



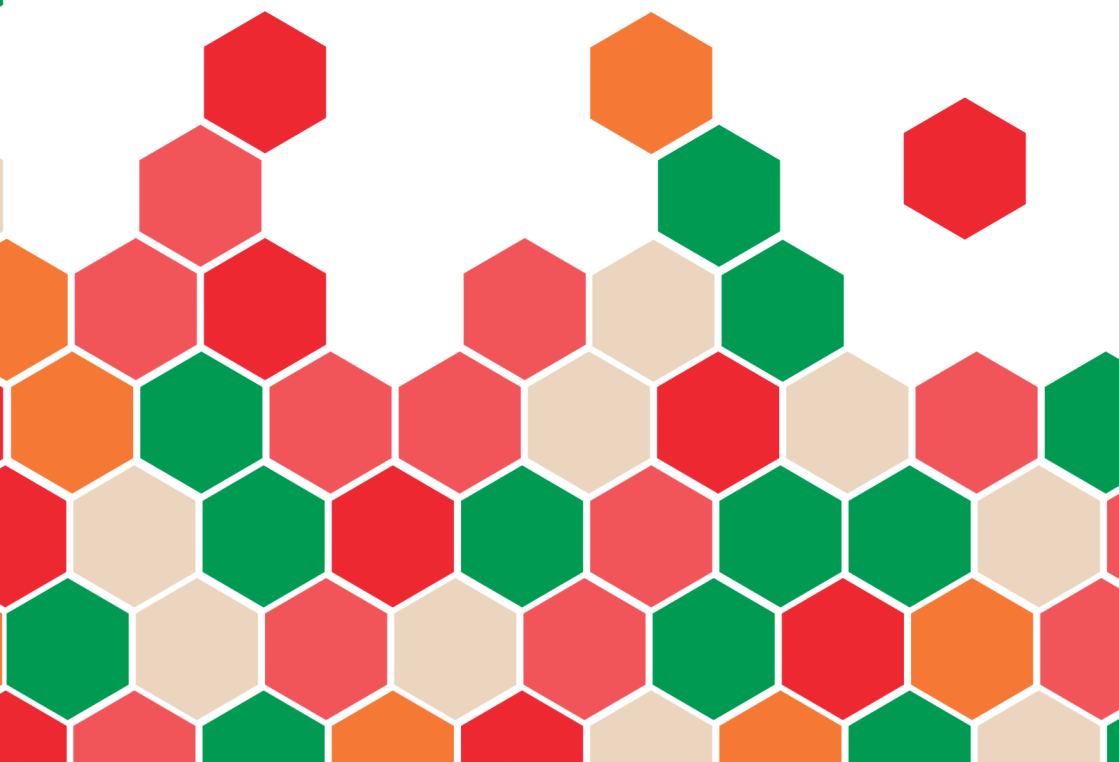
# FARMEBS

10. SIMPOZIJ STUDENATA FARMACIJE I  
MEDICINSKE BIOKEMIJE 2022

---

## KNJIGA SAŽETAKA

ISBN 978-953-8273-14-8



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

Knjiga sažetaka

Zagreb, 22. listopada 2022.

**Izdavač / Publisher**

Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Ante Kovačića 1, 10 000 Zagreb, Hrvatska

[www.pharma.unizg.hr](http://www.pharma.unizg.hr)

**Urednici / Editors**

Davor Šakić

Kristina Pavić

**Tehnički urednici / Technical editors**

Domagoj Kifer

Sofia Shkunnikova

**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 001151757.

**ISBN**

978-953-8273-14-8

Zagreb, 2022.

## Organizator



Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko – biokemijski fakultet  
Studentski zbor

## Zlatni sponzori



## Srebrni sponzori



## Sponzori



METTLER TOLEDO



## Donatori



## **Organizacijski odbor**

Davor Šakić, *predsjednik*

Bisera Jurišić Dukovski, *tajnica*

Nikola Biščan

Andrea Čeri

Domagoj Kifer

Zvonimir Mlinarić

Mirna Perkušić

Branimir Plavša

Hrvoje Rimac

Sofia Shkunnikova

Tino Šeba

Dinko Šoić

Lu Turković

## **Programski odbor**

Kristina Pavić, *predsjednica*

Andrea Hulina Tomašković

Toma Keser

Marijan Marijan

Daniela Jakšić

Zora Rukavina

## **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

Sadržaj .....	5
Uvodna riječ predsjednika simpozija.....	6
Program.....	7
Plenarno predavanje .....	9
Usmena priopćenja .....	13
Posterska priopćenja .....	23
Sponzorska priopćenja .....	49
Radionice.....	52
Popis autora .....	61

# Uvodna riječ predsjednika simpozija

Drage studentice i studenti, kolegice i kolege,

pozdravljamo vas na jubilarnom 10. simpoziju studenata farmacije i medicinske biokemije (FARMEBS 2022) koji se održava u organizaciji Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta (FBF), a u suradnji sa Studentskim zborom FBF-a. Već cijelo desetljeće FARMEBS je prilika studentima da predstave svoje rezultate, znanja i iskustva koja su stekli sudjelujući u različitim znanstveno-istraživačkim projektima te prilikom izrade svojih doktorskih, specijalističkih, radova za natječaj za Rektorovu nagradu i diplomskih radova.

FARMEBS je započeo 2012. godine i od tada je neprestano rastao, a s vremenom je postao jedan od poznatijih događaja na FBF-u. Zahvaljujemo na trudu i radu svim aktivnim sudionicima i vašim mentorima što su vam omogućili da se okušate u znanstvenom i stručnom radu te da svoje rezultate prezentirate na FARMEBS-u. Veliko hvala i upravi FBF-a, posebice dekanici prof. dr. sc. Jasmini Lovrić koja od početka prati FARMEBS (sudjelovanje u organizacijskim i znanstvenim odborima), te je aktivno sudjelovala savjetima u funkcioniranju i ovogodišnjeg simpozija. FARMEBS je financijski neovisan skup za što zahvaljujemo svekolikoj podršci sponzora i donatora. Drago nam je da je naš simpozij prepoznat kao sjajno mjesto na kojem se vidi umješnost i uspješnost naših studenata i njihovih mentora.

Kao i svih prethodnih godina, FARMEBS 2022 bit će posvećen svim aspektima istraživanja lijekova, kao i medicinsko-biokemijskoj dijagnostici, s tim da će ove godine u plenarnim predavanjima i tribini poseban naglasak biti na ulozi žena u znanosti i struci. Čast nam je što će plenarna predavanja održati znanstvenice i stručnjakinje koje su svojim predanim radom značajno pomaknule svoja područja.

Želimo da vam FARMEBS 2022 privuče pažnju zanimljivim predavanjima, informativnim posterima, plodonosnom tribinom i raspravama te ostane u dugom dobrom sjećanju.

Dobrodošli na FARMEBS 2022!



doc. dr. sc. Davor Šakić

predsjednik Organizacijskog odbora



dr. sc. Kristina Pavić

predsjednica Programskog odbora

# Program

## Radionice

11.30 – 12.30 (Radionice)	<b>RD1: PREDSTAVLJANJE EUROPSKOG PROJEKTA „PHARMACEUTICAL OPEN INNOVATION TEST BED FOR ENABLING NANO-PHARMACEUTICAL INNOVATIVE PRODUCTS – PHOENIX“</b> <i>Ivana Vinković Vrček (IMI)</i> <i>Velika predavaonica</i> <b>RD2: OSNOVE KVANTNO-KEMIJSKIH IZRAČUNA</b> <i>Gabrijel Zubčić, Valerije Vrček (FBF)</i> <i>Seminarska predavaonica</i> <b>RD3: DOBRA PRAKSA U IZRADI GRAFOVA</b> <i>Zvonimir Mlinarić (FBF)</i> <i>Studentska predavaonica</i>
12.30 – 13.00	<b>REGISTRACIJA SUDIONIKA</b>
13.00 – 13.15	<b>OTVARANJE SIMPOZIJA</b>

## 1. sekcija

13.15 – 13.45 (Plenarno predavanje)	<b>PL1: A JOURNEY THROUGH FORMULATION DEVELOPMENT: A FORMULATOR'S TRAVELOGUE</b> <i>Ivona Jasprica, Xellia Pharmaceuticals</i>
13.45 – 14.05 (Sponzorsko predavanje)	<b>SP1: ULOGA MAGISTARA FARMACIJE U SVAKOM KORAKU ŽIVOTNOG CIKLUSA FARMACEUTSKOG PROIZVODA</b> <i>Ana Prkačin, Medical Intertrade</i>
14.05 – 14.25 (Usmeno priopćenje)	<b>UP1: ANTIVIRALNI UČINAK BOMBININA, PEPTIDA IZ ŽABLJE KOŽE</b> <i>Ida Čurtović</i>
14.25 – 14.45	<b>UP2: VANILAKTIČNA KISELINA I VANILMANDELIČNA KISELINA – NOVI BIOMARKERI U DIJAGNOSTICI MANJKA AKTIVNOSTI DEKARBOKSILAZE AROMATSKIH L-AMINOKISELINA</b> <i>Monika Polić</i>
14.45 – 15.30	<b>POSTER SEKCIJA UZ KAVU</b>



## 2. sekcija

15.30 – 16.00	<b>PL2: PUT OD RIJETKIH BOLESTI DO ALZHEIMERA: ISTRAŽIVANJE ULOGE TRANSTIRETINA</b> <i>Ana Babić Perhoč, Sveučilište u Zagrebu Medicinski fakultet</i>
16.00 – 16.20	<b>UP3: ANTIMALARIJSKO DJELOVANJE HARMICINA KARBAMATNOG TIPA</b> <i>Marina Marinović</i>
16.20 – 16.40	<b>UP4: ISPITIVANJE PRISUTNOSTI STERIGMATOCISTINA I 5-METOKSISTERIGMATOCISTINA U PIVU</b> <i>Hrvoje Kožić, Ana Šmehil</i>
16.40 – 16.55	<b>UP5: ISPITIVANJE KVANTITATIVNOG SASTAVA TIROIDNIH PRIPRAVAKA KORIŠTENJEM RP-HPLC METODE</b> <i>Mihaela Jovanović</i>
17.00 – 18.00	<b>PAUZA ZA RUČAK</b>

## 3. sekcija

18.00 – 18.20	<b>UP6: IN VITRO ISPITIVANJE NAZALNE DEPOZICIJE MIKROSFERA S DONEPEZILOM</b> <i>Tamara Topalović</i>
18.20 – 18.40	<b>UP7: MIKRORNA MOLEKULE KAO POTENCIJALNI BIOMARKERI ISHEMIJSKE OZLJEDE MOZGA KOD NOVOROĐENČADI I NJIHOVE MODULACIJE NAKON PRIMJENE MELATONINA</b> <i>Marta Dobrić</i>
18.40 – 19.00	<b>UP8: HEPATOTOKSIČNOST LIJEKOVA I DODATAKA PREHRANI</b> <i>Matej Spajić</i>
19.00 – 19.45 (Tribina)	<b>TR: TRIBINA “ŽENE U ZNANOSTI I STRUCI – BREAKING THE GLASS CEILING”</b>
19.45 – 20.00	<b>DODJELA NAGRADA I ZATVARANJE SLUŽBENOG DIJELA SIMPOZIJA</b>
20.00 – 22.30	<b>DRUŽENJE</b>

# PLENARNO PREDAVANJE



## **A journey through formulation development: a formulator's travelogue**

**Ivona Jasprica**

*Xellia Pharmaceuticals, Zagreb, Hrvatska*

*ivona.jasprica@xellia.com*

The lecture will provide a comprehensive understanding of formulation scientists' daily work, accenting injectable (parenteral) product pharmaceutical development. Different aspects of formulation development, including drug substances, excipients, container closure systems, and manufacturing processes, will be described. Also, examples of innovative formulation development ("*teaching the old drug forms new tricks*") will be presented. Finally, the importance of good documentation practice will be stressed as part of the daily formulation scientist's job.

More precisely, formulation scientist, throughout pharmaceutical development, designs a finished product and its manufacturing process to consistently deliver the product of predefined quality, safety, and efficacy. The information and knowledge gained from pharmaceutical development studies and manufacturing experience provide scientific understanding to support the future lifecycle of a particular drug.

Changes in formulation and manufacturing processes during the development stage itself and later in the product lifecycle, if applicable, should be looked upon as opportunities to gain additional knowledge and support the establishment of the design space and its optimization/redefinition, as appropriate. Further, it must be stressed that knowledge gained from experiments giving unexpected results can also be helpful in product and process design and later in various risk management activities throughout the product lifecycle.

Furthermore, it is essential to record all the activities, as only timely and correct records "tell the true story" of a drug product.

## Put od rijetkih bolesti do Alzheimerera: istraživanje uloge transtiretina

Ana Babić Perhoč<sup>1</sup>, Jan Homolak<sup>1</sup>, Ana Knezović<sup>1</sup>, Jelena Osmanović Barilar<sup>1</sup>,  
Kristina Pavić<sup>2</sup>, Davor Virag<sup>1</sup>, Melita Šalković-Petrišić<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorij za molekularnu neurofarmakologiju, Zavod za farmakologiju i Hrvatski institut za istraživanje mozga, Sveučilište u Zagrebu Medicinski fakultet, Hrvatska

<sup>2</sup> Zavod za farmaceutsku kemiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

ana.babic@mef.hr

Modeliranje sporadične Alzheimerove bolesti (sAB) u eksperimentalnih životinja izazovno je, ponajprije zbog mnogih nepoznanica u patofiziološkim mehanizmima bolesti. Jedan od dostupnih te danas naširoko korištenih modela sAB-a jest model intracerebroventrikularne primjene streptozotocina (STZ-icv), dijabetogenog spoja koji se koristi u liječenju inzulinoma. Ovaj je model ponajviše karakteriziran kognitivnim deficitom i uspješnim postizanjem inzulinske rezistencije u mozgu, ali i drugih patoloških značajki koje vidimo u oboljelih od AB-a, poput formiranja depozita proteina amiloida  $\beta$  u mozgu. Tijekom višegodišnjeg istraživanja ovog modela, naša je istraživačka skupina pokazala karakterističan obrazac amiloidnih depozita u leptomeningealnom i perivaskularnom prostoru mozga štakora tretiranih STZ-icv. Takav je obrazac izuzetno nalik onom u jednoj rijetkoj bolesti; transtiretinskoj (TTR) okuloleptomeningealnoj amiloidozi, koja nastaje zbog mutacije u genu za TTR te se očituje različitim neurološkim simptomima, poput kognitivnog deficita kao u AB-u, epilepsije, ataksije te gubitka vida i sluha. TTR je transportni protein koji uslijed mutacije gubi stabilnost i sposobnost nabiranja u pravilnu strukturu zbog čega stvara amiloidne depozite, u ovom slučaju u mozgu, a u slučaju TTR amiloidne kardiomiopatije i polineuropatije u srcu i perifernim živcima. I dok se u slučaju kardiomiopatije i polineuropatije za oboljele uspješno primjenjuje lijek tafamidis, stabilizator TTR-a, on zbog svoje slabe prolaznosti kroz krvno-moždanu barijeru (KMB) ne djeluje u bolesnika s okuloleptomeningealnim oblikom. Funkcija TTR-a u AB-u sve se više istražuje i rezultati pokazuju da bi TTR mogao imati protektivnu ulogu u AB-u, ovisno o njegovoj stabilnosti. Budući se u mozgu TTR sintetizira u koroidnom pleksusu (KP), a tretman STZ-icv za modeliranje sAB-a narušava anatomske i funkcionalne integritet KP-a, u projektu TransADamis odlučili smo istražiti povezanost između STZ-icv animalnog modela sAB-a i centralne disfunkcije TTR-a, kao i neuroprotektivnu ulogu TTR-a u tom modelu sAB-a. S obzirom da su literaturni podaci pokazali da se lijek tafamidis može kemijski modificirati kako bi u laboratorijskih miševa prošao KMB i nakupio se u mozgu u terapijski značajnoj koncentraciji, jedan od ciljeva ovog projekta jest i sinteza tafamidis piperazin amida i istraživanje njegovih potencijalnih terapijskih učinaka uslijed kronične oralne primjene u STZ-icv mišjem modelu sAB-a.

