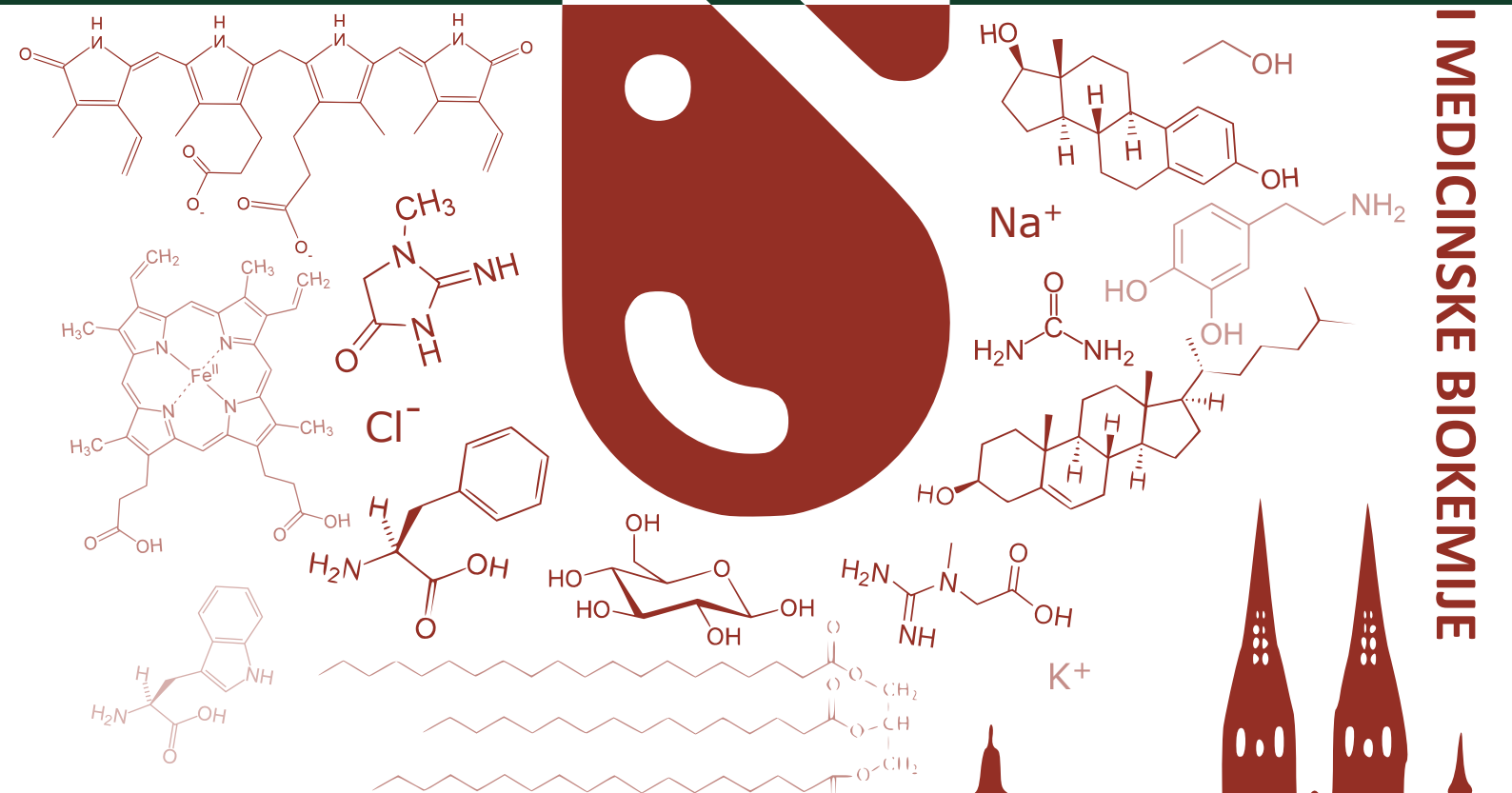


# Knjiga sažetaka





6. SIMPOZIJ STUDENATA  
FARMACIJE I MEDICINSKE BIOKEMIJE



# Knjiga sažetaka

Zagreb, 27. svibnja 2017.

