za studiju i kao takvi prvi puta korišteni. Likertovom skalom (1–5) ispitanici su mogli izraziti svoje stavove na navedene tvrdnje. U istraživanju je sudjelovalo 362 ljekarnika što je oko 13% ukupnog broja ljekarnika zaposlenih u javnim ljekarnama. Uzorak su činili 87% žena i 13% muškaraca, a medijan dobi ispitanika bio je 36 [16] godina. Oko polovina ispitanika (55%) smatra da cijepljenje treba biti omogućeno u ljekarnama. Uočena je značajna korelacija između stavova da se pacijentima treba osigurati cijepljenje u ljekarni i spremnosti na provođenje te usluge ($\rho = 0,724$, $P < 0,01$). Gotovo svi ljekarnici slažu se da ne bi cijepili bez edukacije, a nakon edukacije više od 60% ljekarnika bi pristalo cijepiti. Preko 90% ljekarnika slaže se da bi za tu uslugu trebala postojati odgovarajuća licenca koja bi se periodički obnavljala. Ipak nešto više od 30% ispitanika smatra da cijepljenje ne spada u ljekarničke kompetencije. Ljekarnici su vrijednost usluge cijepljenja procijenili medijalnom vrijednosti od 50 kuna (interkvartilni raspon 20–70).

Zaključno, rezultati pokazuju spremnost većeg dijela ljekarnika na uvođenje nove usluge u ljekarništvo, ali isključivo uz prethodnu edukaciju. S druge strane, rezultati ukazuju da dio ljekarnika smatra da cijepljenje ne spada u ljekarničke kompetencije te nemaju pozitivan stav prema uvođenju te usluge što upućuje na potrebu za raspravom unutar struke o ulози ljekarnika u cijepljenje.

Mikrofluidički enzimatski mikroreaktor za istraživanje intestinalnog metabolizma lijekova

Zrinka Duvnjak, Vera Kouhi, Tiina Sikanen

Zavod za farmaceutsku kemiju i tehnologiju, Sveučilište u Helsinkiju, Farmaceutski fakultet, Finska

duvnjak.zrinka@gmail.com

Iako se metabolizam lijekova uglavnom odvija u jetri, počinje se pridavati sve veća pozornost i metabolizmu lijekova u drugim organima. Intestinalni metabolizam pokazao se mnogo značajnijim nego što se ranije mislilo te postaje pogotovo interesantan farmaceutskoj industriji pri određivanju potrebe za kliničkim studijama u kojima se dokazuje inhibični ili induktorni potencijal novog lijeka kandidata. Uobičajeni eksperimenti s enzimima zahtijevaju veliki utrošak kemikalija, korak razdvajanja enzima prije detekcije produkta, a za određivanje mehanizma inhibicije nekog enzima često je potrebno izvesti čitav niz eksperimenata, što farmaceutskoj industriji troši vrijeme i novac. U cilju stvaranja bolje platforme za istraživanje intestinalnog metabolizma lijekova koja ima riješene navedene probleme te platforme za *in vitro* istraživanja koja će bolje imitirati stvarne uvjete u ljudskom tijelu, u ovom radu razvijen je mikrofluidički enzimatski mikroreaktor s imobiliziranim ljudskim intestinalnim mikrosomima. Mikročipovi korišteni u ovom radu su proizvedeni od nestehiometrijskih tiolena nastalih *klik*-reakcijom, a mikrosomi su na mikročip imobilizirani fuzijom s biotiniziranim liposomima. Pokazano je da enzimi na ovakvoj platformi zadržavaju svoju aktivnost kroz 8 sati. Također, koristeći uobičajene (statičke) metode okarakterizirani su intestinalni i jetreni mikrosomi te su rezultati pokazali da je ekspresija CYP1B1 u intestinalnim mikrosomima značajno veća nego što je pokazano u dosada objavljenoj literaturi. Puni potencijal ove platforme koja uključuje protok reaktanata preko imobiliziranih enzima pokazan je imitacijom stanja pacijenta s karcinomom koji je na konstantnoj terapiji paklitakselom te na privremenoj terapiji ketokonazolom zbog teže gljivične infekcije. Iz ovog primjera je jasno vidljiv reverzibilan mehanizam inhibicije CYP3A4 od strane ketokonazola što bi i za pacijenta značilo izostanak nuspojava ketokonazola nakon prestanka njegove primjene.

Razvoj novih bioanalitičkih metoda za individualizaciju terapije raka dojke

Lu Turković¹, Tajana Silovski², Irena Radić³, Marina Kostešić³, Luka Bočkor⁴, Iva Šunić⁴, Biljana Nigović¹, Miranda Sertić¹

¹ Zavod za analitiku i kontrolu lijekova, Sveučilište u Zagreb, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

² Klinika za onkologiju, Klinički bolnički centar Zagreb, Hrvatska

³ R&D PLIVA Croatia Ltd, Teva api R&D, Zagreb, Hrvatska

⁴ Centar za primijenjenu bioantropologiju, Institut za antropologiju, Zagreb, Hrvatska

lu.turkovic@pharma.unizg.hr

HRZZ projekt naziva „Nova bioanalitička rješenja za personalizaciju terapije raka dojke“ u svom fokusu ima razvoj bioanalitičkih metoda za terapijsko praćenje novih lijekova koji se koriste u terapiji raka dojke. Radi se o inhibitorima o ciklinu D ovisnih kinaza (CDK) 4 i 6, palbociklibu, ribociklibu i abemaciclibu, te o antiestrogenim lijekovima koji se s njima koriste u sinergističkim terapijskim kombinacijama – anastrozolu, letrozolu i fulvestrantu. U terapiji citostaticima, lijekovima uske terapijske širine i visokog rizika nuspojava, ali i opasnosti napretka bolesti u slučaju poddoziranja, terapijsko praćenje u plazmi pacijenta može uvelike poboljšati ishode liječenja. Stoga je cilj našeg istraživanja razviti osjetljive, selektivne i pouzdane analitičke metode sposobne detektirati niske koncentracije analita u složenom biološkom matriksu. U tu svrhu koriste se sofisticirane tehnike tekućinske kromatografije (ultra)visoke djelotvornosti (*engl.* (ultra)high performance liquid chromatography, (U)HPLC) i kapilarne elektroforeze (*engl.* capillary electrophoresis, CE). Za detekciju analita koriste se detektor niza dioda (*engl.* diode array detector), detektor fluorescencije (*engl.* fluorescence detector, FLD) i spektrometar masa (*engl.* mass spectrometer, MS). Tijekom prve godine provedbe projekta optimizirano je nekoliko HPLC-DAD-FLD metoda za istovremenu analizu svih šest analita u plazmi korištenjem različitih kromatografskih kolona i mobilnih faza. Kroz suradnje s Plivom i Institutom za antropologiju optimizirani su parametri detekcije single quadropole (SQD) i quadropole-time-of-flight (QTOF) MS detektora, kako bi se mogli analizirati realni uzorci vrlo niskih koncentracija analita. Također je posebna pažnja posvećena pripremi uzoraka te je optimizirana metoda disperzivne tekućinske mikroekstrakcije. Ispitivani su parametri poput odabira prikladnog ekstrakcijskog i disperznog sredstva, optimalnog pH, dodatka soli i soniciranja kako bi se, uz dobro pročišćavanje uzoraka, postigli što bolji ekstrakcijski prinosi. Pored kromatografskih metoda, proučeno je i kapilarno-elektroforetsko ponašanje analita. Optimizirana je metoda za simultanu analizu inhibitora CDK i inhibitora aromataze uz dodatak negativno nabijenih ciklodeksrina u pozadinski pufer, čime je omogućeno selektivno razdvajanje nabijenih i nenabijenih analita.

U sklopu istraživanja izrađeno je i 5 studentskih radova.

Rad je financiran sredstvima projekta UIP-2019-04-8461 Hrvatske zaklade za znanost.

Sinteza i karakterizacija novih hibrida harmina i primakina s potencijalnim citostatskim djelovanjem

Ivana Vrdoljak, Jakov Vuk, Kristina Pavić

Zavod za farmaceutsku kemiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb, Hrvatska
vukjakov72@gmail.com

Rak je zajednički naziv za skupinu bolesti koje definira nekontrolirani rast malignih stanica. Svjetska zdravstvena organizacija je 2018. godine svrstala karcinom na drugo mjesto po uzroku smrti u svijetu [1]. Liječenje karcinoma uključuje kombinaciju više citostatika, radioterapiju ili pak kirurško odstranjenje. Unatoč značajnom napretku u terapiji ovih bolesti, problem i dalje predstavlja mala selektivnost ili prevelika toksičnost citostatika, što dovodi do ozbiljnih nuspojava, a uočena je i rezistencija tumorskih stanica na citostatike. Zbog svega navedenog postoji velika potreba za razvojem novih, selektivnijih i manje toksičnih citostatika. Zbog dokazanih antiproliferativnih svojstava primakina, poznatog antimalarika, i harmina, prirodnog harmala alkaloida, odlučili smo se na povezivanje tih dviju molekula u jednu kako bi dobili novi potencijalni antitumorski lijek. Variranjem mjesta supstitucije na harminskom dijelu molekule (O6, O7 ili N9) te vrste poveznice (urea ili 1,2,3-triazol) nastojali smo pojačati citostatsko djelovanje. Sintetizirana su tri derivata uree benzotriazolskom metodom [2], dok su metodom *klik*-kemije [3] sintetizirana tri derivata triazola. U radu su detaljno opisani postupci sinteze i strukturne karakterizacije spektroskopskim i analitičkim metodama šest novih hibridnih spojeva primakina i harmina. Novosintetizirani spojevi ne pokazuju potencijal za dobru oralnu bioraspoloživost te bi se u njihovom optimiranju trebalo ići prema poboljšanju bioraspoloživosti. U daljnjim istraživanjima, koja nadilaze okvire ovog rada, bit će ispitano njihovo citostatsko djelovanje na niz humanih malignih staničnih linija.

Rad je financiran sredstvima uspostavnog istraživačkog projekta Derivati harmina kao potencijalni antimalarici (UIP-2017-05-5160) Hrvatske zaklade za znanost.

[1] <http://www.who.int/cancer/en/>

[2] G. Džimbeg, B. Zorc, M. Kralj, K. Ester, K. Pavelić, G. Andrei, R. Snoeck, J. Balzarini, E. De Clercq, M. Mintas. The novel primaquine derivatives of *N*-alkyl, cycloalkyl or aryl urea: synthesis, cytostatic and antiviral activity evaluations. *Eur J Med Chem* 43 (2008) 1180–1187.

[3] F. Himo, T. Lovell, R. Hilgraf, V. V. Rostovtsev, L. Noodleman, K. B. Sharpless, V. V. Fokin. Copper(I)-catalyzed synthesis of azoles. DFT study predicts unprecedented reactivity and intermediates. *J Am Chem Soc* 127 (2005) 210–216.

N-glikozilacija imunoglobulina A u šećernoj bolesti tipa 1 kod djece

Sofia Shkunnikova, Matej Nemčić, Olga Gornik Kljaić

Zavod za biokemiju i molekularnu biologiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska
sshkunnikova@student.pharma.hr

Šećerna bolest tipa 1 (tip 1 diabetes mellitus, T1DM) kronična je autoimuna bolest koja predstavlja veliki javnozdravstveni problem i pojavljuje se najčešće među mlađom populacijom [1]. Etiologija T1DM obuhvaća i genske i okolišne čimbenike, kao i njihovu interakciju. Postupak postavljanja dijagnoze trenutno obuhvaća klasične testove kao što su koncentracija glukoze natašte i u nasumičnom uzorku, OGTT (*engl.* oral glucose tolerance test) i Hb1Ac (glikirani hemoglobin), iako je pokazano da se autoprotutijela karakteristična za ovu bolest mogu detektirati kod 95 % pacijenata godinama prije nastupa kliničkih simptoma. Brojne studije pokazale su da je glikozilacija plazmatskih proteina promijenjena kod različitih bolesti, a pogotovo onih upalnog karaktera [2]. Naša nedavna istraživanja ukazala su na postojanje promjena glikanskog obrasca u plazmi u ranom tijeku T1DM što sugerira da su glikani uključeni u razvoj ove bolesti te da nose dijagnostički i prognostički potencijal [3]. Svrha ovog istraživanja bila je identificirati glikanske strukture prisutne na IgA koje se razlikuju kod djece i adolescenata u ranoj fazi razvoja T1DM u odnosu na njihovu zdravu braću i sestre radi otkrivanja potencijalnog biljega za predviđanje razvoja T1DM već u ranoj dobi. Analizirana su 63 uzorka plazme djece i adolescenata oboljelih od T1DM, u rasponu godina 4–22 s medijanom 11, koji su bili prikupljeni u roku od tri mjeseca od postavljanja dijagnoze. Analizirano je i 86 uzoraka plazme njihovih zdravih braće i sestara.