*Projekt TransADamis (The role of transthyretin in sporadic Alzheimer's disease-associated leptomeningeal and cerebrovascular amyloidosis and neuroprotective potential of a brain directed tafamidis prodrug) je financiran programom „Junior Investigator Global ATTR Amyloidosis Research ASPIRE“ tvrtke Pfizer Inc. (projekt broj 73521469). Istraživanje je sufinancirano iz Znanstvenog centra izvrsnosti za bazičnu, kliničku i translacijsku neuroznanost (projekt “Experimental and clinical research of hypoxic-ischemic damage in perinatal and adult brain”; GA KK01.1.1.01.0007 financiran od strane Europske Unije putem Europskog fonda za regionalni razvoj).*

# USMENA PRIOPĆENJA



## Antiviralni učinak bombinina, peptida iz žablje kože

Ida Čurtović<sup>1,2</sup>, Maria Elena Marcocci<sup>2</sup>, Maja Šegvić Klarić<sup>1</sup>, Lucia Nencioni<sup>2</sup>, Maria Luisa Mangoni<sup>3</sup>, Anna Teresa Palamara<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zavod za mikrobiologiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

<sup>2</sup> Zavod za javno zdravstvo i infektivne bolesti, Sveučilište La Sapienza, Rim, Italija

<sup>3</sup> Zavod za biokemiju, Sveučilište La Sapienza, Rim, Italija

idacurtovic@gmail.com

Žabe roda *Bombina* koriste se u istraživanjima kao modeli za proučavanje barijere u zaštiti od mikroorganizama. Izlučevine kože žabe *Bombina variegata* sadrže obitelj hidrofobnih peptida, zvanih bombinini H, za koje se pretpostavlja da igraju bitnu ulogu u zaštiti od mikroorganizama. U ovom istraživanju ispitan je antivirusni učinak antimikrobnih peptida bombinina H2 i H4 na Herpes simplex virusu 1 (HHV-1), virusu influence (H1N1), te John Cunningham Poliomavirusu (JCPyV). Potencijalni citotoksični učinak bombinina H2 i H4 ispitan je kolorimetrijskim testom citotoksičnosti (MTT) na stanicama bubrežnog epitela afričkog zelenog majmuna (Vero stanice), ljudskim stanicama linije adenokarcinoma pluća (A549) te ljudskim fetalnim glija stanicama (SVGp12). Za ispitivanja protuvirusnog učinka odabrane su koncentracije bombinina H2 i H4 (10 i 20 µg/mL) bez značajnog učinka na vijabilnost stanica. Radi provjere potencijalnog izravnog učinka bombinina na virione (virucidno djelovanje), virus je inkubiran sa svakim peptidom (1 h, 37 °C), a nakon toga su stanice inficirane tretiranim virionima: Vero stanice s HHV-1, A549 stanice s H1N1, a SVGp12 stanice s virusom JCPyV. Za kvantitativnu analizu antivirusnog djelovanja bombinina korištene su metode standardnog ispitivanja plakova, Western blot analiza, unutarstanični Western blot (ICW) i PCR u stvarnom vremenu (Q-PCR). Rezultati standardnog ispitivanja plakova i Western blot pokazali su virucidni učinak bombinina H2 u dozama od 10 µg/mL ( $p < 0,001$ ) i 20 µg/mL ( $p < 0,0001$ ) te bombinina H4 u dozama od 10 µg/mL ( $p < 0,01$ ) i 20 µg/mL ( $p < 0,001$ ) na HHV-1. Bombinin H2 pokazao je snažniji virucidni učinak te je zabilježeno smanjenje infekcije za 2-log što odgovara 99 %-tnoj inhibiciji replikacije HHV-1. Također su rezultati Western blota i ICW-a pokazali da bombinin H2 ima virucidni učinak na H1N1virus. Rezultati dobiveni Q-PCR-om pokazali su da bombinin H2 smanjuje infekciju virusom JCPyV za 2-log ako su stanice prethodno tretirane peptidom. Bombinin H2 smanjio je infekciju za 1-log ako se dodao u drugim stadijima infekcije ili izravno na virus JCPyV. Bombinin H4 nije pokazao antivirusni učinak na virus JCPyV. Prema našim saznanjima ovo je prvo izvješće o antivirusnom djelovanju bombinina H2 i H4.



## Vanilaktična kiselina i vanilmandelična kiselina – novi biomarkeri u dijagnostici manjka aktivnosti dekarboksilaze aromatskih L-aminokiselina

Monika Polić<sup>1</sup>, Iva Bilandžija Kuš<sup>2</sup>, Ana Škaričić<sup>2</sup>, Ksenija Fumić<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup> Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, KBC Zagreb, Hrvatska

monika.polic0@gmail.com

Manjak aktivnosti dekarboksilaze aromatskih L-aminokiselina (*engl.* aromatic L-amino acid decarboxylase, AADC) rijedak je autosomno-recesivni poremećaj koji dovodi do teškog deficita kateholamina i serotonina. Klinička slika uključuje različite stupnjeve neuroloških oštećenja, uključujući motoričke i neuromotoričke simptome. Pravovremeno postavljanje dijagnoze i početak terapije ključni su za uspješno liječenje. Postavljanje dijagnoze manjka AADC temelji se na mjerenju aktivnosti AADC enzima u plazmi, određivanju koncentracije neurotransmitra u likvoru (3-*O*-metildopa, homovanilnska kiselina i 5-hidroksiindol octena kiselina) i molekularnoj dijagnostici. Vanillaktat (VLA), vanilmandelična kiselina (VMA) i njihov omjer VLA/VMA mogu se analizirati u sklopu analize organskih kiselina u urinu i smatraju se potencijalnim neinvazivnim biokemijskim biljezima u postavljanju dijagnoze AADC. Određivanje referentnih intervala potonjih biljega preduvjet je za njihovo korištenje u selektivnom probiru.

Retrospektivnom analizom 219 uzoraka urina pacijenata suspektnih na neurometaboličke poremećaje, izmjerene su vrijednosti vanillaktata (VLA), vanilmandelične kiseline (VMA) i te njihov omjer VLA/VMA. Pacijenti su podijeljeni u tri dobne skupine: 0–1 godine, 1–10 godina i stariji od 10 godina. Uzorci su analizirani *in-house* metodom ekstrakcije organskih kiselina na sustavu za plinsku kromatografiju s masenom spektrometrijom. Kao dodatan marker praćenja koristio se *N*-acetiltirozin koji se najvećim dijelom izlučuje urinom te su njegove koncentracije povećane u pacijenata s manjkom aktivnosti AADC. Za svaku dobnu skupinu napravljena je statistička analiza podataka kako bi se ustanovilo postoji li normalnost raspodjele podataka. Zbog odbacivanja normalnosti, rezultati su prikazani u obliku medijana koncentracija i 95 %-tnog intervala pouzdanosti. Medijani koncentracija i 95 %-tni intervali pouzdanosti za VLA, VMA i VLA/VMA kod 62 pacijenta starosti do 1 godine iznosili su 0,240 (0,136–4,82) mmol/mol kreatinina, 65,09 (50,83–78,95) mmol/mol kreatinina, 0,009 (0,003–0,019). Kod 121 pacijenta starosti od 1 do 10 godina medijani koncentracija VLA, VMA i VLA/VMA iznosili su 0,242 (0,111–0,686) mmol/mol kreatinina, 53,61 (42,06–64,12) mmol/mol kreatinina, 0,006 (0,003–0,012). Kod 34 pacijenta starija od 10 godina medijani koncentracije VLA, VMA i VLA/VMA iznosili su 0,086 (0,070–0,228) mmol/mol kreatinina, 24,54 (17,02–31,91) mmol/mol kreatinina, 0,007 (0,004–0,012).

Određivanje referentnih intervala VLA, VMA i VLA/VMA u urinu u sklopu rutinske analize organskih kiselina može pomoći u diferencijalnoj dijagnostici neurometaboličkih bolesti. Ovi biljezi mogu se uključiti u selektivan probir na manjak aktivnosti AADC i tako pridonijeti pravovremenom postavljanju dijagnoze te pacijenta uputiti na daljnja testiranja za potvrdu dijagnoze i početak liječenja.

## Antimalarijsko djelovanje harmicina karbamatnog tipa

Marina Marinović<sup>1</sup>, Jana Held<sup>2</sup>, Zrinka Rajić<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zavod za farmaceutsku kemiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

<sup>2</sup> Institut za tropsku medicinu, Sveučilište u Tübingenu, Njemačka

mmarinovic@pharma.hr

Malaria se, s procijenjenih 241 milijun slučajeva i 627 000 smrtnih ishoda u 2020. godini, nalazi među najsmrtonosnijim bolestima u zemljama u razvoju [1]. Pojava rezistencije *Plasmodium falciparum*, najsmrtonosnijeg parazita koji uzrokuje malariju kod ljudi, predstavlja najveću prijetnju u kontroli malarije zbog čega se javlja potreba za kontinuiranim razvojem novih i učinkovitih antimalarika [1, 2]. S ciljem nadvladavanja rezistencije dizajnirali smo i sintetizirali pet serija harmicina, hibridnih spojeva u kojima su β-karbolin harmin s dokazanim antimalarijskim djelovanjem i derivati cimetne kiseline međusobno povezani amidnom poveznicom [3, 4]. Harmicini u položaju N-9 β-karbolinskog prstena pokazali su se najdjelotvornijima, stoga su u nastavku istraživanja dizajnirani harmicini karbamatnog tipa u istom položaju β-karbolina. Kako bi se pripravili željeni spojevi **3a–k**, prethodno su sintetizirani cimetni alkoholi **2b–k** i amin **1**, a ukupno 11 harmicina karbamatnog tipa sintetizirano je pomoću 1,1'-karbonildiimidazola (CDI) na dva načina: 1) reakcija amina **1** s CDI i nukleofilni napad cimetnih alkohola **2a–d**, 2) reakcija cimetnih alkohola **2e–k** s CDI te nukleofilni napad amina **1**.

Antimalarijsko djelovanje harmicina **3a–k** ispitano je *in vitro* na dva soja *P. falciparum*: soj osjetljiv na klorokin (*Pf3D7*) i soj otporan na klorokin (*PfDd2*). Svi su se harmicini pokazali djelotvornijima na soj *Pf3D7* u mikromolarnim i submikromolarnim koncentracijama, a najučinkovitiji spoj sa sličnim djelovanjem na oba soja bio je *p*-nitro-supstituirani harmicin **3k**: IC<sub>50</sub> = 0,36 ± 0,001 μM (*Pf3D7*) i 0,33 ± 0,04 μM (*PfDd2*).

*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] <https://www.who.int/publications/i/item/9789240040496> (datum pristupa: 4. listopada 2022.)

[2] C. Rasmussen *et al.*, Current and emerging strategies to combat antimalarial resistance, *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* **3** (2022) 353–372.

[3] M. Marinović *et al.*, Novel harmicines with improved potency against *Plasmodium*, *Molecules*. **25** (2020) 4376.

[4] M. Marinović, G. Poje *et al.*, 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.

## Ispitivanje prisutnosti sterigmatocistina i 5-metoksisterigmatocistina u pivu

Hrvoje Kožić, Ana Šmežil, Daniela Jakšić

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

*hkozic@pharma.hr*

Sterigmatocistin (STC) i 5-metoksisterigmatocistin (5-M-STC) strukturno su srodni mikotoksini s citotoksičnim i genotoksičnim svojstvima. Uglavnom ih proizvode plijesni iz roda *Aspergillus*, serije *Versicolores*. Oba se mikotoksina mogu pronaći u unutarnjim prostorima, u uzorcima kućne prašine, unutarnjeg zraka i vlažnog građevinskog materijala. Prisutnost STC-a zabilježena je u žitaricama poput pšenice, kukuruza i ječma, u zrnima kave, začimima, orašastim plodovima, siru i pivu. Podaci o prisutnosti STC-a i 5-M-STC-a u prehrambenim proizvodima i pivu su vrlo limitirani, posebice za 5-M-STC. S obzirom na veliku potrošnju piva u Hrvatskoj i svijetu, prisutnost ovih mikotoksina u pivu mogla bi negativno utjecati na zdravlje izloženih osoba. Kako bi se detektirala njihova pojavnost u pivu prikupljeno je 58 različitih uzoraka piva s hrvatskog tržišta te su ekstrahirani kombinacijom „QuEChERS“ postupka ekstrakcije te disperzivne metode ekstrakcije na čvrstoj fazi (dSPE). Pripremljeni ekstrakti analizirani su tankoslojnom kromatografijom (TLC) koristeći silikagel 60 kao stacionarnu fazu i toluen : etil-acetat : mravlju kiselinu 90 % (v/v) (5 : 4 : 1) kao mobilnu fazu. Nakon kromatografskog odvajanja, kako bi se poboljšala detekcija fluorescentnih mrlja pripisanih STC-u i 5-M-STC-u, TLC ploče osušene su i grijane 10 minuta u pećnici na 140 °C. Dodatno je TLC ploča poprskana otopinom aluminijevog klorida pripremljenom u etanolu 60 % (v/v). Dok STC nije detektiran ni u jednom uzorku, 5-M-STC je detektiran u 46,55 % uzoraka. Prisutnost 5-M-STC potvrđena je UV-Vis spektroskopijom nakon ekstrakcije točke od interesa s TLC ploče. Od ispitanih ekstrakata, 55 ih je dalje analizirano primjenom LC-MS metode koja je omogućila detekciju toksina u nižim koncentracijama. Ovaj put ih je 17 (30,09 %) bilo pozitivno na STC te 25 na 5-M-STC (45,45 %). Ovo je istraživanje prvo istraživanje pojavnosti 5-M-STC-a u uzorcima piva i jedno od malobrojnih istraživanja pojavnosti STC-a u pivu. S obzirom na dobivene rezultate, može se zaključiti kako postoji opasnost za zdravlje ljudi koji konzumiraju ovo alkoholno piće dugi niz godina u većim količinama.

## Ispitivanje kvantitativnog sastava tiroidnih pripravaka korištenjem RP-HPLC metode

Mihaela Jovanović<sup>1</sup>, Davor Šakić<sup>1</sup>, Ruža Frkanec<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zavod za analitičku kemiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

<sup>2</sup> Centar za istraživanje i prijenos znanja u biotehnologiji, Sveučilište u Zagrebu, Hrvatska

mihaela.jovanovic2@gmail.com

Hipotireoza je stanje smanjene sinteze ili izlučivanja hormona štitnjače tiroksina (T4) i trijodtironina (T3) pri čemu dolazi do disfunkcija na razini čitavog organizma. Zbog toga vrlo je važna pouzdana terapija koja minimalizira sve komorbiditete. Neuspješnost levotiroksina u navedenom dovela je do povećanog interesa za alternativnim opcijama kao što su prirodni tiroidni pripravci.

Prirodni tiroidni pripravci su po sastavu suhi prah štitne žlijezde svinje te sadrže oba hormona. Problem njihovog korištenja je nepouzdana stabilnost i aktivnost. Unatoč repopularizaciji mali broj istraživanja se bavio opisanom problematikom. Stoga je cilj ovog rada odrediti sastav ovakvih tiroidnih pripravaka primjenom prethodno razvijene i validirane metode tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti na obrnutoj fazi (RP-HPLC) za istovremenu kvantifikaciju T3 i T4 u takvom biološkom uzorku.

Kvantifikacija je provedena korištenjem metode unutarnjeg standarda, antrakinaona. Korištena je C18 RP-HPLC kolona uz izokratnu eluciju s pokretnom fazom koja se sastojala od metanola i 0,025 % vodene otopine TFA u omjeru 65 : 35. Protok pokretne faze bio je 1 mL/min dok je detekcija provedena na  $\lambda = 240$  nm.

Nadalje, razvijen je i poboljšani protokol enzimske hidrolize tiroidnih pripravaka korištenjem komercijalno dostupne proteaze Pronase® u inkubacijskom puferu (smjesa natrijevog klorida, tris(hidroksimetil)aminometana i 2-merkaptto-1-metilimidazola).

Metoda je primijenjena za kvantitativnu analizu T3 i T4 u komercijalnom tiroidnom pripravku unutar i izvan roka valjanosti. Rezultati kvantitativne analize tiroidnog pripravka koji je bio unutar roka valjanosti odgovaraju deklariranom sadržaju. Srednje vrijednosti prinosa za T3 i T4 bile su 99,71 %  $\pm$  0,21 % i 95,00 %  $\pm$  0,60 %. S druge strane, analiza uzorka izvan roka valjanosti pokazala je smanjenu količinu T3 i T4. Srednja vrijednost prinosa za T4 bila je 60,76 %  $\pm$  2,42 %, dok T3 nije bilo moguće odrediti jer mu je koncentracija bila ispod granice kvantifikacije.

Može se zaključiti da tijekom vremena dolazi do značajnog pada koncentracije ( $p < 0,05$ ) zbog složenog mikrokoliša uzorka. Rezultati istraživanja su pokazali kako je razvijenu metodu moguće primijeniti za kvantitativno određivanje sadržaja tiroksina i trijodtironina u tiroidnim pripravcima te za praćenje stabilnosti takvih pripravaka.

## ***In vitro* ispitivanje nazalne depozicije mikrosfera s donepezilom**

**Tamara Topalović<sup>1</sup>, Mirna Perkušić<sup>1</sup>, Laura Nižić Nodilo<sup>1</sup>, Cvijeta Jakobušić Brala<sup>2</sup>,  
Dijana Zdravec<sup>3,4</sup>, Livije Kalogjera<sup>4,5</sup>, Anita Hafner<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Zavod za farmaceutsku tehnologiju, Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

<sup>2</sup> Zavod za fizikalnu kemiju, Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup> Klinički zavod za dijagnostičku i intervencijsku radiologiju, KBC Sestre milosrdnice, Hrvatska

<sup>4</sup> Sveučilište u Zagrebu Medicinski fakultet, Hrvatska

<sup>5</sup> Zavod za rinologiju, KBC Sestre milosrdnice, Hrvatska

*tamara.topalovic.25@gmail.com*

Alzheimerova bolest (AB) je kronična, progresivna bolest središnjeg živčanog sustava. Lijek prvog izbora za AB je inhibitor acetilkolinesteraze donepezil koji se primjenjuje oralno u dozi od 5 ili 10 mg. Oralna primjena donepezila u pacijenata s AB-om povezuje se s nedostatcima poput poteškoća s gutanjem, slabe suradljivosti zbog gorčine i gastrointestinalnih nuspojava [1], te ograničene raspoloživosti lijeka u mozgu zbog učinka krvno-moždane barijere [2]. Nazalna primjena donepezila istražuje se kao učinkovita alternativa zbog mogućnosti izravne dostave lijeka u mozak, uz zaobilazanje probavnog sustava. Ključni čimbenik predstavlja udio doze dostavljen do olfaktorne sluznice nosne šupljine, inervirane olfaktornim i trigeminalnim živcem koji omogućuju izravnu dostavu nazalno primijenjenog lijeka u mozak.

Cilj rada bio je pripremiti i karakterizirati mikrosfere s donepezilom te ispitati utjecaj parametara primjene (kut primjene u odnosu na horizontalnu ravninu i protok udahnutog zraka) na nazalnu depoziciju pripremljenih mikrosfera. Mikrosfere su pripravljene sušenjem raspršivanjem vodenih otopina donepezila i pomoćnih tvari kitozana i manitola. Mikrosfere su zadovoljile kriterije za primjenu u nosnoj šupljini s obzirom na uspješnost uklapanja, sadržaj lijeka, sadržaj vlage, veličinu čestica i reološka svojstva. U svrhu ispitivanja nazalne depozicije mikrosfera, korišten je 3D printani model nosne šupljine, izrađen prema CT snimci glave 62-godišnjeg pacijenta zdravih nosnih putova. Mikrosfere s donepezilom uspješno su dostavljene u ciljnu (olfaktornu) regiju nosne šupljine. Najučinkovitija dostava donepezila u olfaktornu regiju ( $68,8 \pm 7,4$  % primijenjene doze) postignuta je primjenom mikrosfera s donepezilom uređajem za nazalnu dostavu praška pri kutu primjene prema horizontalnoj ravnini od 30° i uz zadržavanje daha. Smanjenjem kuta primjene u odnosu na horizontalnu ravninu rastao je udio lijeka dostavljen u olfaktornu regiju. Protok zraka od 20 L/min smanjio je odlaganje donepezila u olfaktornoj regiji, a povećao u regijama (anteriornoj i posteriornoj) koje nisu od interesa za dostavu lijeka iz nosne šupljine u mozak. Povoljniji rezultati depozicije donepezila uz zadržavanje daha mogu biti korisni i iz pozicije pacijenta jer pojednostavljuju primjenu formulacije (izbjegnuti su problemi vezani uz koordinaciju potiska i udaha), što može povećati suradljivost pacijenta i poboljšati kliničke ishode.

*Ovaj rad je sufinancirala Hrvatska zaklada za znanost projektom UIP- 2017-05-4597.*

[1] Z.Q. Zhao *et al.*, An update on the routes for the delivery of donepezil, *Mol. Pharm.* **18** (2021) 2482–2494.

[2] M. Agrawal *et al.*, Nose-to-brain drug delivery: An update on clinical challenges and progress towards approval of anti-Alzheimer drugs, *J. Control. Release*, **281** (2018) 139–177.

## MikroRNA molekule kao potencijalni biomarkeri ishemijske ozljede mozga kod novorođenčadi i njihove modulacije nakon primjene melatonina

Marta Dobrić<sup>1</sup>, Silvia Carloni<sup>2</sup>, Walter Balduini<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

<sup>2</sup> Department of Biomolecular Sciences, University of Urbino "Carlo Bo", Italija

marta.dobric912@gmail.com

Jedan od najčešćih uzroka oštećenja mozga u perinatalnom razdoblju nedostatna je opskrba krvi i tkiva kisikom – stanje znano kao asfiksija novorođenčeta. Njena klinička manifestacija, lezija mozga koja nastaje kao posljedica manjka kisika i poremećaja cirkulacije, naziva se hipoksično-ishemijska encefalopatija (HIE). Prevalencija asfiksije novorođenčadi doseže brojku od četiri milijuna godišnje, rezultirajući dugotrajnim posljedicama po dijete, kao što su cerebralna paraliza, epilepsija, gubitak osjetnih živaca. Dijagnostika neonatalne HIE danas se oslanja na kliničke manifestacije, koje znatno variraju od pojedinca do pojedinca te na tehnike snimanja mozga (*eng.* neuroimaging). Nedostatak ovakvoga pristupa nemogućnost je rane detekcije patoloških promjena, što je ključno kako bi se na vrijeme primijenila ciljana terapija. Stoga postoji očita potreba za pronalaskom kvantitativnih biomarkera pomoću kojih bi se mogao izmjeriti stupanj oštećenja, procijeniti potreba za terapijom i vrsta potrebne terapije te pratiti njezina učinkovitost. U tu su svrhu zanimljive mikroRNA molekule. Osim što ih je moguće kvantificirati i u moždanom tkivu i u krvnom serumu, asfiksija, kao i posljedična HIE, utječe na njihovu ekspresiju u oba tipa uzorka. Nadalje, terapijska hipotermija trenutno je jedina opcija liječenja HIE, što stavlja prioritet na potrebu za pronalaskom alternativnih i suplementarnih načina neuroprotekcije u perinatalnoj medicini. Melatonin je obećavajuća molekula u tom smislu jer posjeduje antioksidativna svojstva, niske je toksičnosti te lako prelazi krvno-moždanu barijeru.

U fokusu ovoga rada promjene su u razinama miR-126 i miR-146a izazvane hipoksijom-ishemijom (HI), kako u mozgu, tako i u serumu novorođenih štakora. MikroRNA miR-126 važna je za angiogenezu, dok miR-146a igra ulogu u negativnoj regulaciji urođenih i stečenih imunskih mehanizama. Ovi su procesi narušeni u stanju hipoksije-ishemije, stoga bi njihova adekvatna modulacija mogla zaštititi još nerazvijeni mozak od neželjenih posljedica.

Rezultati ovoga pretkliničkog istraživanja potvrdili su da melatonin značajno smanjuje oštećenje mozga uzrokovano novorođenačkom asfiksijom te pružaju preliminarne dokaze o modulaciji miR-126 i miR-146a nakon hipoksije-ishemije i tretmana melatoninom. Navedena promjena vidljiva je kako u moždanoj kori, tako i u serumu, što upućuje na to da poremećaj razina mikroRNA u cirkulaciji može odražavati slične promjene u ishemičnom tkivu.

## Hepatotoksičnost lijekova i dodataka prehrani

Matěj Spajčić<sup>1</sup>, Antonija Pupačić<sup>1</sup>, Stela Bulimbašić<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

<sup>2</sup> Klinički zavod za patologiju i citologiju, KBC Zagreb, Hrvatska

spajcimatej@gmail.com

Hepatotoksičnost ksenobiotika, odnosno lijekova i dodataka prehrani, rastući je zdravstveni problem. Zbog široke primjene lijekova, a manjkave regulacije širokodostupnih dodataka prehrani, zdravstveni radnici moraju biti na oprezu prilikom izdavanja i preporuke ovakvih proizvoda. Jetra je glavni organ metabolizma ksenobiotika te je kao takva sklona oštećenjima različitim mehanizmima. Stoga je ključno poznavati laboratorijske parametre i kliničke simptome oštećenja jetre kako bi se pacijente moglo pravovremeno upozoriti na mogućnost hepatotoksičnog djelovanja pripravka. Napravljen je pregled znanstvene literature o lijekovima s djelatnim sastavnicama poznate hepatotoksičnosti, npr. paracetamol ili kombinacija amoksicilina i klavulanske kiseline, ali i o dodacima prehrani s ekstraktom crvene riže ili zelenog čaja koji su dostupni u Republici Hrvatskoj. Provedena je eksplorativna anketa u kojoj je sudjelovalo ukupno 105 ispitanika, studenata Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, kojom su prikupljeni podaci o upoznatosti studenata s hepatotoksičnosti lijekova i dodataka prehrani. Više od polovice studenata nije bilo upoznato ili je nedovoljno upoznato s utjecajem ovakvih ksenobiotika na jetru. Uzročno-posljedičnu vezu između djelovanja ksenobiotika i hepatotoksičnog učinka nije lako dokazati. Kako bi se rizik od štetnog utjecaja na jetru smanjio i odabrala prikladna terapija za pojedinog pacijenta, potreban je oprez, a osobito kod politerapije te ostalih rizičnih čimbenika u etiologiji oštećenja jetre. Ovakav pristup temelj je personalizirane skrbi čemu moderna struka, uključujući i medicinu temeljenu na dokazima, teži.

# POSTERSKA PRIOPĆENJA





## Razina reaktivnih kisikovih vrsta u sferoidima HepG2 stanične linije nakon tretmana bisfenolom A i bisfenolom AP

Sanja Gagić<sup>1</sup>, Ana-Marija Domijan<sup>1</sup>, Martina Štampar<sup>2</sup>, Bojana Žegura<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zavod za farmaceutsku botaniku, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

<sup>2</sup> Zavod za genetsku toksikologiju i biologiju raka, Nacionalni institut za biologiju, Ljubljana, Slovenija

sgagic@pharma.hr

Bisfenol A (BPA) koristi se u proizvodnji plastičnih proizvoda široke upotrebe. BPA iz boca, spremnika ili limenki zbog nepravilnog skladištenja može migrirati u hranu i vodu čime su ljudi izloženi ovom spoju. Dokazano je da je BPA endokrini disruptor, a izloženost ljudi visokim koncentracijama BPA može dovesti do razvoja bolesti poput dijabetesa, bolesti srca, pretilosti, poremećaja reproduktivnog sustava i oštećenja jetre kod odraslih, dok su kod djece najčešće zabilježeni poremećaji respiratornog i imunskog sustava. Zbog štetnih učinaka BPA na zdravlje, regulatorne agencije ograničavaju njegovu upotrebu te se zamjenjuje s drugim proizvodima sličnih svojstava. Bisfenol AP (BPAP) je analog BPA o čijoj se toksičnosti i mehanizmu djelovanja vrlo malo zna. Oksidacijski stres posljedica je generiranja povećane razine reaktivnih kisikovih vrsta (ROS) te se povezuje s nastankom brojnih bolesti. Cilj ovoga istraživanja bio je ispitati uzrokuju li BPA i njegov analog BPAP stvaranje ROS. U istraživanju je korišten novorazvijeni trodimenzionalni model imortaliziranih stanica ljudskog hepatocelularnog karcinoma, odnosno sferoidi HepG2 stanične linije koji, za razliku od dvodimenzionalnog modela stanica, točnije odražava uvjete organizma zbog poboljšane interakcije stanica te tako bolje oponaša specifične funkcije jetre. Sferoidi HepG2 tretirani su s BPA ili BPAP u koncentracijama 10, 20 i 40  $\mu\text{M}$  kroz 24 i 96 sati. U ispitivanje su uključene i kontrolne stanice (negativna kontrola te pozitivna kontrola tretirana *tert*-butil-hidroperoksidom). Nakon tretmana sferoidi su homogenizirani, centrifugirani (10000 *g*, 10 min) te je u supernatantu određena razina ROS korištenjem specifične boje dihidroetidij (DHE). DHE je fluorescentna proba koja u reakciji sa superoksidnim radikalom prelazi u crveno obojeni fluorescirajući spoj te je intenzitet crvene fluorescencije mjera razine superoksidnog radikala. Dobiveni rezultati statistički su obrađeni (ANOVA i Dunnettov test). 24-satni tretman s BPA u koncentraciji od 20  $\mu\text{M}$  uzrokovao je značajan porast ROS (128,5 %) u odnosu na negativnu kontrolu (100 %,  $p < 0,05$ ), a slično je i BPAP u istoj koncentraciji (20  $\mu\text{M}$ ) nakon 24-satnog tretmana doveo do porasta razine ROS (122 %,  $p < 0,05$ ) u odnosu na negativnu kontrolu. Dobiveni rezultati pokazuju da BPA i BPAP u ispitivanim koncentracijama i vremenima izloženosti dovode do povećane razine ROS u odnosu na negativnu kontrolu.