N-glikozilacija imunoglobulina A analizirana je tekućinskom kromatografijom vrlo visoke djelotvornosti koja se bazira na hidrofilnim interakcijama (HILIC-UPLC). Pomoću neparometrijskog statističkog Mann-Whitney testa promatrala su se promjene u pojedinim glikanskim skupinama te u deriviranim svojstvima. Statistički značajnim se pokazalo smanjenje udjela visokomanoznih glikana sastavljenih od pet manosa kao i smanjenje udjela glikana s visokim grananjem, trigalaktozilacijom i trisijalizacijom. Navedene promjene odgovaraju onima primijećenima na ukupnim proteinima plazme, kao i na imunoglobulinu G. Navedeni rezultati ukazuju na moguću ulogu glikozilacije IgA u ranom tijeku nastanka šećerne bolesti te potrebu za dodatnim ispitivanjem njene prediktivne vrijednosti u razvoju same bolesti. Postojanje biljega za rani probir djece s povećanim rizikom za T1DM omogućilo bi pravovremenu intervenciju, a također bi pružilo i mogućnost pokušaja sprečavanja razvoja same bolesti.

[1] S. Wild, G. Roglic, A. Green, R. Sicree, H. King. Global prevalence of diabetes: Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 27 (2004) 1047–1053.

[2] O. Gornik, G. Lauc. Glycosylation of serum proteins in inflammatory diseases. *Dis Markers* 25 (2008) 267–278.

[3] N. Rudman, O. Gornik, G. Lauc. Altered N-glycosylation profiles as potential biomarkers and drug targets in diabetes. *FEBS Lett* 593 (2019) 1598–1615.

Ispitivanje interakcija mikotoksina sterigmatocistina s ciklodekstrinima i humanim serumskim albuminom spektrofotometrijskim metodama

Lucija Šćur¹, Daniela Jakšić¹, Ivo Piantanida²

¹ Zavod za mikrobiologiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

² Institut Ruđer Bošković, Zagreb, Hrvatska

scurlucija@gmail.com

Ciklodekstrini (CXD) su ciklički oligosaharidi koji u vodenim otopinama stvaraju inkluzijske komplekse s malim organskim spojevima. Sugamadeks je modificirani oblik CXD gama (CXD- γ), a u Hrvatskoj je registriran kao lijek Bridion (CXD-Br) koji se koristi kod reverzije intramuskularne blok anestezije. Sterigmatocistin (STC) je jedan od najčešćih mikotoksina u zatvorenim prostorima u kojima ljudi borave i rade. Ovaj toksični, mutageni i genotoksični mikotoksin dokazanoga kancerogenoga učinka u životinja (grupa IARC 2B), prekursor je i u biosintezi aflatoksina B1 (AFB1) koji se povezuje s hepatocelularnim karcinomom kod ljudi (grupa IARC 1). Poznato je da CXD stupaju u značajne interakcije sa AFB1 te su stoga CXD našli primjenu u kromatografskim metodama dokazivanja ovoga mikotoksina. Obzirom na konformacijsku podudarnost kemijskih struktura STC-a i anestetika rokuronija, kao i na sličnost u kemijskim strukturama STC-a i AFB1, može se pretpostaviti interakcija STC-a s CXD-om, o čemu su podaci u literaturi oskudni.

U ovome radu ispitane su nekovalentne interakcije STC-a s CXD beta (CXD- β), CXD- γ i CXD-Br. Kako bi se procijenio afinitet vezanja STC-a i CXD-a na temelju spektrofotometrijskih mjerenja (UV/Vis, cirkularni dikroizam – CD i fluorimetrija) izračunate su $\log K$. Kako bi se procijenila mogućnost primjene CXD-a kao antidota istim je metodama izračunat i afinitet vezanja za humani serumski albumin (HSA) te je proveden kompetitivni fluorimetrijski eksperiment istiskivanja STC-a vezanog za HSA.

Prema dobivenim rezultatima može se zaključiti da CXD- β , CXD- γ i CXD-Br stupaju u snažne nekovalentne interakcije sa STC-om. Pri tome je najveći afinitet vezanja ($\log K$) izračunat za CXD-Br (6,46), a nešto niži za CXD- γ (6,15) i CXD- β (5,62). Ispitivanjem je također pokazano da se STC veže i na protein HSA no nižim afinitetom u odnosu na CXD, uz $\log K$ od 4,99 (CD spektroskopija) do 5,24 (fluorimetrija). U kompetitivnom fluorimetrijskom eksperimentu dokazano je da svi ispitani CXD istiskuju STC iz kompleksa s HSA. Dobiveni rezultati ukazuju na mogućnost primjene CXD-a kao antidota kod trovanja mikotoksinom STC-om.

UP8

Visokoprotečno obogaćivanje C3 komponente komplemента iz ljudske plazme pomoću lektinskog afinitetnog medija

Dinko Šoić¹, Toma Keser¹, Mislav Novokmet², Gordan Lauc^{1,2}, Olga Gornik Kljaić¹

¹ Zavod za biokemiju i molekularnu biologiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

² Genos, Zagreb, Hrvatska

dsoic@pharma.hr

Treća komponenta sustava komplemента – glikoprotein C3, ima središnju ulogu u aktivaciji tog značajnog sustava, kako u klasičnom tako i u alternativnom putu njegove aktivacije. Budući da je najzastupljeniji protein komplemента s koncentracijom u plazmi od približno 1,2 mg/mL, njegova je pozicija u imunološkom nadzoru ključna. Međutim, njegova glikozilacija, kao jedna od najznačajnijih posttranslacijskih modifikacija, nije dobro istražena, a iz literature je poznato samo to da glikoprotein C3 ima isključivo visokomanozne N-glikane. Uzimajući u obzir sve veće prepoznavanje uključenosti komplemента u različite procese bolesti, važno je razviti visokoprotečne metode za detaljnu analizu ovog ključnog proteina komplemента. Cilj ovog istraživanja bio je razviti protokol obogaćivanja C3 glikoproteina iz ljudske plazme za daljnju analizu njegovih glikopeptida tehnikom tekućinske kromatografije u sprezi sa spektrometrijom masa (LC-MS). Budući da se N-glikozilacijski profil C3 glikoproteina sastoji samo od visokomanoznih struktura, obogaćivanje glikoproteina iz plazme postignuto je pomoću lektinskog afinitetnog medija. Testirani su različiti volumeni uzoraka plazme i uvjeti obogaćivanja u svrhu dobivanja što specifičnijeg i učinkovitijeg obogaćivanja ciljanog glikoproteina. Dobiveni protokol za obogaćivanje C3 glikoproteina i analizu njegovih glikopeptida primijenjen je na 14 zdravih muških pojedinaca mjerenih u tri vremenske točke, kako bi se odredila stabilnost C3 N-glikoma. Korištenjem ove metode po prvi smo put pokazali da je C3 N-glikom stabilan kod zdravih osoba.

Sinteza i karakterizacija novih hibridnih derivata antranilne kiseline i kinolina kao potencijalnih agensa za suzbijanje bakterijskih biofilmova

Anja Kučević¹, Ivan Džajić¹, Ivana Perković¹, Tanja Poljak²

¹ Zavod za farmaceutsku kemiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

² Fidelta Ltd.- Department of medicinal chemistry, Zagreb, Hrvatska

akucevic@pharma.hr

Gram-negativne bakterije, poput roda *Pseudomonas*, razvile su rezistenciju na više klasa antibiotika zbog sposobnosti formiranja bakterijskog biofilma. Struktura biofilma bakterijama daje otpornost na napad antibiotika te pruža zaštitu od imunskog odgovora domaćina [1]. Brojna znanstvena istraživanja pokazala su inhibitorni učinak derivata antranilne kiseline i 4,7-disupstituiranih kinolinskih spojeva na međustaničnu bakterijsku komunikaciju (*engl.* quorum sensing, QS), koja je iznimno važna u formiranju funkcionalnog bakterijskog biofilma [2,3]. Povezivanjem ta dva molekulska motiva u nove hibridne molekule, nastoji se postići učinkovitije i selektivnije djelovanje te usporiti razvoj rezistencije. Kinolinski gradivni elementi hibridnih molekula dobiveni su reakcijom 4,7-diklorkinolina s 1,4-diaminobutanom ili 1,2-diaminoetanom. Derivati antranilne kiseline su prvotno prevedeni u odgovarajuće estere ili su korišteni komercijalno dostupni esteri, koji su zatim u reakciji s hidrazin-monohidratom dali odgovarajuće hidrazide. Hidrazidi su u reakciji s 1,1'-karbonildiimidazolom prevedeni u oksadiazolonske derivate antranilne kiseline, koji su s 4,7-disupstituiranim kinolinskim derivatima dali acil-semikarbazide, a njihovom ciklizacijom su dobiveni odgovarajući oksadiazoli. Strukture nosintetiziranih molekula potvrđene su uobičajenim analitičkim i spektroskopskim metodama (NMR, MS, talište). Kako bi se predvidjela oralna bioraspoloživost nosintetiziranih spojeva, proveden je izračun fizičko-kemijskih deskriptora određenih farmakokinetičkih parametara pomoću besplatne web-aplikacije SwissADME koji je pokazao da su novi hibridni spojevi dobri kandidati za nove lijekove. Ispitivanja biološkog djelovanja nosintetiziranih hibridnih spojeva su u tijeku.

[1] F. Soukariéh, P. Williams, M. J. Stocks, M. Cámara. *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing systems as drug discovery targets: Current position and future perspectives. *J Med Chem* 61 (2018) 10385–10402.

[2] M. W. Calfee, J. P. Coleman, E. C. Pesci. Interference with *Pseudomonas* quinolone signal synthesis inhibits virulence factor expression by *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci USA* 98 (2001)11633–11637.

[3] I. Aleksić, S. Šegan, F. Andrić, M. Zlatović, I. Moric, D. M. Ospenica, L. Senerovic. Long-chain 4-aminoquinolines as quorum sensing inhibitors in *Serratia marcescens* and *Pseudomonas aeruginosa*. *ACS Chem Biol* 12 (2017) 1425–1434.

Prognostički značaj predoperativnih računskih hematoloških upalnih parametara kod pacijentica s karcinomom dojke

Karmela Ana Popović¹, Ljiljana Mayer², Ivan Milas³, Mihaela Gaće², Milica Šoštarčić², Donatella Verbanac¹

¹ Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

² Odjel za medicinsku biokemiju u onkologiji, Klinika za tumore, KBC Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

³ Zavod za onkoplastičnu i rekonstruktivnu kirurgiju, Klinika za tumore, KBC Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

karmela.ana@gmail.com

Karcinom dojke je prema prodacima GLOBOCAN-a (interaktivne platforme Svjetske zdravstvene organizacije koja iznosi globalne statistike pojavnosti karcinoma s ciljem informiranja javnosti o kontroli i istraživanjima u tom području) i Registra za rak Republike Hrvatske, najčešće sijeło karcinoma u žena (učešćalost oko 24 %). Sama patogeneza nastanka karcinoma dojke uvjetovana je genetskim (npr. mutacije u BRCA genima) i okolišnim čimbenicima (npr. ionizirajuće zračenje, prehrana), a brojna istraživanja ističu i važnu ulogu imunosnog sustava u karcinogenezi. Kada je riječ o dijagnostici, važno je istaknuti populacijski probir s ciljem što ranijeg otkrivanja karcinoma. U Republici Hrvatskoj se od 2006. godine uspješno provodi Nacionalni program ranog otkrivanja karcinoma dojke s prosječnim odazivom žena u dobi između 50. i 69. godine života oko 60 %.

U istraživanju provedenom u Klinici za tumore KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu ispitivana je povezanost neizravnih hematoloških parametara, omjera neutrofila i limfocita (NLR), omjera trombocita i limfocita (PLR), indeksa sustavnog imunosno-upalnog odgovora (SII) [SII = (broj trombocita × apsolutni broj neutrofila) / apsolutni broj limfocita] s ishodima liječenja i preživljenja u pacijentica liječenih od karcinoma dojke u razdoblju od 2015. do 2021. godine. U ovo retrospektivno istraživanje bile su uključene 192 žene (24–84 godina, medijan: 53 godine) te su prikupljeni klinički (bolnički laboratorijski sustav (BIS), laboratorijski informatički sustav (SAMSON, KlinikLab)) i hematološko-biokemijski podatci (hematološki analizatori Sysmex XN-1000 i Sysmex XN-550). Hi-kvadrat testom utvrđena je statistički značajna ovisnost NLR omjera i SII indeksa u odnosu na dob pacijentica: mlađe pacijentice (≤ 51 godina) imale su više vrijednosti NLR omjera ($P = 0,025$) i SII indeksa ($P < 0,001$) u odnosu na starije pacijentice (> 51 godina). Pri graničnim vrijednostima NLR omjera od 2,13 ($P = 0,058$) i PLR omjera od 88,23 ($P = 0,146$) nije utvrđena statistički značajna promjena vrijednosti prije i poslije operacije. Pri graničnoj vrijednosti NLR omjera od 2,65 ($P = 0,001$) i 3,30 ($P < 0,001$) primijećena je tendencija pada vrijednosti NLR omjera nakon operacije. Za SII indeks također je utvrđen značajni pad vrijednosti nakon operacije ($P < 0,001$). Kako su vrijednosti NLR omjera pokazale statistički značajni pad vrijednosti nakon operacije tek pri višim graničnim vrijednostima, ovim istraživanjem zaključeno je kako je SII indeks superiorniji i sveobuhvatniji nad parametrima definiranim NLR i PLR omjerom, a da optimalna granična vrijednost za NLR omjer iznosi 2,65.