Zahvala: bilateralni projekt BI-HR/20-21-019

## Utjecaj bisfenola A na mitotski indeks i giberelinsku kiselinu u stanicama korjenčića luka (*Allium cepa* L.)

Sanja Gagić, Lucija Habljak, Miriam Šiniković, Ana-Marija Domijan

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

*sgagic@pharma.hr*

Bisfenol A (BPA) hormonski je aktivna supstanca koja ometa normalnu funkciju endokrinog sustava i na taj način remeti zdravlje organizma. Koristi se u proizvodnji plastike i epoksidnih smola te je zbog široke primjene sveprisutan u okolišu. Ljudi su izloženi BPA inhalacijom, ingestijom ili preko kože. Epidemiološke studije utvrdile su prisustvo BPA u krvi, serumu, urinu i u majčinom mlijeku. Izloženost BPA povezuje se s poremećajem funkcija reproduktivnog sustava, pojavom dijabetesa, kardiovaskularnih bolesti i hormonski ovisnih tumora. Također, pokazano je da uzrokuje poremećaje u diobi kromosoma te, s obzirom da prelazi placentalnu barijeru, povećava vjerojatnost pojave Downovog i drugih sindroma. Cilj ovog istraživanja bio je pratiti utjecaj BPA na mitotski indeks (MI) i sintezu giberelinske kiseline (GA3) na biljnome modelu, običnom luku (*Allium cepa* L.). MI je mikroskopski parametar kojim se procjenjuje učestalost stanica u diobi što odražava utjecaj određenog spoja na stanični ciklus i rast biljke. GA3 je biljni hormon koji djeluje na rast biljnih organa u dužinu. Prethodna istraživanja su pokazala da BPA uzrokuje morfološke promjene na korjenčićima luka te je pretpostavka da BPA inhibira GA3 i na taj način smanjuje i MI. Korjenčići lukovica luka (10 lukovica po tretmanu) izloženi su BPA u koncentracijskom rasponu 1–50 mg/L kroz 72 sata. Kao negativna kontrola korištena je destilirana voda. Nakon 72 satne izloženosti po tri korjenčića od svake lukovice stavljena su u fiksativ te su potom pripremljeni mikroskopski preparati bojenjem s orceinom. Mikroskopski preparati promatrani su pod svjetlosnim mikroskopom (povećanje 400×), a MI je određen brojanjem stanica u svakoj od pojedinih faza staničnog ciklusa na  $N = 500$  stanica po korjenčiću. Ostatak tkiva korjenčića je osušen te je pripremljen homogenat u fosfatnom puferu (1 : 20). U supernatantu je određena koncentracija GA3 pomoću komercijalnog seta (MyBioSource, Inc.) metodom ELISA. Rezultati su statistički obrađeni (ANOVA, Dunnet test). BPA je već u koncentraciji 1 mg/L uzrokovao sniženje MI ( $5,7 \pm 0,01$  %) u odnosu na negativnu kontrolu ( $7,5 \pm 0,01$  %,  $p < 0,05$ ). Koncentracija GA3 snižavala se s povećanjem koncentracije BPA i nakon tretmana s 5 mg/L bila značajno niža u odnosu na kontrolu ( $174,67 \pm 55,9$  pM vs.  $280,23 \pm 92,4$  pM,  $p < 0,05$ ). Iz ovih rezultata je vidljivo da BPA citotoksično djeluje na stanice korjenčića luka smanjujući učestalost diobe i razinu GA3.

*Zahvala: bilateralni projekt BI-HR/20-21-019*

## Učinak 2-metoksi-1,4-naftokinona na parametre oksidacijskog stresa u klijanaca obične rotkvice (*Raphanus sativus* L.)

Sven Kraljević, Ana-Marija Domijan

Zavod za farmaceutsku botaniku, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska  
skraljevic1@pharma.hr

2-metoksi-1,4-naftokinon (2-MNQ) sekundarni je metabolit biljaka, gljiva i mikroorganizama. Zbog utvrđenog antikancerogenog, antimetastatskog te antimikrobnog učinka smatra se mogućim potencijalnim spojem za razvoj novih terapeutika. Stoga je potrebno istraživati toksičnost i mehanizme djelovanja 2-MNQ. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati utjecaj 2-MNQ na fitotoksičnost i parametre oksidacijskog stresa u klijanaca obične rotkvice (*Raphanus sativus* L.). Modelni organizam bio je tri dana izložen različitim koncentracijama 2-MNQ (1–30 µg/mL), destiliranoj vodi (negativna kontrola) ili 0,02 M otopini CuSO<sub>4</sub> (pozitivna kontrola) u triplicatu. Nakon trodnevnog izlaganja izvagana je masa svježega tkiva te su pripremljeni homogenati klijanaca tkiva u trikloroetanoj kiselini (200 mg tkiva/mL). U supernatantu homogenata određeni su parametri oksidacijskog stresa spektrofotometrijski: glutation (GSH) pomoću DTNB testa, antocijanini pH diferencijalnom metodom i malondialdehid (MDA) pomoću TBA testa. Za statističku obradu rezultata korištena je jednosmjerna ANOVA i Dunnettov test ( $p \leq 0,05$ ).

Trodnevna izloženost 2-MNQ nije dovela do statistički značajnog smanjenja mase klijanaca rotkvice u odnosu na negativnu kontrolu. Niže koncentracije 2-MNQ (1–20 µg/mL) uzrokovale su statistički značajni pad sadržaja GSH u odnosu na negativnu kontrolu ( $p < 0,05$ ), dok je 2-MNQ u koncentraciji od 30 µg/mL doveo do porasta sadržaja GSH. To se može objasniti potrošnjom zaliha GSH nakon trodnevne izloženosti nižim koncentracijama 2-MNQ u svrhu obrane od ROS-ova te *de novo* sintezom GSH kao odgovorom na oksidacijski stres nakon izloženosti višoj koncentraciji 2-MNQ. Značajnija promjena sadržaja antocijanina nakon trodnevne izloženosti 2-MNQ u ispitivanom koncentracijskom rasponu u odnosu na negativnu kontrolu nije zabilježena. Najviša koncentracija 2-MNQ (30 µg/mL) uzrokovala je blagi porast sadržaja MDA u odnosu na negativnu kontrolu, dok je izloženost nižim koncentracijama 2-MNQ (1–20 µg/mL) uzrokovala statistički značajan pad sadržaja MDA. S obzirom da je izloženost nižim koncentracijama 2-MNQ uzrokovala pad sadržaja i GSH i MDA, a viša koncentracija rast njihovog sadržaja, može se pretpostaviti da je rotkvice koristila GSH kao obrambeni sustav te se potrošnjom sadržaja GSH smanjivao i sadržaj MDA. Iz dobivenih rezultata može se zaključiti da ispitivane koncentracije 2-MNQ (1–30 µg/mL) nisu fitotoksične za rotkvicu te da je jedan od mehanizama djelovanja 2-MNQ oksidacijski stres.

## Ispitivanje inhibitornog učinka derivata futalozina na SARS-CoV-2 3CLpro metodom molekuskog sidrenja

Antonija Nucak, Hrvoje Rimac

*Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska*

*tonka.nucak@gmail.com*

Globalna pandemija COVID-19, koju je uzrokovao patogen SARS-CoV-2, u više od 2 godine odnijela je 6 200 000 života te zarazila pola milijarde ljudi diljem svijeta. Unatoč naporima svjetskih zdravstvenih vlasti, broj umrlih od te bolesti se i dalje svakodnevno bilježi u peteroznamenastim iznosima. U namjeri da se pandemija okonča, znanstvenici se intenzivno bave razvojem učinkovitih antivirusnih lijekova. SARS-CoV-2 3CL proteaza pokazala se privlačnom metom u razvoju prikladnih inhibitora posjedujući sličnosti s dobro istraženim 3CL proteazama drugih koronavirusa. S obzirom na to da igra ključnu ulogu u generiranju nestrukturanih proteina bitnih za virusnu replikaciju, smatra se jednim od najbitnijih enzima odgovornih za virulenciju SARS-CoV-2. U prijašnjim istraživanjima futalozin se istaknuo kao prikladan kandidat za razvoj inhibitora SARS-CoV-2 3CLpro, pokazujući značajan inhibitorni učinak, ali i dobre strukturne i ADMET karakteristike poželjne kod razvoja lijeka. Vodeći se navedenim saznanjima u ovom istraživanju metodom molekuskog sidrenja ispitivao se inhibitorni učinak ukupno 374 molekula, dizajniranih po uzoru na futalozin te prilagođenih prirodni aminokiselinskih ostataka u aktivnom mjestu enzima. Rezultati istraživanja pokazuju da, od svih ispitivanih molekula, molekula F41.17 posjeduje najbolji inhibitorni učinak na SARS-CoV-2 3CLpro. Energija vezanja F41.17 iznosi  $\Delta G_{\text{BIND}} = -8,7 \text{ kcal mol}^{-1}$  što je za  $1,3 \text{ kcal mol}^{-1}$  niže u odnosu na energiju vezanja futalozina, a osim što tvori više interakcija s aminokiselinama u aktivnom mjestu enzima, pokazalo se da posjeduje jednake ili bolje farmakokinetičke značajke od futalozina. Sve navedene karakteristike molekule F41.17 čine ju kandidatom vrijednim razmatranja u daljnjem razvoju inhibitora SARS-CoV-2 3CLpro.

## Sinteza i karakterizacija harmizinina triazolskog tipa, hibridnih spojeva harmina i artemizinina

Josip Rešetar, Goran Poje, Marina Marinović, Zrinka Rajić

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

Terapija raka, po učestalosti drugog uzročnika smrti u svijetu, zbog nedovoljne selektivnosti, izražene toksičnosti i rezistencije na postojeće citostatike, postaje sve veći izazov. S druge strane, od malarije, zarazne tropske bolesti, godišnje premine preko 600 000 osoba, a terapija je otežana zbog pojave multirezistentnih parazita roda *Plasmodium*. Stoga je potrebno usmjeriti istraživanja prema pronalasku molekula s novim mehanizmima djelovanja. Zbog dokazanih antimalarijskih i protutumorskih svojstava antimalarijskog lijeka artemizinina te  $\beta$ -karbolinskog alkaloida harmina, u ovom je priopćenju prikazana sinteza njihovih hibrida – harmizinina. Alkin-azid cikloadicijom kataliziranom Cu(I) (tzv. klik-reakcijom) alkina artemizinina **13** i azida  $\beta$ -karbolina **4**, **7** i **12**, preko triazolske poveznice, pripravljene su ciljane hibridne molekule **14–16**. Strukture novosintetiziranih spojeva potvrđene su uobičajenim spektrometrijskim i spektroskopskim metodama ( $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR, MS i IR). U daljnjim istraživanjima ispitat će se njihovo protutumorsko i antimalarijsko djelovanje.

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

PP6

## Razvoj novih inhibitora bakterijskog sustava popravka DNA u gram-negativnim bakterijama

Vanessa V. Rogga<sup>1</sup>, Thomas Lanyon-Hogg<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

<sup>2</sup> Department of Pharmacology, University of Oxford, Ujedinjeno Kraljevstvo

vrogga@student.pharma.hr

Antimikrobna rezistencija (AMR) značajna je prijetnja zdravstvu i u narednim godinama možemo očekivati vrlo strm rast smrti uzrokovanih AMR-om. S obzirom na to da su bakterije već razvile mehanizme rezistencije prema gotovo svim dostupnim skupinama antibiotika, goruća je potreba za razvojem molekula s novim mehanizmima djelovanja. Bakterijski SOS odgovor je mehanizam opstanka aktiviran na stresne podražaje uzrokovane oštećenjem DNA [1]. Aktivacijom SOS odgovora se povećava ekspresija DNA-polimeraza niske točnosti što dovodi do velikog broja mutacija i nastanka rezistentnih bakterijskih sojeva.

IMP-1700 je molekula koja inhibira enzime sustava popravka DNA u sklopu SOS odgovora i senzitivira gram-pozitivne bakterije rezistentne na antibiotike koji uzrokuju oštećenje DNA u nanomolarnim koncentracijama [2]. Cilj ove studije bio je razvoj novih analoga IMP-1700 poboljšane aktivnosti u gram-negativnim bakterijama proučavanjem odnosa strukture i djelovanja te unosom u bakterijsku stanicu pomoću mehanizma siderofora. U sklopu ove studije sintetizirani su novi analozi IMP-1700, VVR031=VVR046, VVR051, VVR059, VVR062, VVR066A, VVR066B, VVR067 i VVR068 koji su trenutno u procesu biološke evaluacije.

[1] T. Lanyon-Hogg, Targeting the bacterial SOS response for new antimicrobial agents: Drug targets, molecular mechanisms and inhibitors, *Future Med. Chem.* **13** (2021) 143–155.

[2] C.S.Q. Lim *et al.*, Identification of a potent small-molecule inhibitor of bacterial DNA repair that potentiates quinolone antibiotic activity in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Bioorg. Med. Chem.* **27** (2019) 114962.

## Unutarstanična lokalizacija i utjecaj harmicena na stanični ciklus tumorskih stanica

Kristina Pavić<sup>1</sup>, Marija Mioč<sup>2</sup>, Goran Poje<sup>1</sup>, Marijeta Kralj<sup>2</sup>, Zrinka Rajić<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zavod za farmaceutsku kemiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

<sup>2</sup> Laboratorij za eksperimentalnu terapiju, Zavod za molekularnu medicinu, Institut Ruđer Bošković, Zagreb, Hrvatska

*gpoje@pharma.hr*

Rak je drugi vodeći uzrok smrti u svijetu zbog čega predstavlja globalni javnozdravstveni problem. U 2020. godini je, prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije, zabilježeno gotovo 20 milijuna novih slučajeva raka i 10 milijuna rakom uzrokovanih smrti [1]. Iako je kemoterapija posljednjih desetljeća značajno napredovala, razvoj rezistencije tumorskih stanica na postojeće citostatike smanjuje njenu učinkovitost [2]. Zbog prethodnog, razvoj novih protutumorskih lijekova, s novim mehanizmima djelovanja, od iznimne je važnosti.

Harmiceni su hibridni spojevi harmina i ferocena, povezani triazolom ili amidnom vezom. U ovom radu istražena je njihova unutarstanična lokalizacija i utjecaj na stanični ciklus tumorskih stanica, što je povezano s njihovim antiproliferativnim djelovanjem.

Za ispitivanje lokalizacije harmicena u MCF-7 stanicama iskorišteno je njihovo intrinzično svojstvo fluorescencije. Za ovaj pokus odabrana su dva harmicena, spoj **1**, koji je djelovao samo na staničnu liniju HCT116, i spoj **2**, koji je bio citotoksičan prema svim ispitivanim staničnim linijama. Spoj **1** je obojio citoplazmu stanica, ali je uzrokovao i točkasta obojenja unutar stanične jezgre što upućuje na moguću interakciju s molekulom DNA. S druge strane, spoj **2** pokazao je drugačiju lokalizaciju unutar stanice – uzrokovao je bojenje citoplazme, dok fluorescencija jezgre nije bila jasno uočljiva. Nadalje, ispitali smo utjecaj harmicena **1** i **2** na stanični ciklus. Pokus je proveden na staničnoj liniji HCT116 pri dvije koncentracije (3 i 6  $\mu$ M). Stanice su bile izložene spojevima tijekom 24, odnosno 48 h, nakon čega je DNA obojena propidij-jodidom, a uzorci analizirani protočnom citometrijom. Harmicen **1** je pri obje ispitane koncentracije uzrokovao zaustavljanje staničnog ciklusa u G1 fazi već nakon 24 h. Isti spoj je nakon 48 h uzrokovao zaustavljanje ciklusa u G2/M fazi što je u skladu s literaturnim podacima [3]. S druge strane, harmicen **2** je uzrokovao zaustavljanje ciklusa u G1 fazi tek pri višoj koncentraciji. Ova saznanja govore u prilog tome da su molekulske mete harmicena **1** i **2** vjerojatno različite te ih je potrebno identificirati u budućim istraživanjima.

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

[1] <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>

[2] K.O. Alfarouk *et al.*, Resistance to cancer chemotherapy: Failure in drug response from ADME to P-gp, *Cancer Cell Int.* **15** (2015) 71.

[3] G.D. Kim, Harmine hydrochloride triggers G2/M cell cycle arrest and apoptosis in HCT116 cells through ERK and PI3K/AKT/mTOR signaling pathways, *Prev. Nutr. Food Sci.* **26** (2021) 445–52.



## Termodinamika vezanja klindamicina na humani serumski albumin i alfa-1-kiseli glikoprotein

Ana Palavra, Robert Kerep, Mario Gabričević

*Zavod za opću i anorgansku kemiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska  
apalavra@pharma.hr*

Samo nevezane molekule prisutne u ciljnom tkivu mogu imati farmakološke učinke, stoga je vezanje lijeka i proteina ključno kod tumačenja farmakokinetike lijeka, u ovom slučaju klindamicina. Najvažniju ulogu u odvijanju ovih procesa imaju humani serumski albumin (HSA) i alfa-1-kiseli glikoprotein (AGP). AGP važan je protein plazme uključen u vezanje mnogih ksenobiotika, a posebno bazičnih spojeva. AGP ima neka jedinstvena svojstva vezanja lijeka koja se razlikuju od svojstava albumina. Na primjer, koncentracija AGP u plazmi je relativno niska i postoji samo jedno mjesto vezanja lijeka u svakoj molekuli AGP, dok je HSA protein visoke koncentracije i s većim brojem veznih mjesta. Količina HSA u krvi, raznolikost njegovih aminokiselina i njihov raspored u proteinu određuje vezivanje lijekova. Koncentracija i metabolizam raznih lijekova može biti značajno izmijenjena zbog vezanja na HSA. Linkozamidni antibiotik korišten u ovom istraživanju je klindamicin (CL). CL pripada skupini bazičnih lijekova, stoga se primarno veže na AGP, a njegovo vezanje dosta ovisi o koncentraciji i kreće se od 78–94 %. Izotermalna titracijska kalorimetrija (ITC) je pristup koji se najčešće koristi za istraživanje biomolekularnih interakcija. Mjeri unošenje ili oslobađanje topline. ITC eksperiment temelji se na uzastopnom dodavanju lijeka u otopinu proteina u reakcijskoj ćeliji. Svaki dodatak liganda uzorku proteina dovodi do stvaranja kompleksa ligand-protein, u skladu s afinitetom vezanja koji se može procijeniti praćenjem otpuštanja topline. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi termodinamiku vezanja CL na HSA i AGP te uočiti razlike u vezanju. Na temelju provedenih mjerenja CL je pokazao za oko 50 % veći afinitet vezanja prema AGP-u u odnosu na HSA što je i potvrđeno dobivenim velikim razlikama u entalpiji i entropiji vezanja ovih procesa gdje je promjena entalpije kod procesa vezanja CL i HSA bila pozitivna, rezultirajući endotermnom reakcijom, dok je promjena kod vezanja klindamicina i AGP bila negativna, što čini reakciju egzotermnom. Nadalje, obzirom da je entropija vezanja negativnija prilikom vezanja CL na HSA, reakcija je entropijski favorizirana, za razliku od AGP-a gdje je reakcija i entalpijski i entropijski favorizirana, čineći ju spontanom pri svim temperaturama. Promjena Gibbsove energije u oba pokusa je negativna.

## Ispitivanje mehanizma interakcije imipramina s humanim serumskim albuminom u ovisnosti o temperaturi i prisutnosti glukoze

Kristina Planinić, Dina Platužić, Robert Kerep, Mario Gabričević

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

*kplaninic7@gmail.com*

Interakcije između lijeka i proteina krvne plazme utječu na funkciju lijeka u tijelu, uključujući njegov transport, raspodjelu, metabolizam i ekskreciju. Humani serumski albumin (HSA) najzastupljeniji je protein u ljudskoj plazmi s koncentracijom u zdravih ljudi 500–750  $\mu\text{M}$  (35–50 g/L) te čini otprilike 60 % mase svih proteina u plazmi. Mnogi se lijekovi vežu za jedno od dva glavna vezna mjesta smještena u poddomenama IIA i IIIA (Sudlowljeva mjesta I i II), s time da se više spojeva veže u poddomeni IIA. Molekularni mehanizam i termodinamička svojstva interakcija između imipramina i HSA ispitani su *in vitro* upotrebom UV-Vis spektrofotometrije. Mehanizmi vezanja ovise o parametrima poput temperature, pH, prisutnosti endogenih ili egzogenih liganada poput glukoze, hormona, metalnih iona i sl. U ovom smo radu proučavali vezanje lijeka imipramina, pripadnika skupine tricikličkih antidepresiva, na HSA pri različitim temperaturama i koncentracijama glukoze u plazmi. Prividna makroskopska konstanta vezanja imipramina i HSA iznosi  $7,06 \pm 0,963 \mu\text{M}^{-1}$  pri 37 °C, dok preliminarni rezultati ukazuju na smanjeno vezanje imipramina na HSA uslijed povećanja temperature od 25 °C do 42 °C, a dobiveni termodinamički parametri temeljem Van't Hoffovog dijagrama upućuju da je riječ o egzotermnoj i spontanoj reakciji koja se odvija primarno putem vodikovih veza i elektrostatskih interakcija. Provedenim spektrofotometrijskim mjerenjem pri 37 °C uočeno je da glukoza ne utječe značajno na vezanje lijeka i proteina. Učinkovitost terapije uvjetovana koncentracijom slobodnog imipramina u plazmi ovisna je o interakciji s HSA pod utjecajem temperature, gdje je konstanta vezanja pri 25 °C za 3,79 puta veća u odnosu na konstantu vezanja pri 42 °C.

PP10

## Razvoj oftalmičkih sekundarnih kationskih nanoemulzija s oligomerom kitozana

Matej Jaušić<sup>1</sup>, Bisera Jurišić Dukovski<sup>2</sup>, Josip Ljubica<sup>2</sup>, Jasmina Lovrić<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ljekarne Koprivnica, Hrvatska

<sup>2</sup> Zavod za farmaceutsku tehnologiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

[matejjausic@gmail.com](mailto:matejjausic@gmail.com)

Bolest suhog oka bolest je površine oka, koja je u današnje vrijeme česta pojava [1]. Kapi za oko tehnološkog oblika kationskih nanoemulzija (NE) stupaju u kontakt s mucinima na površini oka nakon primjene, čime je omogućeno njihovo produljeno zadržavanje [2, 3]. Također, NE omogućuju nadoknadu vodene, lipidne i mucinske komponente suznog filma, što ih čini iznimno prikladnim sustavima za ublažavanje simptoma bolesti suhog oka [3].

U sklopu ovog rada uspješno su pripravljene različite NE koje sadrže 2,5 % (*m/m*) polusintetske smjese srednjelančanih triglicerida, 0,05 % (*m/m*) lecitina, 0,25 % (*m/m*) makrogolglicerol ricinoleata 35, 0–0,05 % (*m/m*) mukoadezivnog polimera kitozana (niske molekulske mase ili oligomera), 2,5 % (*m/m*) glicerola za izotonizaciju NE i pročišćenu vodu do 100 % (*m/m*). Pripravljenim formulacijama ispitana su fizičko-kemijska svojstva: prosječna veličina, raspodjela veličina te zeta-potencijal kapljica unutarne faze. Također, ispitano je svojstvo mukoadezivnosti formulacija nakon miješanja s disperzijom mucina pomoću dviju *in vitro* metoda: reološkom metodom te određivanjem veličine kapljica, raspodjele veličina kapljica i zeta-potencijala nanoemulzija.

Na temelju provedenih ispitivanja kao formulacija s potencijalom za daljnji razvoj istaknula se sekundarna kationska NE s oligomerom kitozana, pripravljena dodavanjem otopine oligomera kitozana u smjesu prije pripreme nanoemulzije procesom mikrofluidizacije.

*Ovaj rad sufinancirala je Hrvatska zaklada za znanost projektom BeatDED (IP-2019-04-2174) i Europski fond za regionalni razvoj projektom Farmlnova (KK.01.1.1.02.0021).*

[1] P.A. Rouen, M.L. White, Dry eye disease: Prevalence, assessment, and management, *Home Healthc. Now* **36** (2018) 74–83.

[2] P. Daull *et al.*, Cationic emulsion-based artificial tears as a mimic of functional healthy tear film for restoration of ocular surface homeostasis in dry eye disease, *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* **36** (2020) 355–365.

[3] B. Jurišić Dukovski, Razvoj funkcionalnih kationskih nanoemulzija za liječenje bolesti suhog oka, Doktorski rad, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, 2021.

## Razvoj nanosuspenzija melatonina za nazalnu primjenu pripravljenih metodom vlažnog mljevenja

Tin Rogina\*, Veronika Ria Tus\*, Laura Nižić Nodilo, Mirna Perkušić, Ivan Pepić, Anita Hafner

*Zavod za farmaceutske tehnologije, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska*

*\*Autori su jednako pridonijeli prikazanom istraživanju.*

*trogina@student.pharma.hr, vtus@student.pharma.hr*

Melatonin je neurohormon koji se primjenjuje u regulaciji cirkadijanog ritma, a u novije vrijeme istražuje se njegova uloga u liječenju pacijenata s ozbiljnijim simptomima bolesti COVID-19 [1]. Nazalna primjena pruža mogućnost jednostavne, izravne i brze dostave lijeka u središnji živčani sustav. S ciljem poboljšanja učinkovitosti nazalno primijenjenog lijeka, razvijaju se nanosuspencije kao inovativni farmaceutski oblici poboljšanih mukoadhezivnih svojstava, povećane topljivosti i (volumenom kontrolirane) brzine otapanja lipofilnih lijekova [2].

U ovom istraživanju pripravljene su nanosuspencije melatonina metodom vlažnog mljevenja. Za mljevenje su korištene kuglice od cirkonijevog oksida stabiliziranog itrijem promjera 0,1 mm, 0,2 mm i 0,4–0,6 mm. Kao površinski aktivna tvar korišten je polisorbata 80 pri konstantnoj koncentraciji od 2,86 mg/mL. Nanosuspencije su pripravljene od melatonina i polisorbata u masenom omjeru 2 : 1, 1 : 1 i 1 : 2. Veličina dobivenih nanokristala i indeks polidisperznosti (PDI) određeni su metodom fotonske korelacijske spektroskopije odmah nakon pripreme nanosuspencija i tijekom 14 dana skladištenja pri 4 °C.

Metoda vlažnog mljevenja uspješno je primijenjena za pripremu nanosuspencija melatonina. Veličina čestica bila je u rasponu od  $172,2 \pm 1,0$  nm do  $344,2 \pm 2,8$  nm, dok je PDI bio u rasponu od  $0,126 \pm 0,016$  do  $0,177 \pm 0,029$ . Kod formulacija s masenim omjerom melatonina i polisorbata 80 od 2 : 1 i 1 : 1 primijećen je rast nanokristala, dok su veličina čestica i PDI nanosuspencije pripravljene pri masenom omjeru melatonina i polisorbata 80 od 1 : 2 ostali nepromijenjeni tijekom 14 dana skladištenja pri 4 °C.

Utvrđena je prikladnost metode vlažnog mljevenja za pripremu nanosuspencije melatonina s polisorbatom 80 kao surfaktantom u masenom omjeru 1 : 2. Dobiveni rezultati pružaju temelj za daljnji razvoj nanosustava melatonina za nazalnu primjenu.

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

[1] K.M. Cross *et al.*, Melatonin for the early treatment of COVID-19: A narrative review of current evidence and possible efficacy, *Endocr. Pract.* **27** (2021) 850–855.

[2] A. Alshweiat *et al.*, Nasal delivery of nanosuspension-based mucoadhesive formulation with improved bioavailability of loratadine: Preparation, characterization, and *in vivo* evaluation, *Int. J. Pharm.* **579** (2020) 119166.

## Razvoj biorelevantne *in vitro* metode za predviđanje stabilnosti nanoemulzija na površini oka

Josip Ljubica, Bisera Jurišić Dukovski, Jasmina Lovrić

*Zavod za farmaceutsku tehnologiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska  
jljubica@pharma.hr*

Oftalmičke nanoemulzije (NE) predstavljaju inovativni pristup liječenju bolesti suhog oka. Složen su farmaceutski oblik koji čine kapljice ulja nanometarske veličine raspršene u vodenoj fazi i stabilizirane površinski aktivnim tvarima (PAT). S obzirom na složenost NE te složenost i dinamiku površine oka, dostupnost biorelevantnih *in vitro* alata, konstruiranih na temelju ključnih fizioloških i anatomske aspekata površine oka, osobito je važna za uspješan razvoj oftalmičkih NE. Cilj ovog istraživanja bio je razviti biorelevantnu *in vitro* metodu za predviđanje stabilnosti NE nakon primjene, a koja uključuje najvažnije fiziološke aspekte površine oka, tj. treptanje i dinamiku izmjene suznog filma. U tu svrhu ispitano je pet različitih NE, od kojih jedna komercijalno dostupna (Cationorm®). Pripravljena je umjetna suzna tekućina (*engl.* artificial tear solution, ATS), koja sadrži soli, glukozu, ureu, lipide i proteine, koji su fiziološki prisutni u suznom filmu. NE su u inkubatoru (pri 34 °C i 50 okretaja u minuti) razrijeđene ATS-om u volumnom omjeru 25 : 7 (omjer volumena kapi za oko i volumena suznog filma) te je kroz 40 minuta svake minute uklonjeno 16 % volumena smjese NE i ATS-a i nadopunjeno svježim ATS-om, kako bi se simulirala *in vivo* izmjena suzne tekućine. U predodređenim vremenskim točkama izmjerena je veličina kapljica ulja i indeks polidisperznosti metodom fotonske korelacijske spektroskopije. Nadalje, za odabrane NE korišten je i reološki test koji simulira utjecaj treptanja na formulaciju. NE su prije podvrgavanja visokom gradijentu brzine smicanja razrijeđene ATS-om u omjeru 25 : 7 (v/v). Ciklus simuliranog treptanja, s pauzom između dvaju treptaja, ponovljen je 10 puta pri temperaturi površine oka (34 °C). Rezultati ispitivanja jasno pokazuju razliku u stabilnosti ispitanih NE na osnovu promjene prosječne veličine kapljica uljne faze i indeksa polidisperznosti.

Predložena metoda predstavlja vrijedan doprinos razvoju biorelevantnih *in vitro* alata za pouzdan te vremenski i financijski isplativ razvoj inovativnih i generičkih oftalmičkih proizvoda.

*Ovaj rad sufinancirala je Hrvatska zaklada za znanost projektom IP-2019-04-2174.*

## Ispitivanje propusnosti različitih tipova zaštitnih maski za vijabilne čestice plijesni u zraku

Filip Pudić, Daniela Jakšić

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

*filip.pudi9@gmail.com*

Početak pandemije COVID-19 i povećano nošenje maski u svrhu zaštite od virusa potaknuli su pitanje zaštitnog utjecaja maski kod inhalacije različitih aerogenih čestica koje mogu štetno utjecati na zdravlje ljudi. Obzirom na široku rasprostranjenost, javnozdravstveni i ekonomski značaj, plijesni svakako predstavljaju dio zračnog ekosustava koji je važno istraživati.

Stoga smo u ovome radu ispitali propusnost pamučne maske, kirurške maske, FFP2 i FFP3 maske za plijesni u unutarnjem i u vanjskom zraku upotrebom uređaja za uzorkovanje zraka i odgovarajućih hranjivih podloga. Rezultati kvantitativne analize su pokazali kako u oba slučaja FFP2 maska najbolja zadržava vijabilne čestice plijesni u skladu sa deklariranim propisom i certifikatom s obzirom na utvrđenu razinu zadržavanja vijabilnih čestica plijesni od 93–95 %. Iako bi zaštitna respirator-maski tipa FFP3 maska trebala još u većoj mjeri zadržavati mikočestice, u ovom istraživanju pokazana je do 11 % niža učinkovitost u odnosu na certificirani postotak filtracije od 99 %. Kirurška maska pokazala je 30–80 % slabiju učinkovitost u zadržavanju vijabilnih čestica plijesni, međutim zanimljivo je da revers kirurške maske zadržava čak 89 % vijabilnih čestica plijesni. Ovakvi rezultati u skladu su s preporukom nošenja kirurške maske radi smanjenja širenja potencijalno infektivnog aerosola. Pamučna maska nije imala značajnijeg utjecaja na zadržavanje aerogenih plijesni stoga je njezina uloga u zaštiti ljudi od štetnog utjecaja plijesni upitna.