POSTERSKA PRIOPĆENJA

Klorokinski fumardiamidi za borbu protiv bakterijske komunikacije

Maja Beus^{1,2}, Kirsi Savijoki³, Jayendra Z. Patel⁴, Jari Yli-Kauhaluoma⁴, Adyary Fallarero³, Branka Zorc¹

¹ Zavod za farmaceutsku kemiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

² Jedinica za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam, Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb, Hrvatska

³ Zavod za farmaceutske bioznanosti, Sveučilište u Helsinkiju, Farmaceutski fakultet, Finska

⁴ Zavod za farmaceutsku kemiju i tehnologiju, Sveučilište u Helsinkiju, Farmaceutski fakultet, Finska

mbeus@imi.hr

Quorum sensing (QS), odnosno komunikacija među bakterijskim stanicama, ima bitnu ulogu u preživljavanju i virulenciji bakterija. Putem QS-a, bakterije kontroliraju gustoću rasta populacije i komuniciraju stvaranje bakterijskog biofilma koji potiče patogenezu [1]. Ometanje QS-a jedan je od novijih pristupa koji se istražuje u liječenju bakterijskih bolesti jer, za razliku od antibiotika, vrši manji pritisak na mikrobe i samim time manje pridonosi razvoju antibiotske rezistencije [2]. QS se među bakterijama odvija putem malih molekula. Tako su, primjerice, u bakterijama *Pseudomonas aeruginosa* derivati kinolona jedni od signalnih molekula. Temeljem tih saznanja dizajnirani su i sintetizirani derivati kinolina koji su učinkoviti antagonisti receptora u signalnom putu *P. aeruginosa* [3]. Također, derivati kinolina su pokazali učinkovitost u inhibiranju stvaranja biofilma u meticilin-rezistentnim *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus epidermidis*, što ih čini zanimljivim molekulama za borbu protiv QS-a.

Ovdje je opisan dizajn i sinteza derivata klorokina koji su putem fumardiamidske poveznice povezani s primarnom, odnosno sekundarnom amino-skupinom koja se nalazi na drugoj strani molekule. Sintetizirani amidi bili su derivati etilendiamina, 1,4-fenildiamina te dva piperidinaminska derivata. Baktericidno i anti-QS djelovanje novih spojeva ispitano je na dva soja *C. violaceum* kako bi se ustanovilo ometaju li novi spojevi QS izravno unutar (QS inhibitori) ili izvan bakterijske stanice (tzv. *quorum quenchers*, QQ). Biološka ispitivanja su pokazala uspješnu inhibiciju QS-a od oko 46 % što je slično učinku kvercetina koji je korišten kao pozitivna kontrola (56 %). Budući da ovi spojevi imaju zanemariv baktericidan učinak te ometaju staničnu komunikaciju, mogu se smatrati pravim QQ-ima inhibirajući QS bez indukcije antibiotske rezistencije.

Ovaj rad financirala je Hrvatska zaklada za znanost projektom IP-2014-09-1501 i Jane and Aatos Erkkö Foundation (Helsinki, Finska).

[1] S. Mukherjee, B. L. Bassler. Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments. *Nat Rev Microbiol* 17 (2019) 371–382.

[2] P. Kryzek. Challenges and limitations of anti-quorum sensing therapies. *Front Microbiol* 10 (2019) 2473.

[3] C. Lu, B. Kirsch, C. Zimmer, J. C. de Jong, C. Henn, C. K. Maurer, M. Müsken, S. Häussler, A. Steinbach, R. W. Hartmann. Discovery of antagonists of PqsR, a key player in 2-alkyl-4-quinolone-dependent quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Chem Biol* 19 (2012) 381–390.

Utjecaj usluge upravljanja farmakoterapijom na kvalitetu života kardiovaskularnih bolesnika starije životne dobi

Lucija Ana Bićanić, Andrea Brajković, Iva Mucalo

Centar za primijenjenu farmaciju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

lucijaabicanic@gmail.co

Usluga upravljanja farmakoterapijom (*engl.* Comprehensive Medication Management services) pripada najnovijem smjeru razvoja ljekarničke struke. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj usluge upravljanja farmakoterapijom na kvalitetu života pacijenata starije životne dobi s postojećim kardiovaskularnim bolestima. Ovo ispitivanje dizajnirano je kao prospektivno intervencijsko ispitivanje s jednogodišnjim praćenjem pacijenata, a provedeno je u sklopu Farmakoterapijskog savjetovališta u Domu zdravlja Zagreb-Centar. U ispitivanje je bilo uključeno 65 osoba starosti od 65 do 80 godina s dijagnozom hipertenzije i još jednom ili više kardiovaskularnih bolesti. Kvaliteta života vezana uz zdravlje pacijenata ispitana je EQ-5D-5L upitnikom u dvije vremenske točke, po prvom dolasku u Farmakoterapijsko savjetovalište te nakon posljednje konzultacije, aproksimativno nakon godinu dana. EQ-5D-5L upitnik se sastoji od deskriptivnog sistema koji obuhvaća pet dimenzija (pokretljivost, skrb o sebi, uobičajene aktivnosti, bol, tjeskoba) te vizualne analogne skale (VAS) za ocjenu zdravlja pacijenata. U dimenzijama pokretljivost, skrb o sebi, uobičajene aktivnosti i bol pokazano je poboljšanje kvalitete života pacijenata u odnosu na vrijeme prije intervencije, odnosno pružanja usluge upravljanja farmakoterapijom dok je u dimenziji tjeskobe primijećeno pogoršanje kvalitete života pacijenata. Rezultati dobiveni pomoću VAS skale pokazali su kako usluga upravljanja farmakoterapijom nema utjecaj na samoprocijenjeno zdravlje pacijenata. Usluga upravljanja farmakoterapijom utječe pozitivno na većinu dimenzija kvalitete života kardiovaskularnih bolesnika starije životne dobi, no potrebno je proučiti ovo područje na većem uzorku pacijenata kako bi se detaljnije istražio utjecaj na svim dimenzijama kvalitete života.

Optimiranje procesa pripreme praškastog sustava natrijevog deksametazon fosfata za nazalnu primjenu

Sara Blažon ^{1*}, Patricia Dolanjski ^{1*}, Laura Nižić Nodilo ², Mirna Perkušić ², Daniela Amidžić Klarić ³, Anita Hafner ²

* Autorice su jednako pridonijele prikazanom istraživanju

¹ Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

² Zavod za farmaceutsku tehnologiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

³ Zavod za analitiku i kontrolu lijekova, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

sara.blazon@gmail.com

Nazalna primjena lijekova široko je zastupljena u liječenju oboljenja sluznice nosa. U odnosu na tekuće farmaceutske oblike, nazalni prašci omogućuju veću koncentraciju i produljeno zadržavanje djelatne tvari na mjestu primjene te bolju stabilnost. Većina nazalnih prašaka temeljena je na mukoadhezivnim polimerima sa sposobnošću bubrenja, a od posebnog interesa su polimerne mikrosfere s uklopljenim lijekom pripravljene sušenjem raspršivanjem [1].

Mikrosfere natrijevog deksametazon fosfata (NDF), pektina i hipromeloze pripravljene su sušenjem raspršivanjem uz variranje protoka uzorka te pri konstantnim postavkama kapaciteta aspiratora, ulazne temperature i protoka komprimiranog zraka. Mikrosferama su određeni sadržaj i uspješnost uklapanja lijeka, veličina te stupanj bubrenja u pročišćenju vodi i umjetnom nosnom fluidu (SNF). Odabrane mikrosfere pomiješane su s inertnim nosačem (α -laktosa monohidrat ili manitol veličine čestica 45–63 μm) u omjerima 1:1, 1:2, 1:4, 1:7 te 1:9 (m/m) pomoću mješača prašaka. Tako dobivenim prašcima određeni su homogenost, svojstva tečenja i stupanj bubrenja.

Mikrosfere pektina i hipromeloze (srednjeg volumnog promjera D_{v50} od $2,15 \pm 0,01$ do $13,65 \pm 0,45 \mu\text{m}$), sadržaja lijeka od $1,30 \pm 0,02$ do $33,50 \pm 0,44 \%$ (m/m), uspješno su pripravljene metodom sušenja raspršivanjem. Veličina mikrosfera povećavala se s koncentracijom sastavnica u sušenoj otopini. Mikrosfere su apsorbirale značajno manji volumen SNF-a po jediničnoj masi u usporedbi s pročišćenom vodom, uslijed umrežavanja pektina ionima kalcija iz SNF-a. Sposobnost bubrenja mikrosfera u SNF-u povećavala se s porastom udjela hipromeloze u polimernom matriksu i sa smanjenjem sadržaja uklopljenog lijeka. Praškasti sustavi odabranih mikrosfera i nosača bili su prikladne homogenosti te boljih reoloških svojstava u odnosu na same mikrosfere. Dodatak nosača povećao je volumen apsorbiranog medija u donorskom odjeljku po miligramu mikrosfera, proporcionalno udjelu nosača.

Mikrosfere pektina i hipromeloze primjenjive su u razvoju praškastog farmaceutskog oblika za nazalnu primjenu NDF-a. Utvrđena je prikladnost laktoze monohidrata i manitola kao nosača mikrosfera. Praškasti sustavi masenog omjera mikrosfera i inertnog nosača 1:9 najprikladniji su za dodatna *in vitro* te *in vivo* ispitivanja.

Ovaj rad sufinancirala je Hrvatska zaklada za znanost projektom UIP-2017-05-4592.

[1] L. Tiozzo Fasiolo, M. D. Manniello, E. Tratta, F. Buttini, A. Rossi, F. Sonvico, F. Bortolotti, P. Russo, G. Colombo. Opportunity and challenges of nasal powders: Drug formulation and delivery. *Eur J Pharm Sci* 113 (2018) 2–17.

Kakvoća kardamoma s hrvatskog tržišta

Lara Čiča, Biljana Blažeković

Zavod za farmakognoziju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

laraacica@gmail.com

Kardamom (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton) je aromatična zeljasta trajnica koja pripada porodici đumbirovki (Zingiberaceae). Nativna je biljka južne Indije, no u novije se vrijeme sve više uzgaja i u drugim tropskim dijelovima svijeta. Osušeni plodovi i sjemenke cijenjeni su kao začim, poglavito u indijskoj kuhinji, a koristi se i kao aroma u hrani i piću te u kozmetičkoj i parfemskoj industriji. Ljekarnička droga *Cardamomi fructus* ima dugu povijest primjene u Ajurvedi, tradicionalnoj indijskoj medicini, gdje se najviše koristi u liječenju gastrointestinalnih i respiratornih tegoba. Suvremena znanstvena istraživanja kardamoma ograničena su na prekliničke rezultate koji ukazuju na njegov antioksidativni, protutumorski, protuupalni, spazmolitički, gastroprotektivni i antidijabetički potencijal. Fitokemijske studije pokazale su da droga *Cardamomi fructus* sadrži eterično ulje, flavonoide, karotenoide, masne kiseline i minerale. Ljekovito djelovanje poglavito se pripisuje sadržaju eteričnog ulja koji je vrlo promjenjiv i ovisan o varijetetu i porijeklu biljnog materijala te metodama ekstrakcije. Cilj ovoga diplomskog rada bio je utvrditi udio i sastav eteričnog ulja kao kriterija kakvoće kardamoma trenutno dostupnog na hrvatskom tržištu. Farmakopejskom metodom destilacije pomoću vodene pare određen je sadržaj eteričnog ulja kojem je potom analiziran kemijski sastav primjenom plinske kromatografije spregnute s tandemskom spektrometrijom masa (GC-MS/MS). U radu je analizirano ukupno osam uzoraka kardamoma, od kojih četiri uzorka droge *in toto* i četiri uzorka ploda *in pulvere*. Utvrđeno je da komercijalno dostupan kardamomov plod u prahu sadrži 4–40 mL/kg eteričnog ulja, dok je udio eteričnog ulja u *in toto* plodovima iznosio 44–56 mL/kg. Hlapljive sastavnice eteričnog ulja identificirane su usporedbom njihovih retencijskih indeksa kao i spektara masa s bazama NIST 14, Wiley 9, HPCHE 2205 i Adams. Glavne sastavnice kardamomovog eteričnog ulja su oksigenirani ciklički monoterpeni spojevi α -terpinil acetat (35,99–62,28 %) i 1,8-cineol (0,24–30,62 %). Među ostalim manje zastupljenim spojevima ističu se α -terpineol (2,08–16,75 %), linalol (0,81–7,25 %) i sabinen (0,09–3,76 %). Dobiveni rezultati upućuju na značajne razlike u sadržaju i sastavu ljekovitih tvari u komercijalno dostupnom kardamomovom plodu. Također ističu superiornu kakvoću cjelovite droge u odnosu na onu skladištenu i dostupnu u obliku praha.

Analiza podataka o učincima levotiroksina na određivanje funkcijskih testova štitnjače

Lucija Daskijević¹, Anita Somborac Bačura¹, Domagoj Marijančević²

¹ Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

² Endokrinološki laboratorij, Klinika za onkologiju i nuklearnu medicinu, KBC Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

ldaskijevic@pharma.hr

Priprema bolesnika je važan dio laboratorijskog procesa. Predanalitički čimbenici koji utječu na određivanje koncentracije funkcijskih testova štitnjače su vrijeme i postupak uzorkovanja krvi, prehrana, tjelesna aktivnost, stres i dnevni ritam lučenja. Bolesnici s hipotireozom liječe se levotiroksinom, sintetskim analogom tiroksina stoga je cilj ovog istraživanja ispitati učinke terapije levotiroksinom uzete prije vađenja krvi na koncentracije funkcijskih testova štitnjače kako bi se temeljem dobivenih spoznaja mogao definirati točan postupak pripreme bolesnika.

Istraživanje je provedeno prospektivno u KBC Sestre milosrdnice na malom uzorku od 20 dobrovoljaca odrasle životne dobi. Ispitanicima su se uzimali uzorci krvi za određivanje koncentracija tireotropina ili tireostimulirajućeg hormona (TSH), tiroksina (T4), trijodtironina (T3), slobodnog tiroksina (FT4) i slobodnog trijodtironina (FT3) neposredno prije i 2,5 sata nakon uzimanja levotiroksina. Koncentracije TSH, T4, T3, FT4 i FT3 određene su kemiluminiscentnom metodom s mikročesticama na automatskom analizatoru Abbott Architect i2000. Utvrđivanje statistički značajnih razlika u koncentracijama ispitano je Wilcoxonovim parnim testom.

Dobiveni rezultati pokazali su statistički značajan pad koncentracije TSH koji je posljedica njegovog cirkadijalnog ritma lučenja [1]. Terapija levotiroksinom dovela je do statistički značajnog povećanja koncentracije T4 i FT4. S druge strane, terapija levotiroksinom nije izazvala statistički značajnu promjenu koncentracije T3 ni FT3.

Rezultati ukazuju na to da terapija levotiroksinom ima klinički značajan učinak na koncentraciju funkcijskih testova štitnjače, preciznije na određivanje T4 i FT4, pa je opravdano od pacijenata zahtijevati da prije vađenja krvi ne uzimaju terapiju, već da to učine nakon uzorkovanja krvi.

[1] V. Vidranski. Štitnjača – u lovu na leptira. Priručnik za trajno usavršavanje Hrvatske komore medicinskih biokemičara. Zagreb, Medicinska naklada, 2020, str. 9–12., 14–19.

Lijekovi koji povećavaju rizik od padova u osoba starije životne dobi

Eleonora De Lai ¹, Elizabeta Paar ¹, Maja Ortner Hadžibabić ¹, Margita Držaić ^{1,2}, Iva Bužančić ^{1,2,3}, Ingrid Kummer ^{2,3}, Jovana Brkić ³, Daniela Fialova ³

¹ Centar za primijenjenu farmaciju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

² Gradska ljekarna Zagreb, Hrvatska

³ Zavod za socijalnu i kliničku farmaciju, Karlovo Sveučilište, Farmaceutski fakultet, Hradec Králové, Češka Republika

delaeleonora@gmail.com

Osobe starije životne dobi uobičajeno imaju više bolesti i posljedično više propisanih lijekova u terapiji. Starije osobe su pod većim rizikom od terapijskih komplikacija zbog promjena u organizmu koje se događaju kao posljedica starenja. Takve promjene utječu na farmakokinetiku i farmakodinamiku lijekova. Padovi i prijelomi su značajni uzročnici mortaliteta i morbiditeta u starijih osoba. Padovi se javljaju kao rezultat složene kombinacije različitih čimbenika rizika među koje spadaju i lijekovi koji povećavaju rizik od padova. Cilj ovog istraživanja bio je potvrditi hipotezu da su određeni lijekovi povezani s padovima starijih osoba. Opservacijsko istraživanje obuhvatilo je osobe u dobi od 65 godina i više, koje imaju barem jedan lijek u kroničnoj terapiji, a ispitane su u javnim ljekarnama na području Grada Zagreba, Zagrebačke i Varaždinske Županije. Provedeno istraživanje dio je većeg istraživanja u sklopu EuroAgeism projekta (ESR 7 Horizon projekt). U istraživanje je bilo uključeno 164 ispitanika (dobi $74,83 \pm 6,962$; 63 % žena). Analiza lijekova koji povećavaju rizik od padova učinjena je upotrebom STOPPFall alata. Učestalost lijekova koji povećavaju rizik od padova bila je 70,1 % u ispitivanoj populaciji, a padovi su bili zastupljeniji u žena i osim toga, žene su u terapiji imale više lijekova koji povećavaju rizik od padova. Najzastupljenije skupine lijekova koji povećavaju rizik od padova bile su diuretici i benzodiazepini, a najzastupljeniji pojedini lijekovi koji povećavaju rizik od padova bili su diazepam, tramadol i hidroklorotiazid. Ispitanici kod kojih su u posljednjih 12 mjeseci zabilježeni padovi, imali su u terapiji propisan veći broj lijekova koji povećavaju rizik od padova. Također, veći broj lijekova koji povećavaju rizik od padova zabilježen je u ispitanika koji su zatražili hitnu medicinsku pomoć u posljednjih 12 mjeseci, u onih kojima je utvrđen sindrom krhkosti te u onih koji su imali simptome omaglice, vrtoglavice i nestabilnog hoda. Ustanovljena visoka zastupljenost lijekova koji povećavaju rizik od padova u osoba starije životne dobi i njihova povezanost s neželjenim događajima u ispitivanoj populaciji ukazuju na potrebu za racionalizacijom upotrebe lijekova u ovoj osjetljivoj skupini. Potrebna su daljnja istraživanja s ciljem utvrđivanja učinkovitosti STOPPFall alata i depreskripcije u sprječavanju padova starijih osoba.

Produkcija i *in vitro* karakterizacija novih rekombinantnih bispecifičnih antitijela s antileukemijskim djelovanjem

Marko Dužević¹, Oliver Seifert²

¹ Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

² University of Stuttgart, Institute of Cell Biology and Immunology, Njemačka

marko.duzevic98@gmail.com

Akutna limfoblastična leukemija (ALL) najčešća je zloćudna bolest dječje dobi koja se godišnje javlja u oko 30–40 djece u Hrvatskoj [1]. Razlikuju se dva podtipa: limfoblastična leukemija B- i T-stanica, a prvi oblik javlja se čak tri puta češće [2]. Liječenje uključuje agresivne kemoterapeutike koji izazivaju brojne nuspojave, a u slučaju recidiva ili refraktornog oblika bolesti, pristupa se imunološkoj terapiji ili presadnji koštane srži.

Blinatumomab, obećavajući lijek druge linije je bispecifični rekombinantni fuzijski protein koji svoje djelovanje ispoljava vezanjem dvaju transmembranskih proteina: CD19, antigena pretjerano eksprimiranog na površini stanica leukemije te CD3, antigena eksprimiranog na T stanicama. Na taj način omogućuje pacijentovim T stanicama da specifično prepoznaju maligne B stanice te na njima izvrše selektivni i usmjereni citotoksični napad [3].

Nedostatak blinatumomaba je vrlo kratko eliminacijsko poluvrijeme od 2 sata zbog čega se daje u obliku 24-satne kontinuirane infuzije 28 uzastopnih dana što terapiju čini vrlo neugodnom. Stoga je cilj ovog rada bio prirediti i producirati četiri nova rekombinantna bispecifična antitijela za koja se smatra da bi trebala imati bolje djelovanje i/ili duže poluvrijeme eliminacije zbog uvedenih modifikacija u strukturi. Nakon produkcije u ljudskoj fetalnoj staničnoj liniji bubrega (HEK 293-6E), antitijela su biokemijski okarakterizirana upotrebom SDS-page elektroforeze i kromatografije isključenjem po veličini (SEC-HPLC). Slijedila su ispitivanja svojstava vezanja na SEM (CD19 antigen eksprimirajuća stanična linija akutne limfoblastične leukemije B stanica) i Jurkat (CD3 antigen eksprimirajuća T stanična linija) stanice metodama ELISA i fluorescencijom aktiviranim razvrstavanjem stanica (FACS) tehnikom protočne citometrije. Nakon utvrđenog vezanja, napravljeni su testovi citotoksičnosti kako bi se utvrdila sposobnost ubijanja leukemijskih stanica. Za ova su ispitivanja korištene SEM stanice i T stanice izolirane iz uzoraka mononuklearnih stanica periferne krvi različitih donora. Dobiveni rezultati uspoređeni su sa blinatumomabom koji je služio kao referentna molekula.

Od četiri istraživane molekule (elg1+1, Fab-eFab, elg2+1 cd3-bottom, elg2+1 cd19-alone), jedna, nazvana Fab-eFab, pokazala je poboljšana svojstva vezanja i citotoksičnosti te će u daljnim istraživanjima, kao lead molekula, biti testirana njezina farmakokinetička svojstva.

[1] https://www.cybermed.hr/clanci/akutna_limfoblasticna_leukemija_all_najcesca_zl_ocudna_bolest_djecje_dobi

[2] <https://www.lls.org/leukemia/acute-lymphoblastic-leukemia>

[3] <https://www.blincyto.com>

Aktivacija NLRP3 inflamasoma u pacijenata sa stabilnom kroničnom opstrukcijskom plućnom bolesti

Iva Hlapčić¹, Ivona Markelić², Margareta Radić Antolčić³, Miroslav Samaržija², Sanja Popović-Grle^{2,4}, Andrea Vukić Dugac^{2,4}, Lada Rumora¹

¹ Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju, Sveučilište u Zagreb, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

² Klinika za plućne bolesti Jordanovac, Klinički bolnički centar Zagreb, Hrvatska

³ Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Zagreb, Hrvatska

⁴ Sveučilište u Zagrebu Medicinski fakultet, Hrvatska

ihlapcic@pharma.hr

Kronična opstrukcijska plućna bolest (KOPB) složena je bolest s kroničnim upalnim odgovorom na lokalnoj i sistemskej razini. Patogeneza KOPB-a uključuje upalne imunodne procese te se smatra da aktivacija NLRP3 (*engl.* nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor family pyrin domain-containing 3) inflamasoma ima imunomodulacijski učinak kojim se promovira upalno stanje. Stoga, cilj ovog istraživanja je odrediti plazmatsku koncentraciju interleukina (IL)-1 β te ekspresiju gena za IL-1 β , NLRP3 i kaspazu-1 (*CASP1*) u perifernoj cirkulaciji pacijenata sa stabilnim KOPB-om kako bi se ispitalo dolazi li do aktivacije NLRP3 inflamasoma. Također, ispitano je postoji li povezanost između dva nekodirajuća *NLRP3* polimorfizma (rs10754558, rs4612666) i rizika od KOPB-a.

U istraživanje je uključeno 109 pacijenata u stabilnoj fazi KOPB-a i 95 zdravih ispitanika. Krv prikupljena u epruvetu s etilendiamintetraoctenom kiselinom (EDTA) korištena je za mjerenje koncentracije IL-1 β pomoću Luminex tehnologije. Na automatiziranim analizatorima određeni su ukupan broj leukocita i koncentracija fibrinogena. Metoda utvrđivanja genske ekspresije je kvantitativna lančana reakcija polimeraze nakon reverzne transkripcije (*engl.* reverse transcription quantitative polymerase-chain reaction, RT-qPCR), a odabrani polimorfizmi *NLRP3* gena određeni su testom alelne diskriminacije nakon provedenog PCR-a u stvarnom vremenu (*engl.* real-time PCR). Dobiveni rezultati analizirani su MedCalc i SNPStats statističkim programima.

Plazmatska koncentracija IL-1 β te genska ekspresija *IL1B*, *NLRP3* i *CASP1* povećani su u pacijenata s KOPB-om u usporedbi s kontrolnom skupinom. Ipak, nijedan od navedenih parametara nije pokazivao povezanost sa stupnjem plućne opstrukcije niti s pušačkim statusom. Kombinirani model parametara sastavljen od IL-1 β , broja leukocita i fibrinogena pokazao je veliku predikcijsku vrijednost za KOPB s 89 % točno klasificiranih slučajeva (AUC = 0,934, 95 % CI = 0,890–0,964). Od analiziranih nekodirajućih *NLRP3* SNP-ova, nijedan nije pokazao povezanost s rizikom od KOPB-a. Također, utvrđeno je da ne postoji povezanost ispitivanih polimorfizama s koncentracijom IL-1 β niti s ekspresijom *NLRP3* gena.

Povećana genska ekspresija *IL1B*, *NLRP3* i *CASP1* te povišena koncentracija IL-1 β u plazmi pacijenata s KOPB-om ukazuju na mogućnost aktivacije NLRP3 inflamasoma. Aktivacija NLRP3 inflamasoma u perifernom odjeljku mogla bi predstavljati značajan dio sterilne upale u stabilnoj fazi KOPB-a.