Kvalitativna analiza mikromorfologije i makroskopskih obilježja poraslih kolonija plijesni pokazala je najveću zastupljenost plijesni iz rodova *Cladosporium*, *Aspergillus* i *Penicillium*. Dok pamučna i kirurška maska slično filtriraju različite rodove plijesni, FFP2 i FFP3 maska propuštale su samo plijesni iz roda *Cladosporium*. Za preciznu interpretaciju rezultata ovoga rada trebalo bi provesti istraživanje validiranim postupkom upotrebom sterilnih filtera prikladnijih za uređaj za uzorkovanje zraka, a da po svojim svojstvima odgovaraju kirurškoj, FFP2 i FFP3 maski. Metoda istraživanja može se i optimizirati za ispitivanje novih materijala sa svojstvima učinkovitijeg zadržavanja infektivnih i/ili alergeni čestica plijesni te bi kao takvi pružili učinkovitiju zaštitu ciljnim skupinama pacijenata.

## Procjena rizika nekompatibilnosti etrasimoda i pomoćnih tvari primjenom CACD pristupa

Jelena Kovačić<sup>1</sup>, Mario-Livio Jeličić<sup>1</sup>, Daniela Amidžić Klarić<sup>1</sup>, Biljana Nigović<sup>1</sup>, Katarina Mužina<sup>2</sup>, Stanislav Kurajica<sup>2</sup>, Nikša Turk<sup>3</sup>, Mislav Jelaković<sup>3</sup>, Željko Krznarić<sup>3,4</sup>, Ana Mornar<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zavod za analitiku i kontrolu lijekova, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

<sup>2</sup> Zavod za anorgansku kemijsku tehnologiju i nemetale, Sveučilište u Zagrebu Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Hrvatska

<sup>3</sup> Klinički bolnički centar Zagreb, Hrvatska

<sup>4</sup> Sveučilište u Zagrebu Medicinski fakultet, Hrvatska

*jkovac@pharma.hr*

Upalne bolesti crijeva (*engl.* Inflammatory Bowel Disease, IBD), Crohnova bolest i ulcerozni kolitis, spadaju u kronične i progresivne bolesti. Etiologija im nije u potpunosti razjašnjena, a smatra se da uključuje kombinaciju genskih i okolišnih čimbenika što dovodi do neravnoteže između proupalnih i protuupalnih citokina u gastrointestinalnom traktu. Tijekom posljednjeg desetljeća biološka terapija u potpunosti je izmijenila strategiju liječenja. Ipak, 30 % bolesnika ne odgovori na biološku terapiju, a čak kod 40 % onih koji su inicijalno odgovorili, terapija izgubi djelotvornost. Upravo za ove bolesnike postoji potreba za razvojem novih lijekova s drugačijim mehanizmima djelovanja.

Modulatori sfingozin-1-fosfat (S1P) receptora predstavljaju novu generaciju lijekova koji čine prekretnicu u liječenju bolesnika s upalnim bolestima crijeva. U 2021. godini Agencija za hranu i lijekove Sjedinjenih Američkih Država i Europska agencija za lijekove su odobrili ozanimod kao prvi selektivni modulator S1P<sub>1</sub> i S1P<sub>5</sub> izoformi receptora, dok etrasimod predstavlja drugu generaciju modulatora S1P receptora koji trenutno prolazi kroz fazu III. kliničkih ispitivanja. Kako bi ovaj lijek našao svoje mjesto u terapiji upalnih bolesti crijeva potreban je promišljen i sveobuhvatan pristup razvoju učinkovitog i sigurnog farmaceutskog proizvoda s ciljanom dostavom aktivne farmaceutske tvari u područje upale.

Za ispitivanje kompatibilnosti etrasimoda i 130 pomoćnih tvari korištena je platforma PharmDE. CACD (*engl.* Computer Assisted Compatibility Design) pristup pokazao je kako etrasimod nije kompatibilan s pomoćnim tvarima koje u strukturi sadrže hidroksilne skupine.

## Optimizacija uvjeta ekstrakcije šest antitumorskih lijekova iz krvne plazme primjenom komercijalno dostupnih sorbensa i sintezom molekularno otisnutih polimera

Kristina Javorić<sup>1</sup>, Juraj Vuić<sup>1</sup>, Lu Turković<sup>2</sup>, Zvonimir Mlinarić<sup>2</sup>, Miranda Sertić<sup>2</sup>, Dragana Mutavdžić Pavlović<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zavod za analitičku kemiju, Sveučilište u Zagrebu Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Hrvatska

<sup>2</sup> Zavod za analitiku i kontrolu lijekova, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

kristinajavori@gmail.com

Abemaciclib, ribociklib, palbociklib, anastrozol, letrozol i fulvestrant imaju važnu ulogu u liječenju raka dojke. S obzirom da postoji varijabilnost odgovora na terapiju od pacijenta do pacijenta, terapijsko praćenje navedenih lijekova moglo bi uvelike poboljšati ishode terapije uz smanjenje rizika pojave nuspojava ili toksičnih učinaka. Za uspješno terapijsko praćenje lijekova vrlo je važno postojanje bioanalitičke metode koja uključuje i pripremu uzorka. U biološkim uzorcima se lijekovi često nalaze u malim koncentracijama (od ng/mL pa čak i do pg/mL), uz prisutnost složene matrice koja dodatno otežava njihovu detekciju stoga je priprema uzorka, kao što je ekstrakcija čvrstom fazom (SPE), neophodan korak za osiguravanje odgovarajuće osjetljivosti, selektivnosti i ponovljivosti analitičke metode. U ovom su radu u svrhu razvoja metode ekstrakcije čvrstom fazom korišteni komercijalno dostupni sorbensi pri čemu se za svaku vrstu sorbensa ispitala najbolja kombinacija otapala te utjecaj različitih načina pripreme uzorka krvne plazme. Učinkovitost ekstrakcije kvantitativno je određena tekućinskom kromatografijom ultra visoke djelotvornosti uz spektrometar masa kao detektor. Najbolja iskorištenja za sve citostatike ostvarena su na C8 koloni (iznad 92,32 %) iza čega slijedi postupak na HLB (*engl.* hydrophilic-lipophilic balance) koloni. Na temelju dobivenih rezultata preliminarnog ispitivanja na komercijalno dostupnim sorbensima ciljano su pripremljeni polimerni sorbensi s otiskom molekule fulvestranta jer su za njega dobivena najlošija iskorištenja ekstrakcije u svim ispitivanjima. Pritom se primijenio postupak korišten na HLB koloni (eluiranje s 2 %-tnom mravljom kiselinom u metanolu nakon čega slijedi čisti metanol) jer se primijetilo da kod tog postupka postoji prostor za napredak vezano uz iskorištenje fulvestranta (74,96 %).

Sorbens pripremljen s funkcionalnim monomerom 2-hidroksietil metakrilatom (HEMA) pokazao se najpovoljnijim za ekstrakciju fulvestranta. Ispitano je i korištenje serijski vezanih sorbensa MIP-HEMA-HLB gdje su bolja iskorištenja dobivena u slučaju gdje se polimerni sorbens MIP-HEMA nalazi iznad HLB sorbensa. Oba pripremljena sorbensa, MIP-HEMA i MIP-HEMA serijski vezan s komercijalnim sorbensom, su dobri specifični sorbensi za izolaciju fulvestranta iz uzorka krvne plazme.

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



## Utjecaj vrste epruvete za vađenje krvi i metode izolacije na prinos egzosoma iz plazme

Magdalena Jurič<sup>1</sup>, Josip Ljubica<sup>2</sup>, Anita Somborac Bačura<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska*

<sup>2</sup> *Zavod za farmaceutsku tehnologiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska*

*magdalena.juric7@gmail.com*

Egzosomi su izvanstanične vezikule promjera 30–150 nm, bogate proteinima, RNA i DNA molekulama. Njihov sadržaj specifičan je za tkivo od kojega potječu zbog čega su prikladni za molekularno profiliranje tumora.

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati prinos egzosoma ovisno o vrsti epruvete za vađenje krvi i metodi izolacije egzosoma iz plazme.

Plazma je dobivena centrifugiranjem pune krvi izvađene u K2EDTA (Greiner Bio-One, Austrija) i CellSave Preservative Tubes (Menarini Silicon Biosystems, SAD) epruvete. Izolacija je provedena korištenjem dva komercijalna kompleta – miRCURY Exosome Serum / Plasma Kit (Qiagen, Njemačka) iz 600 µL plazme i Invitrogen Total Exosome Isolation Kit (from plasma) (ThermoFisher Scientific, SAD) iz 1200 µL plazme. Veličina i brojčana koncentracija egzosoma izmjereni su metodom dinamičkog raspršenja svjetlosti na uređaju Zetasizer Ultra (Malvern Pananalytical, UK). Western blot metoda korištena je za konačno dokazivanje prisutnosti egzosoma u izolatu korištenjem mišjih monoklonskih protutijela na egzosomski biljeg CD9 te ispitivanje prikladnosti uzorka egzosoma za daljnje analize dokazivanjem odsutnosti kalneksina (biljega endoplazmatskog retikula).

Izmjerena koncentracija i veličina egzosoma nisu se značajno razlikovale ovisno o korištenoj epruveti te su obje prikladne za izolaciju egzosoma. Izmjerena veličina egzosoma bila je u očekivanom nanometarskom rasponu. Primijećena je značajna razlika u veličini egzosoma ovisno o korištenom kompletu za izolaciju te su tako ThermoFisherovom metodom izolacije dobiveni veći egzosomi nego Qiagenovom metodom. Iako se početni volumeni plazme za izolaciju razlikuju, Qiagenovom metodom se iz upola manjeg početnog volumena dobiva gotovo 100 puta veća koncentracija egzosoma nego ThermoFisherovom metodom. Daljnjim analizama Western blotom u nereducirajućim uvjetima dokazana je prisutnost CD9 u uzorcima egzosoma izoliranim Qiagenovim kompletom. Izostankom karakteristične vrpce za kalneksin dokazana je odsutnost endoplazmatskog retikula i prikladnost uzoraka egzosoma za daljnje analize proteina i RNA molekula.

Sveukupni rezultati veličine i koncentracije egzosoma te vizualnim očitanjem količine proteina na gelu za SDS-PAGE razvidno je da Qiagenov komplet daje bolji prinos egzosoma od ThermoFisherovog kompleta te da izbor vrste epruvete (K2EDTA ili CellSave Preservative Tubes) ne utječe na rezultat.

*Ovaj je rad sufinancirala Hrvatska zaklada za znanost projektom IP-2019-04-4624.*

## **Biološka varijabilnost anti-Müllerovog hormona, inhibina B i androstendiona u žena reproduktivne dobi**

Kristina Kuhtić<sup>1</sup>, Anita Somborac Bačura<sup>1</sup>, Domagoj Marijančević<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> Endokrinološki laboratorij, Klinika za onkologiju i nuklearnu medicinu, KBC Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

*kristina.kuhtic4444@gmail.com*

Biološka varijabilnost je prirodna fluktuacija analita oko homeostatske točke koja pridonosi nesigurnosti kod interpretacije dobivenih rezultata. Varijacije analita kod određenog pojedinca oko homeostatske točke nazivamo intraindividualna biološka varijabilnosti a variranje homeostatskih točaka pojedinaca u grupi referentnih osoba oko prosječne vrijednosti istog analita nazivamo interindividualna biološka varijabilnost. Specifikacije sastavnica biološke varijabilnosti uvelike se primjenjuju u svakodnevnoj laboratorijskoj praksi. One pridonose definiranju analitičkih ciljeva kvalitete, odabiru odgovarajućeg uzorka za analizu, odgovarajućih jedinica za izražavanje rezultata te najprikladnijeg načina interpretacije nalaza ovisno o indeksima individualnosti za pojedini analit, a mogu pridonijeti i odabiru najpogodnijeg analita za otkrivanje ili praćenje određenog poremećaja. Pregledom literature ustanovljeno je da nema nikakvih spoznaja o biološkoj varijabilnosti inhibina B i androstendiona između ciklusa kod žena reproduktivne dobi, dok su podaci za anti-Müllerov hormon (AMH) uistinu ograničavajući. Cilj ovoga istraživanja bio je odrediti sastavnice biološke varijabilnosti za pretrage AMH, inhibin B i androstendion.

U istraživanju je sudjelovalo 40 žena reproduktivne dobi, u rasponu od 19 do 42 godine. Uzorci su uzeti u tri uzastopna menstruacijska ciklusa, na drugi ili treći dan ciklusa. Utvrđene su vrijednosti ukupne varijabilnosti ( $CV_T$ ), analitičke varijacije ( $CV_A$ ), intraindividualne varijabilnosti ( $CV_I$ ) te interindividualne varijabilnosti ( $CV_G$ ) za svaku pretragu.

Za AMH su dobiveni sljedeći rezultati:  $CV_T$  od 16,0 %,  $CV_A$  od 4,6 %,  $CV_I$  od 15,3 % te  $CV_G$  od 67,7 %. Za androstendion je dobiven  $CV_T$  od 18,1 %,  $CV_A$  od 2,1 %,  $CV_I$  od 17,9 % te  $CV_G$  od 41,2 %. Za inhibin B dobiven je  $CV_T$  od 34,5 %,  $CV_A$  od 26,1 %,  $CV_I$  od 33,1 % te  $CV_G$  od 42,4 %.

Zaključno, za pretrage AMH i androstendion utvrđeno je da biološka varijabilnost više doprinosi promjenjivosti rezultata od analitičke varijacije što treba uzeti u obzir pri tumačenju rezultata. Za pretragu inhibina B ukupna analitička varijacija manja je od ukupne intraindividualne varijabilnosti, no kod nekih ispitanica analitička varijacija je nadilazila intraindividualnu sastavnicu, stoga pretraga nije zadovoljila minimalne specifikacije kvalitete za nepreciznost. Rezultati dobiveni ovim istraživanjem uvelike pomažu u odgovoru na pitanje koliki je opseg varijacije ispitivanih analita te kako ona utječe na interpretaciju nalaza od strane liječnika.

## Vrijednosti kobalamina i holotranskobalamina kod pretilih

Elena Oreški<sup>1</sup>, Dunja Rogić<sup>1,2</sup>, Saša Kralik Oguić<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> KBC Zagreb, Hrvatska

[elena.oreski@gmail.com](mailto:elena.oreski@gmail.com)

Pretilost se smatra jednom od najčešćih bolesti modernog društva s kompleksnom etiologijom koja se razvija zbog neuravnoteženog unosa i potrošnje energije pri čemu je dominacija na strani unosa. Pretilost uzrokuje brojne komplikacije vezane uz razne organske sustave. Vitamin B12 ključan je u eritropoezi, procesu metilacije te je kofaktor raznih enzima. Od 80 do 94 % ukupnog kobalamina vezano je za haptokorin i taj dio čini neaktivnu frakciju, dok je ostatak vezan za aktivni oblik, holotranskobalamin. Deficit vitamina B12 može dovesti do hematoloških abnormalnosti te demijelinizacije središnjeg živčanog sustava, zbog čega je deficit važno uočiti na vrijeme. Koncentracija kobalamina unutar referentnog intervala ne mora značiti adekvatan status vitamina B12 zbog čega on ne predstavlja dobar marker deficita vitamina B12. Holotranskobalamin kao aktivni oblik vitamina B12 predstavlja bolji izbor kao marker deficijencije. Za utvrđivanje deficita vitamina B12 može se koristiti i mjerenje vrijednosti metilmalonske kiseline (MMA) te homocisteina (Hcy) pri čemu povišene vrijednosti MMA i Hcy mogu ukazivati na deficijenciju kobalamina.

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati postoji li statistički značajna razlika u koncentracijama kobalamina i holotranskobalamina kod pretilih ispitanika (ITM > 25 kg/m<sup>2</sup>) u usporedbi s ispitanicima normalne tjelesne mase.

Istraživanje je provedeno u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Zagreb na 195 ispitanika od čega je 103 normalne tjelesne mase, a 92 pretilo. Koncentracije analita određene su kemiluminiscentnom imunokemijskom metodom s mikročesticama (CMIA) na analizatoru Abbott Alinity za kobalamin, a za holotranskobalamin na analizatoru Architect također CMIA metodom. Utvrđivanje statistički značajnih razlika ispitano je Mann-Whitney testom.