Optimizacija ekstrakcije, kemijska karakterizacija i potencijalni učinak na cijeljenje rane glicerolnih ekstrakata purpurne rudbekije (*Ehinacea purpurea* (L.) Moench)

Lejsa Jakupović¹, Petar Ciganović¹, Laura Nižić Nodilo², Anita Hafner², Marijana Zovko Končić¹

¹ Zavod za farmakognoziju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

² Zavodu za farmaceutsku tehnologiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

ljakupovic@pharma.hr

Purpurna rudbekija (*Ehinacea purpurea* (L.) Moench, *Asteraceae*) se tradicionalno koristi za pomoć kod prehlade i gripe te u terapiji kožnih oboljenja i manjih rana [1]. Među bioaktivnim tvarima prisutnim u nadzemnim dijelovima posebno se ističu fenolne kiseline, uglavnom derivati kavene kiseline [2]. U radu je razvijena ekološki prihvatljiva metoda ultrazvučne ekstrakcije purpurne rudbekije pomoću glicerola. Određeni su optimalni uvjeti ekstrakcije te ispitan učinak priređenih ekstrakata na cijeljenje rane *in vitro*. Biljni materijal je donirala tvrtka Suban. Ekstrakcija je optimirana korištenjem Box-Behnken dizajna. Neovisne varijable bile su udio glicerola (50–90 %, *m/m*), temperatura (40–70 °C), snaga ultrazvuka (72–360 W) i vrijeme ekstrakcije (20–60 min). Ovisne varijable bile su sadržaj derivata kavene kiseline i antiradikalna aktivnost ekstrakata. Određivanje fenolnih kiselina provedeno je korištenjem HPLC-DAD metode. Antiradikalna aktivnost određena je spektrofotometrijski pomoću DPPH slobodnog radikala. Učinak ekstrakata priređenih pri optimalnim uvjetima na vijabilnost stanica i cijeljenje rane ispitan je *in vitro* provođenjem MTT odnosno "scratch" testa na HaCaT stanicama. Utvrđeno je da su optimalni uvjeti za ekstrakciju fenolnih kiselina iznosili: 70 % glicerola (*m/m*), 60 °C, 72 W te 60 min. Najbolju antiradikalnu aktivnost pokazao je ekstrakt priređen korištenjem 50 % glicerola (*m/m*), 33 °C, 72 W tijekom 40 min. U koncentracijama nižim od 25 % priređeni ekstrakti nisu negativno utjecali na vijabilnost stanica. Oba glicerolna ekstrakta ubrzala su zatvaranje pukotine u konfluentnom sloju stanica, tj. cijeljenje rane *in vitro*, pri čemu je utjecaj otapala, u usporedbi s ekstraktima, bio zanemariv. Provedena istraživanja ukazuju na značajan potencijal glicerolnih ekstrakata *E. purpurea* u liječenju rana i manjih kožnih oštećenja.

Istraživanje je financirala Hrvatska zaklada za znanost u okviru projekta IP-2018-01-6504.

[1] <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/herbal/echinaceae-purpureae-herba>

[2] K. M. M. Koriem. Caftaric acid: An overview on its structure, daily consumption, bioavailability and pharmacological effects. *Biointerface Res Appl Chem* 10 (2020) 5616–5623.

Razvoj i validacija RP-HPLC metode za određivanje trijodtironina (T3) i tiroksina (T4) u biološkom uzorku

Mihaela Jovanović¹, Davor Šakić¹, Ruža Frkanec²

¹ Zavod za analitičku kemiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

² Centar za istraživanje i prijenos znanja u biotehnologiji, Sveučilište u Zagrebu, Hrvatska

mjovanovic@pharma.hr

Procjenjuje se da u svijetu 250 milijuna ljudi boluje od raznih bolesti štitne žlijezde koje su često autoimunog podrijetla. Kompleksnost patofiziologije i neadekvatni odgovor na klasičnu terapiju tiroksinom, otvara potrebu za novim farmaceutskim pripravcima, kao što je pulverizirani pripravak nadbubrežne žlijezde svinje u kojem je potrebno odrediti količinu prisutnih hormona. Cilj ovog rada je razviti brzu i pouzdanu RP-HPLC (*engl.* reversed-phase high performance liquid chromatography) metodu za kvantitativno određivanje hormona štitnjače trijodtironina (T3) i tiroksina (T4) u biološkom uzorku. HPLC je visoko učinkovita tekućinska kromatografija, a ovisno o relativnoj polarnosti pokretne i nepokretne faze razlikujemo kromatografiju normalnih faza i kromatografiju obrnutih faza (RP-HPLC). HPLC se danas rutinski koristi u zdravstvenim, znanstvenim laboratorijima te industriji za razdvajanje i identifikaciju različitih biološki aktivnih spojeva zbog svoje preciznosti, specifičnosti i brze analize.

Svaka analitička metoda mora se validirati, tj. mora se dokazati da je metoda podesna i pouzdana za primjenu. Metoda je validirana prema smjernicama Međunarodne konferencije o harmonizaciji (*engl.* International Conference on Harmonization, ICH). Određeni su specifičnost, točnost, područje linearnosti metode te limit detekcije i kvantifikacije ispitivanih spojeva. Kvantifikacija je provedena pomoću internog standarda (IS), antrakinaona. Korištena je C18 RP-HPLC kolona, uz detekciju na UV-Vis detektoru, $\lambda = 240\text{nm}$. Mobilna faza se sastojala od metanola : H₂O : trifluorocetna kiselina (65:35:0,025 %). Razvijena metoda je visoko specifična i točna, s rasponima analitičkog prinosa 103,29–116,81 %. Metoda je linearna u ispitivanom koncentracijskom području (1,25–20 $\mu\text{g/mL}$). Intra i inter-testna preciznost je bila visoka pri čemu je RSD za T3 i T4 te IS bio niži od 5 %.

Autoimune bolesti te poremećaji štitnjače, unatoč pandemiji COVID-19, ne gube na važnosti, naprotiv potrebno je posebnu pažnju obratiti na tu skupinu ljudi kod dizajna i razvoja različitih cjepiva. HPLC je često korištena analitička metoda kod razvoja različitih cjepiva, kada je potrebno kvantitativno analizirati sastav cjepiva s obzirom na količinu antigena, adjuvanata i drugih molekula u formulaciji.

Rad je napravljen u okviru projekta Sinteza supramolekulskih samo-udruženih nanostrukture za izgradnju naprednih funkcionalnih materijala“ (SUPERNANO, IP-2018-01-6910) kojega financira Hrvatska zaklada za znanost.

Sinteza amida ferocenkarboksilne kiseline i β -karbolinskih amina kao potencijalnih hibridnih antimalarika

Natan Koraj¹, Goran Poje¹, Ivana Perković¹, Zrinka Rajić¹

¹ Zavod za farmaceutsku kemiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska.

nkoraj@student.pharma.hr

Malarija, bolest uzrokovana parazitima roda *Plasmodium* sp., odgovorna je za više od 400 000 smrti godišnje, a najrasprostranjenija je u zemljama supsaharske Afrike. Zbog pojave rezistentnih sojeva plazmodija te nedostataka široko dostupnog i učinkovitog cjepiva postoji stalna potreba za novim antimalarijskim lijekovima. Jedan od pristupa u razvoj novih antimalarika je molekulska hibridizacija koja podrazumijeva kovalentno povezivanje dva ili više farmakofora u jednu molekulu. U ovom istraživanju hibridne molekule pripravljene su povezivanjem derivata β -karbolina i ferocena amidnim tipom poveznice. β -Karbolini su alkaloidi koji pokazuju antimalarijsko djelovanje *in vitro* i *in vivo*, a ferocen je organometalni spoj povoljnih fizičko-kemijskih svojstava koji pojačava antimalarijsko djelovanje molekula s kojima je kovalentno povezan.

U svrhu sinteze novih hibridnih derivata bilo je potrebno pripraviti amino derivate β -karbolina, dok je ferocenkarboksilna kiselina komercijalno dostupna. Sinteza amina β -karbolina u položaju 1 [(9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-1-il)metanamin] započinje Pictet-Spenglerovom kondenzacijom triptamina i 2,2-dimetoksiacetaldehida. Dobiveni međuprodukt, tetrahidro- β -karbolin supstituiran acetalnom skupinom u položaju 1, preveden je u β -karbolin oksidacijom uz KMnO_4 . Hidrolizom acetalne skupine u smjesi octene kiseline i vode generiran je aldehid koji je reduciran do alkohola uz LiAlH_4 . Alkoholna skupina je prevedena u azid korištenjem 2-azido-1,3-dimetilimidazolin heksafluorofosfata, a azid u amin uz $\text{H}_2/\text{Pd/C}$. Amini β -karbolina u položajima 7 [2-((1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-7-il)oksi)etan-1-amin] i 9 [2-(7-metoksi-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-9-il)etan-1-amin] pripremljeni su iz harmina supstitucijskim reakcijama. Prvi korak u sintezi amina u položaju 9 uključuje alkiliranje harmina 2-(*tert*-butoksikarbonilamino)-etilbromidom uz Cs_2CO_3 . U drugom koraku zaštitna skupina Boc uklonjena je kiselom hidrolizom uz generiranje amina. Sinteza amina u položaju 7 započinje hidrolizom eterske skupine harmina, nakon čega slijedi alkiliranje i uklanjanje zaštitne skupine, analogno reakcijama sinteze amina u položaju 9. U posljednjem koraku reakcijom povezivanja ferocenkarboksilne kiseline i odgovarajućeg amina priređeni su hibridi amidnog tipa. Reakcije povezivanja provedene su uz (1-[*bis*(dimetilamino)metilen]-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]piridinij 3-oksid heksafluorofosfat i diizopropiletilamin na sobnoj temperaturi tijekom 18 h.

Strukture hibridnih spojeva potvrđene su uobičajenim analitičkim i spektroskopskim metodama (IR, MS, ^1H i ^{13}C NMR). Antimalarijsko djelovanje novosintetiziranih spojeva bit će ispitano na eritrocitnoj i hepatocitnoj fazi životnog ciklusa plazmodija.

Ovaj rad financiran je sredstvima Hrvatske zaklade za znanost (projekt UIP-2017-05-5160).

Parametri oksidacijskog stresa u stanicama krvi nakon tretmana medijem dijatomeja roda *Pseudo-nitzschia*

Melissa Kuralić¹, Mirta Smodlaka Tanković², Goran Gajski³, Marko Gerić³, Ana-Marija Domijan¹

¹ Zavod za farmaceutsku botaniku, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

² Centar za istraživanje mora, Institut Ruđer Bošković, Rovinj, Hrvatska

³ Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb, Hrvatska

mkuralic@pharma.hr

Mikroalge roda *Pseudo-nitzschia* prisutne su u gotovo svim morskim i estuarijskim ekosustavima te se nalaze na samoj bazi hranidbenoga lanca. U određenim uvjetima (salinitet, temperatura i pH) pojedine vrste roda *Pseudo-nitzschia* izlučuju toksin domoičnu kiselinu koja se nakuplja u školjkašima. Poremećaj koji se razvija u ljudi koji su hranom u organizam unijeli domoičnu kiselinu naziva se amnezijsko trovanje školjkašima. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati je li oksidacijski stres mehanizam toksičnosti metabolita pojedinih vrsta roda *Pseudo-nitzschia*.

Uzgojene su tri vrste roda *Pseudo-nitzschia*: *P. delicatissima* (PN1), *P. pseudodelicatissima* (PN2) i *P. calliantha* (PN3) te je sakupljen hranjivi medij u kojem su one rasle. Potom su uzorci krvi zdravih dobrovoljnih davatelja tretirani medijem u kojem su rasle PN1, PN2 i PN3 u razdoblju od 4 i 24 h. Nakon tretmana medijem u uzorcima krvi praćeni su parametri oksidacijskog stresa: glutation (GSH), kao mjera anti-oksidacijske obrane; malondialdehid (MDA), kao pokazatelj lipidne peroksidacije te proteinski karbonili (PC), koji su pokazatelji oksidacijskog oštećenja proteina. Koncentracije GSH, MDA i PC-a izmjerene su spektrofotometrijski. Za određivanje koncentracije GSH korišten je Ellmanov reagens, za MDA 2-tiobarbituratna kiselina, a za određivanje koncentracije PC-a korišten je 2,4-dinitrofenilhidrazin. Dobiveni rezultati statistički su obrađeni Studentovim t-testom (Excel, MS Office), a razina značajnosti postavljena je na 0,05 ($\alpha = 0,05$).

Tretman krvi medijem u kojem su rasle PN1, PN2 i PN3 doveo je do značajnog porasta koncentracije GSH u odnosu na kontrolnu skupinu nakon 4 sata i nakon 24 sata ($P < 0,05$). Tretman hranjivim medijem vrsta *Pseudo-nitzschia* nije značajno utjecao na koncentraciju MDA, niti je doveo do značajne promjene u koncentraciji PC-a u uzorcima krvi. Zabilježeni porast koncentracije GSH nakon tretmana medijem u kojem su rasle *Pseudo-nitzschia* mikroalge pokazuje da je došlo do aktivacije obrane od oksidacijskog stresa. Izostanak značajnih promjena u koncentracijama MDA i PC-a može se povezati s povećanom koncentracijom GSH, koja je spriječila oksidacijska oštećenja lipida i proteina. Konačno, može se zaključiti da ispitivane vrste *Pseudo-nitzschia* u hranjivi medij izlučuju metabolit(e) koji mogu izazvati oksidacijski stres.

Istraživanje su financirali: HRZZ (UIP-2014-09-6563), Zaklada HAZU, MZOS (BI-HR/18-19-003; BI-HR/20-21-031).

Optimizacija ekološki prihvatljive ultrazvučne ekstrakcije bioaktivnih sastavnica vrste *Jasione montana* L.

Marijan Marijan¹, Aleksandra Maria Juszcak², Michał Tomczyk², Lejsa Jakupović¹, Marijana Zovko Končić¹

¹ Zavod za farmakognoziju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

² Zavod za farmakognoziju, Medicinski fakultet u Białystoku, Poljska

mmarijan@pharma.hr

Potražnja za prirodnom i ekološki prihvatljivom kozmetikom svake godine ubrzano raste, a time i interes za biljnim ekstraktima s biološki aktivnim komponentama koji mogu spriječiti i odgoditi degradaciju kože. Biljna vrsta *Jasione montana* L. (Campanulaceae) raste u sjevernom umjerenom pojasu Europe, zapadnoj Aziji i sjevernoj Africi te se u narodnoj medicini koristi za liječenje nesаницe kod djece [1]. U radu je razvijena metoda ultrazvukom potpomognute ekstrakcije nadzemnih dijelova vrste *J. montana* upotrebom smjese vode i ekološki prihvatljivih organskih otapala, glicerola i mliječne kiseline. Postupak ekstrakcije optimiziran je korištenjem programa za statističku analizu Design Expert. Ovisne varijable bile su ukupni sadržaj polifenola i sadržaj luteolina, koji su određivani spektrofotometrijski, odnosno pomoću tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC). U prvom koraku ispitan je utjecaj pet različitih faktora na učinkovitost ekstrakcijskog postupka korištenjem 2-Level-Factorial dizajna. Kao neovisne varijable promatrani su vrijeme ekstrakcije (10–30 min), temperatura (30–80 °C), količina biljne droge (0,2–0,4 g), udio glicerola (10–90 %) i udio mliječne kiseline (0–5 %). ANOVA analizom dobivenih rezultata utvrđeno je da temperatura, količina droge i udio glicerola značajno utječu na količinu ekstrahiranih bioaktivnih tvari. Navedeni faktori korišteni su za optimizaciju ekstrakcije pomoću Box-Behnken dizajna kako bi se odredili uvjeti pripreme ekstrakata s najvećom količinom aktivnih sastavnica. Ispitivanja antioksidacijskog potencijala te sposobnosti inhibicije enzima koji negativno utječu na strukturu kože što ih čini potencijalnim aktivnim sastavnicama prirodne kozmetike su u tijeku.

Istraživanje je financirala Hrvatska zaklada za znanost u okviru projekta IP-2018-01-6504.

[1] J. A. N. Parnell. Biological flora of the British Isles. *Jasione montana* L. *J Ecol* 73 (1985) 341–358.

Antimalarijsko djelovanje harmicena

Marina Marinović¹, Goran Poje¹, Jana Held², Zrinka Rajčić¹

¹ Zavod za farmaceutsku kemiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska.

² Institut za tropsku medicinu, Sveučilište u Tübingenu, Njemačka.

mmarinovic@pharma.hr

Malaria je zarazna bolest kojom se godišnje zarazi više od 200 milijuna ljudi, uglavnom u tropskim i subtropskim krajevima svijeta. Pojava rezistencije uzročnika malarije, a najviše vrste *Plasmodium falciparum*, na postojeće lijekove zahtijeva pronalazak novih učinkovitih spojeva s drugačijim mehanizmima djelovanja [1]. Jedan od obećavajućih spojeva s umjerenim antimalarijskim djelovanjem je harmin, alkaloid iz skupine β-karbolina i inhibitor proteina toplinskog šoka 90 vrste *P. falciparum* (PfHsp90) [2]. S druge strane, ferocen je organometalni spoj koji je privukao pažnju brojnih znanstvenika. Brojne studije su pokazale kako se povezivanjem ferocena s postojećim antimalaricima, kao što su klorokin i dihidroartemisinin, pojačava njihovo antimalarijsko djelovanje [3]. Stoga je, u pokušaju da se nadvlada rezistencija, pristupom molekulske hibridizacije sintetizirano ukupno 18 harmicena, hibridnih spojeva u kojima su harmin i ferocen povezani amidnom ili triazolskom poveznicom. Novosintetiziranim harmicenicima ispitano je antimalarijsko djelovanje *in vitro* na eritrocitnu fazu životnog ciklusa *Plasmodium falciparum*, na dva soja: soj osjetljiv na klorokin (Pf3D7) i soj otporan na klorokin (PfDd2). Harmiceni su pokazali antimalarijsko djelovanje u mikromolarnim/submikromolarnim koncentracijama te su svi pokazali jače antimalarijsko djelovanje na Pf3D7 u odnosu na PfDd2. Harmiceni triazolskog tipa supstituirani u položaju 6 β-karbolinskog prstena bili su najaktivniji, dok su harmiceni amidnog tipa supstituirani u položajima 7 i 9 pokazali najjače djelovanje. Najaktivniji spoj (IC₅₀ = 0,15 μM (Pf3D7) i 1,0 μM (PfDd2)) bio je harmicen triazolskog tipa u položaju 7 β-karbolinskog prstena u kojemu je triazol izravno vezan za ferocen, dok je uvođenje metilenskog mosta između ferocena i triazolskog prstena rezultiralo analognim spojem koji se pokazao potpuno inaktivnim.

Pisanje ovoga rada financijski je pomogla Hrvatska zaklada za znanost (projekt UIP-05-2017-5160). Rad doktorandice Marine Marinović financiran je iz „Projekta razvoja karijera mladih istraživača – izobrazba novih doktora znanosti“ Hrvatske zaklade za znanost koji je financirala Europska unija iz Europskog socijalnog fonda.

[1] T. M. Belete. Recent progress in the development of new antimalarial drugs with novel targets. *Drug Des Devel Ther* 14 (2020) 3875-3889.

[2] A. G. Bayih, A. Folefoc, A. N. Mohon, S. Eagon, M. Anderson, D. R. Pillai. In vitro and in vivo anti-malarial activity of novel harmine-analog heat shock protein 90 inhibitors: a possible partner for artemisinin. *Malar J* 15 (2016) 579.

[3] S. Peter, B. A. Aderibigbe. Ferrocene-based compounds with antimalaria/anticancer activity. *Molecules* 24 (2019) 3604.

Odnos utjecaja lipofilnosti i negativnog naboja fluorofora na ionizaciju glikana u negativnom MS modu

Zvonimir Mlinarić, Dinko Šoić, Toma Keser

¹ Zavod za biokemiju i molekularnu biologiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

zvmmlinaric@gmail.com

Glikani su molekule koje sadrže više monosaharida povezanih glikozidnim vezama te se često povezuju s proteinima ili lipidima tvoreći tako različite glikokonjugate. Glikani su evolucijom postajali sve kompleksniji te su počeli dobivati značajne funkcionalne uloge ključne za složene organizme. Iz tog je razloga ključno uključiti glikansku analizu prilikom određivanja fiziologije, patofiziologije, etiologije ili dijagnostike nekih bolesti [1].

Analiza glikana najčešće se izvodi derivatizacijom glikana pri čemu je najčešće korištena metoda vezanje fluorofora reakcijom reduktivne aminacije nakon čega se obilježeni glikani najčešće analiziraju UPLC-MS metodama. Prilikom odabira fluorofora kojim će se obilježiti N-glikan, potrebno je razmišljati o njegovoj prikladnosti i svojstvima u metodi koju ćemo koristiti. Konkretno, kod HILIC-UPLC-FLR-ESI-MS metode, potrebno je razmišljati o fluorescenciji i ionizaciji fluorofora. Kako glikani sami nemaju prirodni kromofor, intenzitet fluorescencijskog signala dolazi od fluorofora. Samim time, ako fluorofor slabo fluorescira, tada se signali relativno manjih intenziteta neće dovoljno dobro izdignuti iznad bazne linije te analiza takvih glikana može biti otežana ili nemoguća. S druge strane, fluorofor značajno doprinosi ionizaciji glikana, pogotovo ako ima funkcionalne skupine koje se lako protoniraju, odnosno deprotoniraju, ovisno o kojem se MS modu radi [2].

Iz tog razloga, ukazuje se potreba za dizajnom fluorofora koji će više doprinositi fluorescenciji i ionizaciji glikana te potreba za kvantifikacijom tih doprinosa kako bi se unaprijedile metode analize glikana koje uključuju negativni MS mod budući da su te metode informativnije od metoda koje uključuju pozitivni MS mod [3].

U tu je svrhu provedena analiza N-glikana obilježenih s 11 različitih fluorofora. Potom je određena korelacija $\log P$ i pK_a različitih fluorofora i omjera intenziteta signala i šuma u negativnom MS modu. Na taj je način pokazano kako lipofilnost ($r = 0,7580$) više doprinosi intenzitetu signala nego pK_a ($r = 0,2052$).

[1] G. Lauc, J. Krištić, V. Zoldoš. Glycans – the third revolution in evolution. *Fron Gen* 5 (2014) 145.

[2] D. J. Harvey. Negative ion mass spectrometry for the analysis of N-linked glycans. *Mass Spec Rev* 39 (2020) 586–679.

[3] S. H. Walker, B. N. Papas, D. L. Comins, D. C. Muddiman. Interplay of permanent charge and hydrophobicity in the electrospray ionization of glycans. *Anal Chem* 82 (2010) 6636–6642.

Ispitivanje citotoksičnosti talija

Stipe Mustać^{1,2}, Domagoj Kifer¹, Ana Marija Marjanović Čermak³, Erim Bešić¹, Ana-Marija Domijan²

¹ Zavod za biofiziku, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

² Zavod za farmaceutsku botaniku, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

³ Jedinica za dozimetriju zračenja i radiobiologiju, Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb, Hrvatska

smustac@student.pharma.hr

Talij je metal koji je široko rasprostranjen u okolišu. U povijesti se koristio za liječenje bolesti ljudi (sifilis, malarija, dermatofitoza vlasišta), a potom i kao rodenticid [1]. Zabilježeni su slučajevi trovanja ljudi talijem [2]. Izloženost ljudi taliju se događa ili putem zraka ili putem hrane koja sadrži talij. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati toksičnost talija na staničnim linijama različitog tkivnog podrijetla kako bi se dobiveni rezultati mogli povezati sa specifičnom toksičnošću talija prema pojedinom organu. Stanične linije HepG2 (stanice hepatocelularnog karcinoma), HaCaT (keratinociti), pk15 (epitelne stanice bubrega), SH-SY5Y (stanice neuroblastoma) i V79 (plućni fibroblasti) tretirane su s talij (I) acetatom u koncentracijskom rasponu 3,9–500 µg/mL kroz vremenski period od 24, 48 i 72 h. Morfološke promjene stanica praćene su svjetlosnim mikroskopom, dok se citotoksičnost mjerila 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijev bromid (MTT) testom. Rezultati citotoksičnosti obrađeni su 4-parametrijskim logističkim modelom te su konstruirane krivulje doze i učinka. Za svaku od pet staničnih linija izračunata je 50 %-tna inhibitorna koncentracija (*engl.* inhibitory concentration 50 %, IC₅₀). Izračunate vrijednosti IC₅₀ za svih pet staničnih linija u ispitivanim vremenima statistički su usporedene korištenjem višestrukih t-testova, a korekcije na višestruka testiranja rađene su po Benjamini-Hochberg metodi. Toksičnost talija zabilježena je u svih pet ispitivanih staničnih linija i bila je ovisna o koncentraciji i vremenu izloženosti stanica taliju. Nakon tretmana stanica talijevim (I) acetatom u sva tri ispitivana vremena (24, 48 i 72 h) IC₅₀ stanične linije SH-SY5Y bio je najniži (24-satni tretman: IC₅₀ 19,39 µg/mL, 95 %-CI 17,78–21,15 µg/mL), dok je IC₅₀ za staničnu liniju HepG2 bio najviši (24-satni tretman: IC₅₀ 51,5 µg/mL, 95 %-CI 46,61–56,95 µg/mL). Morfološki pregled stanica potvrdio je citotoksični učinak talija. Talij se pokazao najtoksičnijim za stanice živčanog podrijetla, što je u skladu s neurološkim simptomima (neuropatije) zabilježenim nakon trovanja talijem. Najmanju toksičnost talij je iskazao za stanice jetrenog podrijetla što se može pripisati razvijenom antioksidacijskom sustavu jetrenih stanica, s obzirom da je oksidacijski stres mehanizam toksičnosti talija. Dobiveni rezultati ukazuju na važnost praćenja koncentracije talija u okolišu kako bi se spriječila nenamjerna izloženost ljudi ovom metalu.

[1] A. L. J. Peter, T. Viraraghavan. Thallium: a review of public health and environmental concerns. *Environ Int* 31 (2005) 493–501.

[2] P. Cvjetko, I. Cvjetko, M. Pavlica. Thallium toxicity in humans. *Arh Hig Rada Toksikol* 61 (2010) 111–119.

Sinteza harmirina – novih hibridnih derivata harmina i kumarina

Kristina Pavić, Goran Poje, Zrinka Rajić

Zavod za farmaceutsku kemiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska
gpoje@pharma.hr

U današnje vrijeme tumorska rezistencija predstavlja veliki ekonomski i javnozdravstveni problem zbog čega je razvoj novih učinkovitih antitumorskih lijekova otpornih na rezistenciju od posebne važnosti. Jedan od pristupa u dizajniranju novih lijekova je molekulska hibridizacija, odnosno kovalentno povezivanje dvije bioaktivne molekule u jedinstveni kemijski entitet. Harmin je prirodni produkt iz skupine β -karbolina – farmakološki aktivnih alkaloida koji ostvaruju antitumorski učinak različitim mehanizmima djelovanja [1]. Kumarini, spojevi široko rasprostranjeni u biljnom svijetu, također pokazuju dobro antitumorsko djelovanje [2]. Hibridizacijom harmina i kumarina pripremljeni su harmirini, novi hibridi koji u strukturi sadrže triazolski tip poveznice.