Rezultati su pokazali statistički značajno nižu koncentraciju kobalamina kod pretilih ispitanika u usporedbi s ispitanicima normalne tjelesne mase (538 vs. 651 pmol/L,  $p < 0,0001$ ). Medijan izmjerenih koncentracija nije ispod preporučene *cut-off* vrijednosti (150 pmol/L). Iako je kod pretilih ispitanika izmjerena niža koncentracija holotranskobalamina, nije pronađena statistički značajna razlika između skupina (94,7 vs. 99,4 pmol/L,  $p = 0,3253$ ). Ograničavajući faktor ovog istraživanja jest činjenica da kod ispitanika nisu određivane vrijednosti MMA i Hcy koji su bolji pokazatelji statusa vitamina B12 od vrijednosti kobalamina i holotranskobalamina.

## Verifikacija metode za određivanje fekalne elastaze

Ana Rukavina<sup>1</sup>, Indira Imširović<sup>2</sup>, Nevenka Stančin<sup>2</sup>, Anita Somborac Bačura<sup>1</sup>, Lovorka Đerek<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinička bolnica Dubrava, Zagreb, Hrvatska

arukavina227@gmail.com

U laboratorijskoj dijagnostici određivanje fekalne elastaze omogućuje procjenu funkcije gušterače. Dijagnostički služi u procjeni egzokrine funkcije gušterače, praćenju tijekom kroničnog pankreatitisa i cistične fibroze te je upravo zato izuzetno važno da je laboratorijski rezultat prikladan za precizno i točno određivanje koncentracije.

Cilj ove studije ispitati je imunoturbidimetrijski test za fekalnu elastazu (fPELA) (BÜHLMANN Laboratories AG, Schönenbuch, Švicarska) na Beckman Coulter AU 5800 analizatoru (Beckman Coulter, Brea, SAD).

Preciznost metode procijenjena je prema CLSI EP15 A2: User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline—Second Edition. Za procjenu preciznosti testirane su dvije koncentracijske razine komercijalnog kontrolnog materijala (BÜHLMANN fPELA® turbo Control Kit): 150 (120–180) µg/g za kontrolu1 i 400 (320–480) µg/g za kontrolu2. Kontrole su testirane u triplikatu kroz pet dana. Istinitost je izračunata iz odstupanja mjerenja navedenih kontrolnih materijala od ciljne vrijednosti.

Verifikacijskim postupkom dobiveni su podaci za profil preciznosti uključujući ponovljivost od CV 2,40 % i 3,23 % i unutar laboratorijsku preciznost od CV 2,46 % i 3,61 %, za kontrolu1 i kontrolu2. Prosječni BIAS bio je 1,90 %.

Rezultati su pokazali zadovoljavajuću preciznost prema kriterijima proizvođača. S obzirom da u trenutku verifikacije test nije uključen u organiziranu vanjsku kontrolu kvalitete rada, preciznost je glavna karakteristika kojom je definirana metoda. Stoga je provedena verifikacija potvrdila da se BÜHLMANN fPELA test za fekalnu elastazu može koristiti za rutinsko određivanje.

## Priradni lijek modernog doba – antioksidativni i antiproliferativni potencijal mediteranskih biljaka

Matej Barišić<sup>1</sup>, Josip Vidaković<sup>2</sup>, Ema Bellulovich<sup>2</sup>, Blanka Dadić<sup>2</sup>, Paula Horvat<sup>3</sup>, Karla Akrap<sup>2</sup>, Mirko Ruščić<sup>2</sup>, Petra Andrašić<sup>1</sup>, Marko Borović<sup>1</sup>, Matko Tokić<sup>1</sup>, Filip Zovko<sup>1</sup>, Dora Valentina Štimac<sup>1</sup>, Andrea Čeri<sup>1</sup>, Andrea Hulina Tomašković<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Sveučilište u Splitu Prirodoslovno-matematički fakultet, Hrvatska

<sup>3</sup> Fakultet za kemiju in kemijsko tehnologijo, Ljubljana, Slovenija

[matejbarisic123@gmail.com](mailto:matejbarisic123@gmail.com)

Cilj ovog istraživanja bio je odrediti antioksidativni i antiproliferativni potencijal mediteranskih biljaka: *Pinus halepensis*, *Pinus pinea*, *Pinus brutia*, *Chichorium intybus*, *Artemisia annua* i *Anacyclus clavatus*, koje se tradicionalno koriste u medicinske svrhe. Hidrolati su izolirani iz osušenih biljaka mikrovalnom ekstrakcijom. Antioksidativna svojstva hidrolata biljaka određena su koristeći DPPH metodu s troloksom kao referentnim spojem. Antiproliferativna aktivnost hidrolata biljaka ispitivana je na staničnoj liniji HepG2 koristeći MTS metodu. Nakon toga određena je ekspresija apoptotičkog gena BCL2 koristeći lančanu reakciju polimeraze u stvarnom vremenu nakon što su stanice bile izložene dvjema različitim koncentracijama hidrolata (40 % i 20 % (v/v)) kroz 24 sata. Svi hidrolati, uz iznimku hidrolata biljke *Artemisia annua*, pokazali su antioksidativni učinak u usporedbi s troloksom. *Anacyclus clavatus*, *Pinus halepensis* i *Pinus pinea* imali su blagi proliferativni učinak na HepG2, za razliku od *Pinus brutia* čiji je hidrolat bio citotoksičan. Ekspresija BCL2 gena značajno je smanjena nakon tretiranja stanica s 40 %-tnim hidrolatima biljaka *Artemisia annua*, *Anacyclus clavatus*, *Pinus brutia* i *Pinus halepensis*, dok je hidrolat biljke *Pinus pinea* smanjio ekspresiju BCL2 gena kod tretiranih stanica u obje testirane koncentracije. Snižena koncentracija BCL2 gena može značiti da hidrolati imaju proapoptotičku aktivnost. Može se zaključiti da se neke od ispitanih biljaka mogu koristiti kao potencijalni antioksidativni i antitumorski lijekovi, ali njihov učinak na ljudsko zdravlje trebao bi se dodatno istražiti u budućnosti.

Ovaj rad je izvorno prezentiran na HDBMB22 Kongresu Hrvatskog društva za biokemiju i molekularnu biologiju koji je održan od 28. 9. do 1. 10. 2022. u Brelima, Hrvatska.

## Genotipizacija JAK2 V617F u uzorcima cirkulirajuće tumorske DNA dobivenim tekućom biopsijom pacijenata s kolorektalnim karcinomom

Andrea Čeri<sup>1</sup>, Andrea Hulina Tomašković<sup>1</sup>, Anita Somborac Bačura<sup>1</sup>, Ivana Čelap<sup>2</sup>, Neven Ljubičić<sup>3,4,5</sup>, Neven Baršić<sup>3,4</sup>, Donatella Verbanac<sup>1</sup>, Karmela Barišić<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Zavod za kliničku kemiju, KBC Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup> Zavod za internu medicinu, Odjel za gastroenterologiju i hepatologiju, KBC Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

<sup>4</sup> Zavod za internu medicinu, Sveučilište u Zagrebu Medicinski Fakultet, Hrvatska

<sup>5</sup> Zavod za internu medicinu, Sveučilište u Zagrebu Stomatološki fakultet, Hrvatska

*aceri@pharma.hr*

Tekuća biopsija omogućava nov neinvazivan pristup u molekularnom profiliranju tumora uključujući kolorektalni karcinom (CRC). Cirkulirajuća tumorska DNA (ctDNA) jedan je od obećavajućih biomarkera za probir, praćenje odgovora na terapiju, procjenu progresije i ishoda bolesti. Kako je rukovanje uzorcima tekuće biopsije zahtjevno, a nije standardizirano, prikazana je optimizacija metode za genotipizaciju JAK2 V617F u uzorcima ctDNA dobivenih tekućom biopsijom pacijenata s CRC-om.

U sklopu projekta HRZZ IP-2019-04-4624 prikupljena je periferna venska krv u epruvete CellSave (Menarini Silicon Biosystems) pri +4 °C od 25 pacijenata s CRC te je isti dan odvojena plazma i pohranjena na -20 °C. ctDNA je izdvojena u duplikatu iz 1–1,5 mL plazme pomoću kompleta QIAamp ccfDNA/RNA Kit (Qiagen). Koncentracije ctDNA određene su fluorimetrijski pomoću uređaja DS-11 FX (DeNovix) i reagensa Qubit dsDNA HS Assay (Thermo Fisher Scientific). Genotipizacija JAK2 V617F u uzorcima ctDNA provedena je na uređaju 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems) metodom alelne diskriminacije nakon lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu (qPCR) uz komplet početnica i sonde TaqMan Digital PCR Liquid Biopsy Assay (Applied Biosystems) i uz dva isprobana reagensa za umnažanje TaqMan Genotyping PCR Master Mix i TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems). Kao kontrolni uzorci korišteni su uzorci genomske DNA iz leukocita genotipizirani akreditiranom metodom.

Utvrđene su koncentracije ctDNA u rasponu od 0,002 do 0,993 ng/μL. Početno ispitivanje umnažanja i uspješnosti genotipizacije dalo je zadovoljavajuće rezultate za kontrolne uzorke; vidljivo je umnažanje do 30. ciklusa, a očekivana diskriminacija alela nakon 40 ciklusa umnažanja bez obzira na korišteni reagens. Za uzorke ctDNA nije dobiveno uspješno umnažanje pa je ono nastavljeno tijekom još 20 ciklusa. Nakon 60 ciklusa umnažanja uspješno je očitani rezultat genotipizacije u uzorcima ctDNA umnoženih pomoću TaqMan Universal PCR Master Mix-a, dok reagens TaqMan Genotyping PCR Master Mix i dalje nije dao zadovoljavajuće umnažanje.

Opisanom metodom uspješno je provedena genotipizacija JAK2 V617F za 24 od 25 prikupljenih uzoraka ctDNA iz periferne krvi pacijenata s CRC-om, iako prisutnost mutacije nije utvrđena niti u jednom uzorku. Dobiveni rezultati usporedit će se s rezultatima genotipizacije DNA izdvojene iz tumorskog tkiva i tako pridonijeti daljnjem profiliranju CRC-a korištenjem tekuće biopsije.

PP22

## **Kvantitativna analiza fekalnog kalprotektina novom kemiluminiscentnom metodom na analizatoru Bio-Flash (Inova Diagnostics)**

Anamarija Beljan<sup>1</sup>, Andrea Tešija Kuna<sup>2</sup>, Donatella Verbanac<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> KBC Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

*beljan.anamarija@gmail.com*

Fekalni kalprotektin prepoznat je kao specifičan i vrlo osjetljiv biomarker upale crijevne sluznice koji omogućuje razlikovanje upalnih bolesti crijeva od sindroma iritabilnog crijeva, dviju skupina bolesti različite etiologije, ali preklapajućih simptoma. Dijagnostički testovi pojedinih proizvođača temeljeni su na različitim imunokemijskim metodama te još uvijek ne postoji standardiziran postupak ekstrakcije uzorka, pohrane i analize što dovodi do velike varijacije u dobivenim rezultatima i otežava njihovu međusobnu usporedbu.

U ovome radu opisano je provođenje postupka verifikacije kvantitativne kemiluminiscentne metode QUANTA Flash® Calprotectin (INOVA Diagnostics, San Diego, CA, USA) za određivanje koncentracije fekalnog kalprotektina u uzorku stolice na analizatoru Bio-Flash (Biokit S.A., Španjolska) i usporedbe s postojećim dijagnostičkim testom u rutinskoj primjeni Bühlmann fCAL® turbo (Bühlmann, Schönenbuch, Switzerland) na analizatoru Abbott Architect c8000 (Abbott S.r.l., Roma, Italy) u KBC-u Sestre Milosrdnice. Mjerenja su vršena na 59 ostalih uzoraka stolica pacijenata za koje je zatraženo određivanje fekalnog kalprotektina. Nepreciznost ispitivane metode zadovoljila je zadane kriterije što ju čini prihvatljivom za kliničku primjenu. Unatoč statistički značajnom odstupanju vrijednosti dobivenih ispitivanom i postojećom metodom, podudaranje u kategorizaciji rezultata u dvije interpretativne kategorije pokazalo se snažnim. Zaključeno je da se ispitivana metoda može koristiti u rutinskom radu, ali je preporučljivo za istog pacijenta koncentraciju fekalnog kalprotektina uvijek mjeriti istim testom kako bi rezultati bili međusobno usporedivi jer rezultati dobiveni različitim imunokemijskim metodama nisu međusobno usporedivi i zamjenjivi.

## Usporedno ispitivanje antioksidacijskog učinka odabranih biljnih polifenola i njihove sposobnosti inhibicije acetilkolinesteraze i $\alpha$ -glukozidaze

Sanda Vladimir-Knežević<sup>1</sup>, Maja Bival Štefan<sup>1</sup>, Mateja Mervić<sup>1</sup>, Katarina Rajkovača<sup>1</sup>, Tea Petković<sup>1</sup>, Marta Mandić<sup>2</sup>, Biljana Blažeković<sup>1</sup>, Verica Dragović-Uzelac<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Zavod za farmakognoziju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

<sup>2</sup> Sveučilište u Mostaru, Farmaceutski fakultet, Bosna i Hercegovina

<sup>3</sup> Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnoški fakultet, Hrvatska

*mmervic@pharma.hr*

Polifenoli su široko rasprostranjeni biljni sekundarni metaboliti s velikim biomedicinskim potencijalom. U ovome istraživanju spektrofotometrijskim metodama usporedno su ispitana antioksidacijska svojstva trideset odabranih polifenola na temelju njihove sposobnosti hvatanja slobodnih radikala DPPH i NO te redukcije željeza(III), kao i njihova sposobnost inhibicije enzima acetilkolinesteraze i  $\alpha$ -glukozidaze, s naglaskom na povezanost strukturnih obilježja polifenolnih spojeva i bioloških učinaka [1]. Većina ispitanih flavonoida, fenolnih kiselina, flavan-3-ola i stilbena posjedovala je značajnu sposobnost hvatanja slobodnih radikala i redukcije željeza(III). Galna kiselina je pokazala najveću sposobnost hvatanja DPPH radikala ( $IC_{50} = 2,09 \mu\text{g/mL}$ ) i NO radikala ( $IC_{50} = 12,36 \mu\text{g/mL}$ ) te redukcije željeza ( $IC_{50} = 1,21 \mu\text{g/mL}$ ). Resveratrol je najbolje inhibirao enzim  $\alpha$ -glukozidazu ( $IC_{50} < 12,5 \mu\text{g/mL}$ ), a miricetin acetilkolinesterazu ( $IC_{50} = 147,77 \mu\text{g/mL}$ ). Rezultati su istaknuli polifenole izraženih antioksidacijskih svojstava i sposobnosti inhibicije enzima te ukazali na njihov potencijal za daljnja istraživanja te primjenu u prevenciji i liječenju kroničnih bolesti povezanih sa starenjem.

[1] M. Mervić *et al.*, Comparative antioxidant, anti-acetylcholinesterase and anti- $\alpha$ -glucosidase activities of mediterranean *Salvia* species. *Plants* **11** (2022) 625.





## SPONZORSKA PRIOPĆENJA



## **Uloga magistara farmacije u svakom koraku životnog ciklusa farmaceutskog proizvoda**

Ana Prkačin

*Medical Intertrade, Ljekarne Joukhadar, Yasenka d.o.o.*

*ana.prkacin@yasenka.hr*

Znanstvena otkrića u području otkrivanja načina liječenja, ali i prevencije i očuvanja zdravlja, svakodnevno pomiču granice kvalitete života svakog pojedinca.

Kako bi od samog znanstvenog otkrića došli do farmaceutskog proizvoda i pacijenta kojemu je namijenjen potrebno je prijeći dug put. U svaki korak potrebno je ugraditi znanje, stručnost i profesionalnost kako bi se osigurala, ali i očuvala vrhunska kvaliteta i djelotvornost proizvoda.

Za savladavanje svakog od tih koraka neophodni su magistri i magistre farmacije.