U svrhu sinteze harmirina, pripravili smo kumarinske alkinne te harminske azide. Alkini su pripravljene u reakciji hidroksikumarina s propargil-bromidom u prisustvu cezijevog karbonata. Priprava harminskih azida prije je opisana [3]. Sintetizirani alkin i azidi povezani su azid-alkin cikloadicijom kataliziranom bakrom(I) te su dobivene dvije serije spojeva: 1- i 3-supstituirani harmirini. 3-Supstituirani harmirini pripravljene su korištenjem bakrovog(II) acetata u metanolu. Zbog manjeg broja nusprodukata i jednostavnijeg pročišćavanja 1-supstituirani harmirini sintetizirani su korištenjem bakrovog(II) sulfata pentahidrata i natrijevog askorbata. Strukture novosintetiziranih spojeva potvrđene su standardnim metodama (IR, ^1H i ^{13}C NMR, MS). U tijeku je ispitivanje antiplazmodijskog djelovanja harmirina.

Ovaj rad financiran je sredstvima Hrvatske zaklade za znanost (projekt UIP-2017-05-5160).

[1] S. Aaghaz, K. Sharma, R. Jain, A. Kamal. β -Carbolines as potential anticancer agents. *Eur J Med Chem* 216 (2021) 113321.

[2] A. Thakur, R. Singla, V. Jaitak. Coumarins as anticancer agents: a review on synthetic strategies, mechanism of action and SAR studies. *Eur J Med Chem* 101 (2015) 476–95.

[3] M. Marinović, G. Poje, I. Perković, D. Fontinha, M. Prudêncio, J. Held, L. Pessanha de Carvalho, T. Tandarić, R. Vianello, Z. Rajić. Further investigation of harmicines as novel antiplasmodial agents: Synthesis, structure-activity relationship and insight into the mechanism of action. *Eur J Med Chem* 224 (2021) 113687.

Optimiranje sinteze alkina u položajima C-1 i C-3 β -karbolinskog prstena

Goran Poje, Ivana Perković, Zrinka Rajić

Zavod za farmaceutsku kemiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

gpoje@pharma.hr

Terminalni alkin i su korisni međuprodukti u sintezi brojnih farmaceutskih i agrokemijskih tvari te funkcionalnih materijala, a posebno su zanimljivi kao reaktanti u azid-alkin cikloadicijskim reakcijama kataliziranim bakrom(I), poznatim kao *klik*-reakcije [1]. U sklopu našeg istraživanja (sinteza i biološko djelovanje hibridnih derivata harmina) suočili smo se s izazovom sinteze alkina u položajima C-1 i C-3 β -karbolinskog prstena. Prvotna metoda, priprava alkina alkiliranjem alkoholne skupine propargil-bromidom uz cezijev karbonat u dimetilformamidu, nije bila uspješna zbog sporedne reakcije, odnosno gotovo selektivnog alkiliranja dušika u položaju 9 β -karbolinskog prstena, stoga je u položaj N-9 uvedena zaštitna skupina Boc, odnosno Fmoc. Iako su reakcije uvođenja Boc i Fmoc skupina bile jednostavne i visokog iskorištenja, zaštitne skupine nisu bile otporne u daljnjim koracima sinteze, što je rezultiralo njihovim neželjenim uklanjanjem. Kao novi pristup u sintezi alkina odabrana je homologacija – važna i korisna reakcija kojom se alkin pripravlja iz odgovarajućih aldehida uz povećanje broja ugljikovih atoma u molekuli za jedan (molekula reaktanta se prevodi u sljedeći član homolognog niza) [2]. Isprobane su različite varijante homologacije, a kao najuspješnija pokazala se modifikacija Gilbert–Seyferthove reakcije koja uključuje upotrebu komercijalno dostupnog Bestmann–Ohirina reagensa (dimetil-(1-diazo-2-oksopropil)fosfonata) [3]. Reakcije su provedene u metanolu uz kalijev karbonat u inertoj atmosferi na sobnoj temperaturi tijekom 3 h (sinteza alkina u položaju C-1), odnosno 24 h (sinteza alkina u položaju C-3) uz dobra iskorištenja (50 %).

Ovaj rad financiran je sredstvima Hrvatske zaklade za znanost (projekt UIP-2017-05-5160).

[1] M. Zhao, C. Kuang, Q. Yang, X. Cheng. Cs_2CO_3 -mediated synthesis of terminal alkynes from 1,1-dibromo-1-alkenes. *Tetrahedron Lett* 52 (2011) 992–994.

[2] D. Habrant, V. Rauhala, A. M. P. Koskinen. Conversion of carbonyl compounds to alkynes: General overview and recent developments. *Chem Soc Rev* 39 (2010) 2007–2017.

[3] S. Muller, B. Liepold, G. J. Roth, H. J. Bestmann. An improved one-pot procedure for the synthesis of alkynes from aldehydes. *Synlett* 6 (1996) 521–522.

Dodjela vrijednosti predloženom 2. međunarodnom standardu Svjetske zdravstvene organizacije za faktor zgrušavanja V u plazmi

Mateja Šako¹, Desiree Coen Herak², Renata Zadro³

¹ Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

² Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku KBC Zagreb, Hrvatska

³ Odjel za laboratorijsku dijagnostiku, Specijalna bolnica Sv. Katarina, Zagreb, Hrvatska

marinovicmateja119@gmail.com

Međunarodni standardi (IS) za koagulacijske faktore pojavili su se s 1. IS za faktor zgrušavanja VIII (FVIII) Svjetske zdravstvene organizacije (SZO) 1970. godine [1], kao odgovor na potrebu za preciznom i usklađenom procjenom potentnosti terapijskih koncentrata i od tada se smatraju najvišim stupnjem standardizacije. Vrijednost se IS-u dodjeljuje u kolaborativnoj studiji u kojoj sudjeluje minimalno 20 ekspertnih laboratorija i koja je pažljivo osmišljena na način da predstavi sve trenutne metodologije kako bi demonstrirala da su dodijeljene vrijednosti primjenjive u svim okolnostima. Većini standarda za koagulacijske faktore dodijeljene su vrijednosti u internacionalnim jedinicama (IU).

SZO je 2018. godine provela kolaborativnu studiju čiji je cilj bio dodjela vrijednosti zamjenskom IS za faktor zgrušavanja V (FV) u kojoj je sudjelovao i Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Zagreb. Razlog provođenja studije bilo je smanjenje preostale zalihe IS za FV u plazmi. Pripravak kandidat za 2. IS za FV u plazmi uspoređen je najprije s normalnom plazmom u pool-u i s 1. IS za FV u plazmi koristeći modificirano protrombinsko vrijeme (PV), a potom je to isto učinjeno koristeći modificirano aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme (APTV). Primjenom obje metode za testiranje zadanog pripravka ispitana je neovisnost određivanja potentnosti IS-a o primijenjenoj metodi, te prikladnost primjene APTV-a za određivanje aktivnosti FV u plazmi. Rezultati testiranja obrađeni su od strane SZO. Relativne potentnosti testiranih uzoraka izračunate su uporabom paralelne analize s logaritamskom transformacijom vremena zgrušavanja uporabom minimalno tri razrjeđenja uzorka na linearnom dijelu baždarnog pravca. Za svaki laboratorij generirana je geometrijska sredina logaritamski transformiranih srednjih vrijednosti testiranja te su one uspoređene dvosmjernim t-testom.

Ovom studijom potvrđen je i omogućen prijenos IU s 1. IS SZO za FV u plazmi na 2. IS SZO za FV u plazmi, s dodijeljenom vrijednošću od 0,72 IU/mL. Studijom su prikazane sve metodologije koje su se u tom trenutku koristile za određivanje aktivnosti FV u plazmi što potvrđuje neovisnost određivanja potentnosti IS-a o korištenoj metodi i mogućnost primjene modificirane metode APTV-a za određivanje aktivnosti FV u plazmi.

[1] D. R. Bangham, R. Biggs, M. Brozovic, K. W. E. Denson, J. L. Skegg. A biological standard for mesurment of blood coagulation factor VIII activity. *Bull World Health Organ* 45 (1971) 337–351.

Elektrokemijska studija i citotoksičnost ferocenskih derivata purina na odabranim humanim staničnim linijama raka

Mateja Toma¹, Ana Marija Marjanović Čermak², Ivan Pavičić², Ivana Vinković Vrček², Valerije Vrček¹

¹ Zavod za organsku kemiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska.

² Jedinica za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam, Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb, Hrvatska.

mtoma@pharma.hr

Ferocenski derivati purina su organometalni spojevi u kojima je redoks aktivni ferocenski sustav povezan s nukleobaza, osnovnim elementima nasljeđivanja. Modificirani nukleozidi imaju veliku važnost u otkriću i razvoju lijekova jer pokazuju vrlo dobra kemoterapeutska svojstva pa se i novi ferocenski konjugati sve više sintetiziraju i ispituje njihova biološka aktivnost. Ferocenski derivati djeluju antitumorski, antivirusno, antibakterijski i antiparazitski.

Pripravljani su ferocenoil-purinski derivati s karbonilnom skupinom kao poveznicom između organometalnog i heterocikličkog dijela strukture. Regioselektivno aciliranje različitih purinskih nukleobaza provedeno je s ferocenoil-kloridom te je ispitana njihova citotoksičnost na odabranim humanim staničnim linijama raka. Kako spojevi s ferocenskom jezgrom u strukturi pokazuju redoks aktivnost, smatra se da je mehanizam njihove biološke aktivnosti stvaranje reaktivnih kisikovih vrsta (ROS) Fentonovom reakcijom. Stoga je novopripravljenim derivatima ispitana elektrokemijska i ROS aktivnost. Cikličkom voltametrijom utvrđeno je da svi ispitivani spojevi pokazuju reverzibilnu jednoelektronsku oksidaciju u rasponu od 300 do 450 mV pri čemu su N7 regioizomeri bolji oksidansi s višim vrijednostima redoks potencijala od N9 izomera. U acelularnom mediju ferocenoil-purinski derivati pokazuju ROS aktivnost, dok sami ferocen i nukleobaze nisu ROS aktivni. Izmjereni redoks potencijali djelomično koreliraju s ROS aktivnošću. Citotoksični učinak spojeva ispitani na L929 stanicama te humanim staničnim linijama raka: Panc-1, A549 i MCF-7 određivanjem IC₅₀ vrijednosti pomoću MTT testa. Najveću toksičnost na ispitanim staničnim linijama pokazali su spojevi koji u C6-položaju purinskog prstena sadrže amino skupinu, a u C2 fluor (N7 i N9 izomeri) s IC₅₀ vrijednostima između 1 i 5 μM. Derivat s metilnom skupinom u C6 položaju purina ima IC₅₀ oko 5 μM, 7-deazapurinski analozi s klorom odnosno amino skupinom u C6 položaju pokazuju nešto više IC₅₀ vrijednosti (11–62 μM), dok su ostali derivati pokazali citotoksičnost pri vrijednostima IC₅₀ između 60 i 200 μM. Na temelju provedenog biološkog ispitivanja za 30-ak novopripravljenih spojeva, u nastavku istraživanja odabrat će se najaktivniji spojevi (IC₅₀ < 60 μM) i ispitati mehanizam njihova djelovanja, induciranje ROS-a u stanicama ili vezanje na DNA.

Ovo istraživanje financira Hrvatska zaklada za znanost u okviru projekta HRZZ-IP-2016-06-1137.

Preventivni pristup medicini

Iva Ušić¹, Donatella Verbanac¹, Branka Bernard²

¹ Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

² Mediteranski institut za istraživanje života (MedILS), Split, Hrvatska

iusic@pharma.hr

U kliničkoj praksi se relativno nedavno počelo pridavati više pozornost uzrocima bolesti nego simptomima, dok znanost i tehnologija napreduju puno brže. P4 medicina predstavlja originalan pristup liječenju te obuhvaća procese predikcije, prevencije, personalizacije i participacije. Koncept prevencije može se primijeniti na razini pojedinca ili šire populacije, s ciljem promjene životnih navika koje dovode do razvoja kroničnih degenerativnih bolesti. Na globalnoj razini pristupi prevenciji su raznoliki, od javnozdravstvenih kampanja i edukativnih nastavnih programa do povećanja poreza na pojedine proizvode.

Dob, spol, metabolizam, razina fizičke aktivnosti i stresa te način prehrane bi se trebali uzimati u obzir pri određivanju preventivnih opcija prilagođenih pacijentovim navikama, dijagnozi i terapiji. Dostupnost brze hrane i rasprostranjenost zapadnjačkog načina prehrane predstavlja značajni rizik za razvoj hipertenzije, otpornosti na inzulin i pretilosti. Unos hrane utječe na sastav crijevne mikrobiote i može poticati razvoj patogenih vrsta, a posljedice se mogu odraziti na druge organske sustave (urogenitalni sustav, živčani sustav itd.).

Uspješno uvođenje koncepta prevencije i novih terapijskih mogućnosti u kliničku praksu ovisi o kvaliteti procesa translacije i diseminacije koji bi se trebali prilagoditi financijskim i obrazovnim mogućnostima ciljane populacije. U ovom istraživanju naglašavaju se prednosti tekuće biopsije i sekvenciranja nove generacije u ranom otkrivanju bolesti i odabiru pristupa prevenciji ili farmakoterapije prilagođene potrebama pacijenta. Analiziranje sastava crijevne mikrobiote u svrhu izrade personaliziranog plana prehrane već se koristi u pojedinim zemljama svijeta, a jedna od izvedbi uključuje „kućne“ testove za genetsku analizu čiji se rezultati šalju izravno korisniku odnosno pacijentu. Novi pristupi zdravstvu trebali bi omogućiti pružanje najbolje moguće skrbi pacijentima te im poboljšati kvalitetu i duljinu života, a ne isključivo težiti povećanju profita i marketingu. Uvođenje koncepta preventivne medicine predstavlja etički, društveni, ekonomski i akademski izazov, ali može višestruko doprinijeti unaprjeđenju zdravstvenog sustava.

Ovaj rad izrađen je za potrebe projekta PROMISE i sufinanciran sredstvima programa Europske unije Erasmus+ (2019-1-HR01-KA203-061010).

SPONZORSKA PRIOPĆENJA

Excellence in integrated drug discovery services

Fidelta

Fidelta, Zagreb, Hrvatska

fidelta@fidelta.eu

Fidelta, a wholly-owned subsidiary of Selvita SA, is a free-for-service, collaborative drug discovery organization. Focused on the patient, Fidelta places strong emphasis on translational science by designin and performing disease relevant in vitro/in vivo systems and ex-vivo/biomarker studies, running discovery process driven by expert medicinal chemistry, ADME/PK and technology.

Fidelta offers fully integrated services, as well as flexible stand-alone solutions for projects in discovery and early pre-clinical development. Fidelta has extensive pharmacology expertise in inflammation, fibrosis, and anti-infectives but also supporting client's medicinal chemistry projects in other therapeutic areas. It currently employs over 170 highly experienced scientists, providing drug discovery services to the biotech and pharmaceutical industry, with a proven trac record of accomplished projects over many years and more than 30 years of drug discovery experience.

Building upon identified hits we will design, make and profile a hit series using modern synthetic methods and principles, computer aided drug design supported by out in-house capacity for in vitro screening, ADME/PK and safety evaluation. After your hits are successfully transformed to leads, we can rapidly optimize them through multiple cycles of medicinal chemistry re-designs and biological evaluation. Except the experience in small molecules area, Fidelta team is skilled in macrocyclic chemistry and has developed a new macrocyclic drug discovery platform, FideltaMacro™, offered also for drug discovery collaboration.

Fidelta's objective is to deliver efficacious, safe, and differentiated pre-clinical candidates for its clients.

SP2

Klinička prehrana

Boris Vukadin

Fresenius Kabi, Zagreb

boris.vukadin@fresenius-kabi.com

Fresenius Kabi d.o.o. je farmaceutska kompanija prisutna na našem tržištu od 2007. godine. Vodeći se našom korporativnom filozofijom „briga za život“, brinemo da ključni lijekovi i tehnologija dođu do ljudi koji pomažu bolesnicima te da pronađemo najbolja rješenja za izazove s kojima se oni suočavaju. Naš portfelj proizvoda sastoji se od sveobuhvatnog spektra intravenskih generičkih lijekova, infuzijskih terapija i proizvoda za kliničku prehranu, kao i medicinskih proizvoda za primjenu tih proizvoda.

U sklopu kliničke prehrane, Fresenius Kabi jedna je od rijetkih kompanija u svijetu koja nudi parenteralnu prehranu (primijenjenu intravenski) i enteralnu prehranu (primijenjenu oralno, preko sonde ili cijevi u želučano-crijevni trakt), kao i pumpe za hranjenje i jednokratne proizvode za infuziju. Klinička prehrana je važan segment liječenja bolesnika, češće kao potporna terapija, ali povremeno i kao osnovni način liječenja. Obuhvaća sve oblike prehrane bolesnika tj. uobičajenu prehranu na usta, prehrane modifikacije i pripreme te enteralnu i parenteralnu prehranu, a u užem smislu obuhvaća samo enteralnu i parenteralnu prehranu.

Svaki bolesnik koji je pothranjen ili u riziku od pothranjenosti zahtijeva pravovremenu i odgovarajuću nutritivnu terapiju. Odabir kliničke prehrane koja će biti primijenjena ovisi o nutritivnim potrebama te funkcionalnosti GIT-a bolesnika. Pravovremena i odgovarajuća klinička prehrana poboljšava klinički ishod bolesnika.

Svjetlom katalizirane reakcije pregrađivanja radikala. Predstavljanje projekta LIGHT-N-RING

Davor Šakić

Zavod za analitičku kemiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

davor.sakic@pharma.unizg.hr

C—H funkcionalizacijske metode koriste se za uvođenje novih funkcionalnih skupina i zbog toga se često upotrebljavaju u farmaceutskoj industriji prilikom derivatizacije spoja uzora. Ove reakcije koriste nereaktivne sp^3 C—H veze čime je omogućeno učinkovitije istraživanje kemijskog prostora od konvencionalnih sinteza. Brojne istraživačke grupe aktivno pretražuju nove reakcije C—H funkcionalizacije u kojima je zadržana kemo-, regio- i stereospecifičnost pri čemu se posebna pozornost pridaje lako pripremljenim prekursorima i blagim uvjetima reakcije. Također se pokušava maknuti od reakcija koje su katalizirane teškim metalima, što je u skladu s postulatima zelene kemije. Time je obnovljen interes za Hofmann-Löffler-Freytag (HLF) reakciju u kojoj se posredstvom UV/Vis zračenja aktivira N-halogen veza, pri čemu nastaje N-radikal. Prijenosom vodikovog atoma (engl. *Hydrogen Atom Transfer*, HAT) N-radikal se pregrađuje u C-radikal koji zatim stupa u nove reakcije.

Projekt LIGHT-N-RING bavit će se termodinamičkom i kinetičkom analizom HAT koraka u sintezi te pokušati otkriti prekidače i/ili reakcijske uvjete za finu kontrolu nad reakcijom. Predstaviti će se dosadašnja istraživanja, izazovi i perspektiva ovog projekta.

Istraživanje je financirano od strane Hrvatske zaklade za znanost u sklopu istraživačkog uspostavnog projekta „Svjetlošću pogonjena funkcionalizacija nereaktivnih pozicija korištenjem oksidacijske aminacije“ (LIGHT-N-RING, UIP 2020-02-4857).

Excellence in integrated drug discovery services

Fidelta, a wholly-owned subsidiary of Selvita SA, is a fee-for-service, collaborative drug discovery organization. Focused on the patient, Fidelta places strong emphasis on translational science by designing and performing disease relevant *in vitro/in vivo* systems and *ex-vivo*/biomarker studies, running the discovery process driven by expert medicinal chemistry, ADME/PK and toxicology.



Fidelta offers fully integrated services, as well as flexible stand-alone solutions for projects in discovery and early pre-clinical development. Fidelta has extensive pharmacology expertise in inflammation, fibrosis, and anti-infectives but also supporting client's medicinal chemistry projects in other therapeutic areas. It currently employs over 170 highly experienced scientists, providing drug discovery services to the biotech and pharmaceutical industry, with a proven track record of accomplished projects over many years and more than 30 years of drug discovery experience.

Building upon identified hits we will design, make and profile a hit series using modern synthetic methods and principles, computer aided drug design, supported by our in-house capacity for *in vitro* screening, ADME/PK and safety evaluation. After your hits are successfully transformed to leads, we can rapidly optimise them through multiple cycles of medicinal chemistry re-designs and biological evaluation. Except the expertise in small molecules area, Fidelta team is skilled in macrocyclic chemistry and has developed a new macrocyclic drug discovery platform, FideltaMacro™, offered also for drug discovery collaboration.

Fidelta's objective is to deliver **efficacious, safe, and differentiated pre-clinical candidates** for its clients.

For more information, visit www.fidelta.eu



Čitavo stoljeće posvećeni
brizi za zdravlje.

pliva.hr





PROCULIN[®]
TEARS

ADVANCE
BEZ KONZERVANSA

medicinski proizvod

Kapi za oči PROCULIN[®] TEARS ADVANCE koriste se za osvježavanje umornih očiju, vlaženje suhih očiju te ublažavanje osjećaja nadraženosti oka ili sluznice oka uslijed:

UTJECAJA VANJSKIH ČIMBENIKA

BORAVAK U KLIMATIZIRANOM PROSTORU,
PREKOMJERNO IZLAGANJE SUNČEVIM ZRAKAMA,
VJETAR, DIM, ONEČIŠĆENJE ZRAKA;

SUHOĆE OKA

ZBOG PREKOMJERNOG UMORA UZROKOVANOG RADOM ZA
RAČUNALOM TIJEKOM DUŽEG VREMENSKOG RAZDOBLJA ILI
SINDROMA SUHOG OKA;

OPERACIJE OKA;

**NOŠENJA KONTAKTNIH LEĆA DUŽI VREMENSKI PERIOD
TIJEKOM DANA.**

Pogodne za korisnike kontaktnih leća i mogu se koristiti bez prethodnog vađenja leća iz očiju.

Sadržaj bočice može se koristiti 6 mjeseci od otvaranja. Sterilna otopina u višedoznoj bočici od 10 ml.

Ukapati 1-2 kapi u svako oko, prema potrebi.



ALKALOID
Health above all

**POGODNE ZA
KORIŠTENJE UZ
KONTAKTNE LEĆE**



**KAPI ZA OČI
BEZ KONZERVANSA**

**KAPI ZA OČI NA BAZI
0,4% NATRIJEVOG
HIJALURONATA I
VODENIH DESTILATA**



Okusi moć prirode

NOVI
DIZAJN



Tradicija
Kvaliteta
Zdravlje

Popis autora

Amidžić Klarić, Daniela	29	Hafner, Anita	29, 35
Belec, Dora	16	Held, Jana	40
Bernard, Branka	47	Hlapčić, Iva	34
Bešić, Erim	42	Jakšić, Daniela	21
Beus, Maja	27	Jakupović, Lejsa	35, 39
Bićanić, Lucija Ana	28	Jovanović, Mihaela	36
Blažeković, Biljana	30	Juszcak, Aleksandra Maria	39
Blažon, Sara	29	Kerep, Robert	15
Bočkor, Luka	18	Keser, Toma	22, 41
Brajković, Andrea	28	Kifer, Domagoj	42
Brkić, Jovana	32	Koraj, Natan	37
Bužančić, Iva	32	Kostešić, Marina	18
Ciganović, Petar	35	Kouhi, Vera	17
Coen Herak, Desiree	45	Kučević, Anja	23
Čiča, Lara	30	Kummer, Ingrid	32
Daskijević, Lucija	31	Kuralić, Melissa	38
De Lai, Eleonora	32	Lauc, Gordan	22
Dolanjski, Patricia	29	Marijan, Marijan	39
Domijan, Ana-Marija	38, 42	Marijančević, Domagoj	31
Držaić, Margita	32	Marinović, Marina	40
Duvnjak, Zrinka	17	Marjanović Čermak, Ana Marija	42, 46
Dužević, Marko	33	Markelić, Ivona	34
Džajić, Ivan	23	Mayer, Ljiljana	24
Fallarero, Adyary	27	Milas, Ivan	24
Fialova, Daniela	32	Mlinarić, Zvonimir	41
Frkanec, Ruža	36	Mucalo, Iva	28
Gabričević, Mario	15	Mustać, Stipe	42
Gaće, Mihaela	24	Nemčić, Matej	20
Gajski, Goran	38	Nigović, Biljana	18
Gerić, Marko	38	Nižić Nodilo, Laura	29, 35
Gornik Kljaić, Olga	20, 22	Novokmet, Mislav	22

Ortner Hadžiabdić, Maja	16, 32
Paar, Elizabeta	32
Patel, Jayendra Z.	27
Pavić, Kristina	19, 43
Pavičić, Ivan	46
Perković, Ivana	23, 37, 44
Perkušić, Mirna	29
Piantanida, Ivo	21
Poje, Goran	37, 40, 43, 44
Poljak, Tanja	23
Popović-Grle, Sanja	34
Popović, Karmela Ana	24
Radić Antolic, Margareta	34
Radić, Irena	18
Rajić, Zrinka	37, 40, 43, 44
Rumora, Lada	34
Samaržija, Miroslav	34
Savijoki, Kirsi	27
Seifert, Oliver	33
Sertić, Miranda	18
Shkunnikova, Sofia	20
Sikanen, Tiina	17
Silovski, Tajana	18
Smodlaka Tanković, Mirta	38
Somborac Bačura, Anita	31
Šakić, Davor	36, 53
Šako, Mateja	45
Šćur, Lucija	21
Šeba, Tino	15
Šoić, Dinko	22, 41
Šoštarić, Milica	24
Šunić, Iva	18

Toma, Mateja	46
Tomczyk, Michał	39
Trkulja, Vladimir	11
Turković, Lu	18
Ušić, Iva	47
Verbanac, Donatella	24, 47
Vinković Vrček, Ivana	46
Vrček, Valerije	46
Vrdoljak, Ivana	19
Vuk, Jakov	19
Vukadin, Boris	52
Vukić Dugac, Andrea	34
Yli-Kauhaluoma, Jari	27
Zadro, Renata	45
Zorc, Branka	27
Zovko Končić, Marijana	35, 39