Vođen misijom učiniti lijekove dostupnima u svim krajevima osnivač Medical Intertradea, prve privatne veletrgovalnice na području Hrvatske, magistar farmacije Radwan Joukhadar uz podršku svoje supruge doktorice stomatologije Jasenke Joukhadar započinje farmaceutsku priču koja već 32 godine promiče, ali i podiže na viši nivo pravila struke.

Priča je to koja magistrima farmacije omogućuje rad i primjenu svega naučenog u kreiranju novih proizvoda u tvornici lijekova, dodatka prehrani i kozmetike – Yasenka d.o.o. koja je, iako najmlađa tvrtka grupacije Joukhadar, hrabro zauzela poziciju prvog koraka realizacije od znanstvenog otkrića do proizvoda usmjerenog na pacijenta.

Učiniti proizvode dostupnima u što kraćem roku zadatak je magistara farmacije u veletrgovalnici Medical Intertrade. Osigurati poštivanje svih zahtjeva farmaceutske kvalitete, savladati nestašice, interventno uvesti lijek i biti tu na zahtjev svake zdravstvene ustanove izazovi su u ovom, ponekad nevidljivom dijelu posla magistara farmacije.

Kako bi proizvod završio kod pacijenta kojemu je najpotrebniji, rad magistara farmacije u ljekarnama, kao najdostupnijih zdravstvenih djelatnika, od nezamjenjive je važnosti.

Znanje, savjet, briga i dostupnost svakom pacijentu radni je moto ljekarni Joukhadar koje se nalaze diljem Hrvatske.

Primjenom znanja i zajedničkom suradnjom u svakom koraku svog djelovanja magistre i magistri farmacije osiguravaju konačno priznanje svakom znanstvenom otkriću – njegov utjecaj na povećanje kvalitete života pacijenata koji nam svakodnevno poklanjaju svoje povjerenje.

RADIONICE

## **Predstavljanje europskog projekta „Pharmaceutical Open Innovation Test Bed for Enabling Nano-pharmaceutical Innovative Products – PHOENIX“**

Ivana Vinković Vrček<sup>1</sup>, Ivan Pavičić<sup>1</sup>, Maja Beus<sup>1</sup>, Nikolina Kalčec<sup>1</sup>, Nikolina Peranić<sup>1</sup>, Krunoslav Ilić<sup>1</sup>, Lucija Božičević<sup>1</sup>, Petra Turčić<sup>2</sup>, Ivan Mamić<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Istraživačka skupina NanoBioFaces, Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada

<sup>2</sup> Zavod za farmakologiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

*ivinkovic@imi.hr*

PHOENIX, projekt financiran iz programa Obzor 2020, kao krajnji cilj ima ponuditi tržištu ujedinjenu mrežu tvrtki i laboratorija koji će svojom ekspertizom u istraživanju, razvoju, proizvodnji te regulatornim aktivnostima u području nanomedicine korisnicima olakšati razvoj formulacija nanolijekova od laboratorijskih do pretkliničkih i proizvodnih procesa.

12 partnerskih institucija iz 6 europskih država kroz 4 godine trajanja projekta nadogradit će svoje postojeće laboratorije i proizvodne pogone, izgraditi nove, te omogućiti usluge putem tzv. „*single-entry point*“ pristupa. Usluge će pokrivati dizajn, razvoj, pretklinička testiranja, *scale-up* razvoja, GMP proizvodnje te regulatornu podršku za sve faze razvoja nanolijekova. Istraživačka grupa NanoBioFaces s Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada, čija je voditeljica dr. sc. Ivana Vinković Vrček, u projektu Phoenix vodi Radni paket „Regulatorna podrška“, a sudjeluje i u razvoju, te primjeni *in vivo* i *in vitro* metoda za procjenu sigurnosti i učinkovitosti nanolijekova.

Tijekom radionice, dr. sc. Ivana Vinković Vrček će sa svojim suradnicima detaljnije predstaviti sam projekt, aktivnosti i metode koje se razvijaju i koriste u sklopu istraživačkog rada grupe.

RD2

## Osnove kvantno-kemijskih izračuna

Gabrijel Zubčić<sup>1</sup>, Valerije Vrček<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zavod za analitičku kemiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

<sup>2</sup> Zavod za organsku kemiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

[vrcek@pharma.hr](mailto:vrcek@pharma.hr)

U ovoj radionici bit će obrađen *work-flow* za izračun fizikalno-kemijskih svojstava organskih reakcija. Radionica će imati sljedeće dijelove:

- 1) upoznavanje s dostupnim programskim paketima instaliranim na klasteru [sw.pharma.hr](http://sw.pharma.hr),
- 2) upoznavanje s programima za stvaranje *inputa* i obradu podataka,
- 3) definiranje kemijskog problema,
- 4) razvijanje strategije za dobivanje podataka koji pružaju zadovoljavajući odgovor na zadani kemijski problem,
- 5) priprema i pokretanje računa na klasteru [sw.pharma.hr](http://sw.pharma.hr), odabir odgovarajućih resursa (*cost/benefit, queuing* sustav),
- 6) obrada podataka, uz analizu čestih grešaka, te poboljšanje procedure (*tips and tricks*) i
- 7) analiza podataka i prezentacija podataka.

Sudionici radionice bit će podijeljeni u grupe i grupno rješavati zadani zadatak uz pomoć voditelja i suradnika na radionici. Rezultate izračuna će se prezentirati na kraju radionice.

## Dobra praksa u izradi grafova

Zvonimir Mlinarić<sup>1</sup>, Hrvoje Rimac<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zavod za analitiku i kontrolu lijekova, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

<sup>2</sup> Zavod za farmaceutsku kemiju, Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Hrvatska

*zmlinaric@pharma.hr*

Većina eksperimentalno dobivenih podataka, kao i produkti njihove statističke analize izražavaju se različitim vrstama grafova s ciljem olakšavanja njihovog izlaganja te donošenja zaključaka. Postoji više vrsta podataka, kao i njihovih međusobnih odnosa. S obzirom na vrstu podataka te ono što se želi prezentirati ili zaključiti, treba se odabrati prikladan graf koji svojim specifičnostima najbolje prikazuje te podatke. Međutim, prilikom izrade grafova potrebno je voditi se nekim općim principima kao što su logično slaganje podataka, jednostavna usporedba vrijednosti, korištenje ikona za dodatno pojašnjavanje te naglašavanje važnih ili zanimljivih informacija. Dodatno, treba izbjegavati korištenje nepotrebnih 3D grafova, boja visokog kontrasta kao i veliki broj boja, nepotrebnih stilizacija teksta te nepotrebnih dodataka i animacija grafova. Također, prezentacija podataka na grafovima ne bi smjela biti zavaravajuća, odnosno ukazivati na određeni trend ili zaključak tamo gdje ga nema ili nije statistički značajan, kao i obrnuto – sakrivati ga tamo gdje postoji. S tim na umu, treba koristiti prikladnu skalu na svim koordinatnim osima grafa. U ovom izlaganju bit će prikazane najčešće korištene vrste grafova te specifičnosti i savjeti prilikom njihove izrade. Kroz brojne primjere bit će pokazano kako određeni skup podataka optimalno prikazati grafovima te što treba izbjegavati. Konačno, bit će prikazani i grafovi koji različitim namjernim ili nenamjernim pogreškama navode na pogrešan zaključak.



# Lecitone

**Preporučujemo  
kod intenzivnih  
intelektualnih  
napora.**

**FOSFOLIPIDI**

Biljnog porijekla



**VITAMINI**

**B skupina**

B1, B2, B3, B6, B8, B12  
doprinosu normalnom  
funkcioniranju živčanog  
sustava

**B9**

doprinosi smanjenju  
umora i iscrpljenosti

**B5**

doprinosi normalnoj  
sintezi i metabolizmu  
nekih neurotransmitera

**C**

doprinosi normalnom  
funkcioniranju živčanog  
sustava i smanjuje umor

**E**

doprinosi zaštiti  
stanica od  
oksidativnog  
stresa

Lecitone za mlade dodatak  
prehrani potražite u ljekarnama.

[moji-dodaciprehrani.hr](http://moji-dodaciprehrani.hr)

Dodatak prehrani nije nadomjestak ili  
zamjena uravnoteženoj prehrani. Važno je  
pridržavati se uravnoteženog i raznovrsnog  
načina prehrane i zdravog načina života.

**Nutrisanté**  
Laboratoires



**medical intertrade**

Dodatno se upoznajte s našim poslovanjem na [www.pliva.hr](http://www.pliva.hr) a pozivamo vas da se povežete s nama i putem društvenih mreža.



## Jeste li se ikada zapitali kako bi bilo raditi u PLIVI?

PLIVA veliku pažnju posvećuje suradnji s akademskom zajednicom te aktivno sudjelujemo u brojnim studentskim projektima. Prve korake suradnje s PLIVOM zainteresirani studenti mogu ostvariti putem stručne prakse, a kroz dugu tradiciju stipendiranja značajna sredstva usmjeravamo u stipendiranje vrhunskih studenata. Uspješna suradnja sa studentima motivira i usmjerava naša daljnja nastojanja u pridonnošenju kvalitetnijem studentskom životu i osiguravanju pozitivnog imidža PLIVE među zajednicama studenata.

# Čitavo stoljeće posvećeni brizi za zdravlje.

[pliva.hr](http://pliva.hr)



# MAKULIN. Očigledno dobar.



# LEKADOL<sup>®</sup>

paracetamol

# ČIM OSJETITE TEMPERATURU ILI BOL, UZMITE LEKADOL!



tablete za oralnu primjenu / sadrži paracetamol

Prije upotrebe pažljivo pročitajte uputu o lijeku,  
a o rizicima i nuspojavama upitajte svog liječnika ili ljekarnika.

**SANDOZ** A Novartis  
Division

Sandoz d.o.o., Maksimirska 120, 10000 Zagreb,  
tel: 01 2353 111, [www.sandoz.hr](http://www.sandoz.hr)

# PROBIOTSKE BAKTERIJE ZA DOBAR OSJEĆAJ

Neka trbuh misli samo na leptiriće.



Snažan polibiotik koji uključuje vrhunske sojeve klinički ispitanoj učinka u očuvanju zdravlja imunološkog i probavnog sustava; kod zatvora, probavnih smetnji, infekcija gornjih dišnih puteva te stresa.

**7** milijardi  
dobrih\*  
bakterija



**15**  
premium  
sojeva

**ZA  
SVAKI  
DAN**

Za svakodnevno povećanje broja i raznolikosti dobrih\* bakterija u probavnom sustavu.

Samo za zdravstvene djelatnike

\*nepatogene bakterije prirodno prisutne u probavnom sustavu

**BIORELA®**  
**Total**

**7**  
MILIJARDI  
CFU

**PREMIUM KOMBINACIJA 15 SOJEVA**

**JEDNA KAPSULA DNEVNO**

**60 DNEVNIH DOZA**

DODATAK PREHRANI

Za svakodnevno  
povećanje broja  
i raznolikosti  
dobrih\* bakterija u  
probavnom sustavu

**PUNA  
SNAGA  
U ROKU  
VALJANOSTI**

**15**  
SOJEVA

**60 BILJNIH KAPSULA**

[www.biorela.hr](http://www.biorela.hr)

# Popis autora

A	
Akrap, Karla	44
Amidžić Klarić, Daniela	38
Andrašić, Petra	44
B	
Babić Perhoč, Ana	12
Balduini, Walter	21
Barišić, Karmela	45
Barišić, Matej	44
Baršić, Neven	45
Beljan, Anamarija	46
Bellulovich, Ema	44
Beus, Maja	53
Bilandžija Kuš, Iva	16
Bival Štefan, Maja	47
Blažeković, Biljana	47
Borović, Marko	44
Božičević, Lucija	53
Bulimbašić, Stela	22
C	
Carloni, Silvia	21
Č	
Čeri, Andrea	44, 45
Ć	
Ćelap, Ivana	45
Ćurtović, Ida	15
D	
Dadić, Blanka	44
Dobrić, Marta	21
Domijan, Ana-Marija	25, 26, 27
Dragović-Uzelac, Verica	47
Đ	
Đerek, Lovorka	43
F	
Frkanec, Ruža	19
Fumić, Ksenija	16
G	
Gabričević, Mario	32, 33
Gagić, Sanja	25, 26
H	
Habljak, Lucija	26
Hafner, Anita	20, 35
Held, Jana	17
Homolak, Jan	12
Horvat, Paula	44
Hulina Tomašković, Andrea	44, 45

I	
Ilić, Krunoslav	53
Imširović, Indira	43
J	
Jakobušić Brala, Cvijeta	20
Jakšić, Daniela	18, 37
Jasprica, Ivona	11
Jaušić, Matej	34
Javorić, Kristina	39
Jelaković, Mislav	38
Jeličić, Mario-Livio	38
Jovanović, Mihaela	19
Jurić, Magdalena	40
Jurišić Dukovski, Bisera	34, 36
K	
Kalogjera, Livije	20
Kalčec, Nikolina	53
Kerep, Robert	32, 33
Knezović, Ana	12
Kovačić, Jelena	38
Kozić, Hrvoje	18
Kralik Oguić, Saša	42
Kralj, Marijeta	31
Kraljević, Sven	27
Krznarić, Željko	38
Kuhtić, Kristina	41
Kurajica, Stanislav	38
L	
Lanyon-Hogg, Thomas	30
Lovrić, Jasmina	34, 36
Lj	
Ljubica, Josip	34, 36, 40
Ljubičić, Neven	45
M	
Mamić, Ivan	53
Mandić, Marta	47
Mangoni, Maria Luisa	15
Marcocci, Maria Elena	15
Marijančević, Domagoj	41
Marinović, Marina	17, 29
Mervić, Mateja	47
Mioč, Marija	31
Mlinarić, Zvonimir	39, 55
Mornar, Ana	38

Mutavdžić Pavlović, Dragana	39
Mužina, Katarina	38
N	
Nencioni, Lucia	15
Nigović, Biljana	38
Nižić Nodilo, Laura	20, 35
Nucak, Antonija	28
O	
Oreški, Elena	42
Osmanović Barilar, Jelena	12
P	
Palamara, Anna Teresa	15
Palavra, Ana	32
Pavić, Kristina	12, 31
Pavičić, Ivan	53
Pepić, Ivan	35
Peranić, Nikolina	53
Perkušić, Mirna	20, 35
Petković, Tea	47
Planinić, Kristina	33
Platužić, Dina	33
Poje, Goran	29, 31
Polić, Monika	16
Prkačin, Ana	51
Pudić, Filip	37
Pupačić, Antonija	22
R	
Rajić, Zrinka	17, 29, 31
Rajkovača, Katarina	47
Rešetar, Josip	29
Rimac, Hrvoje	28, 55
Rogga, Vanessa V.	30
Rogina, Tin	35
Rogić, Dunja	42
Rukavina, Ana	43
Ruščić, Mirko	44
S	
Sertić, Miranda	39
Somborac Bačura, Anita	40, 41, 43, 45
Spajić, Matej	22
Stančin, Nevenka	43
Š	
Šakić, Davor	19
Šalković-Petrišić, Melita	12
Šegvić Klarić, Maja	15
Šiniković, Miriam	26

Škaričić, Ana	16
Šmehil, Ana	18
Štampar, Martina	25
Štimac, Dora Valentina	44
T	
Tešija Kuna, Andrea	46
Tokić, Matko	44
Topalović, Tamara	20
Turk, Nikša	38
Turković, Lu	39
Turčić, Petra	53
Tus, Veronika Ria	35
V	
Verbanac, Donatella	45, 46
Viđaković, Josip	44
Vinković Vrček, Ivana	53
Virag, Davor	12
Vladimir-Knežević, Sanda	47
Vrček, Valerije	54
Vuić, Juraj	39
Z	
Zadravec, Dijana	20
Zovko, Filip	44
Zubčić, Gabrijel	54
Ž	
Žegura, Bojana	25