**Izdavač / Publisher**

Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Ante Kovačića 1, 10 000 Zagreb, Hrvatska  
[www.pharma.unizg.hr](http://www.pharma.unizg.hr)

**Urednici / Editors**

Mirza Bojić  
Miranda Sertić

**Tehnički urednici / Technical editors**

Domagoj Kifer  
Kristina Pavić  
Bruno Rački

**Tisak / Printed by**

Zinam d.o.o., Zagreb

**CIP**

CIP zapis je dostupan u računalnome katalogu Nacionalne i sveučilišne knjižnice u Zagrebu pod brojem 000964550.

**ISBN**

978-953-6256-88-4

Zagreb, 2017.

## Organizator

Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu



## Suorganizatori

Udruga studenata farmacije i medicinske  
biokemije



**UDRUGA STUDENATA  
FARMACIJE  
I MEDICINSKE BIOKEMIJE  
HRVATSKE**

Studentski zbor FBF-a



Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko – biokemijski fakultet  
Studentski zbor

## Glavni pokrovitelji

Beckman Coulter



Hrvatska zaklada za znanost



## Pokrovitelji

Abbvie

abbvie

AbelaPharm



Croatia Airlines



JGL



Kraš



Subway



### **Organizacijski odbor**

doc. dr. sc. Mirza Bojić, predsjednik

dr. sc. Davor Šakić, tajnik

dr. sc. Toma Keser

dr. sc. Mirela Matić

dr. sc. Anita Somborac Bačura

dr. sc. Ana Karković Marković

Marina Juretić, mag. pharm.

Domagoj Kifer, mag. pharm.

Kristina Pavić, mag. pharm.

Marko Parlov, Studentski zbor

Bruno Rački, Udruga studenata farmacije i medicinske biokemije Hrvatske (CPSA)

Josipa Bukić i Robert Jerinić, predstavnici Sveučilišta u Splitu

Ivona Tomić i Martin Kondža, predstavnici Sveučilišta u Mostaru

### **Znanstveni odbor**

doc. dr. sc. Miranda Sertić, predsjednica

doc. dr. sc. Ivan Pepić

doc. dr. sc. Ivana Perković

doc. dr. sc. Biljana Blažeković

doc. dr. sc. Marija Grdić Rajković

doc. dr. sc. Maja Ortner Hadžiabdić

doc. dr. sc. Sandra Šupraha

doc. dr. sc. Tin Weitner

doc. dr. sc. Petra Turčić

### **Počasni znanstveni odbor**

prof. dr. sc. Željko Maleš, dekan

izv. prof. dr. sc. Jasmina Lovrić, prodekanica za znanost

izv. prof. dr. sc. Ana Mornar Turk, prodekanica za nastavu

# Sadržaj

Uvodna riječ predsjednika simpozija.....	6
Uvodna riječ dekana FBF-a.....	7
Plenarno predavanje .....	12
Predavanje pod pokroviteljstvom.....	13
Predavanje HALMED-a .....	14
Usmena priopćenja .....	15
Posterska priopćenja.....	24
Radionice.....	68

# Uvodna riječ predsjednika simpozija

Drage studentice i studenti, kolegice i kolege,

Iznimno nam je zadovoljstvo što ste odlučili sudjelovati na 6. Simpoziju studenata farmacije i medicinske biokemije (FARMEBS 2017) u organizaciji Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, a u suradnji sa Studentskim zborom i Hrvatskom udrugom studenata farmacije i medicinske biokemije. Ovaj, sada već tradicionalni skup, služi kao platforma za razmjenu iskustava, znanja i rezultata koje su studenti stekli sudjelujući u znanstveno-istraživačkim projektima Fakulteta te u izradi svojih doktorskih, rektorskih i diplomskih radova.

Ovogodišnji FARMEBS posvećen je svim aspektima istraživanja i razvoja novih lijekova što se ocrtava i u programu dviju sekcija *Od molekule do lijeka* te *Život lijeka nakon registracije*. Iznimna nam je čast da ćemo ove godine ugostiti prof. dr. sc. F. P. Guengericha sa Sveučilišta Vanderbilt, Nashville, TN, SAD kao plenarnog predavača. Profesor Guengerich je pionir u istraživanju citokroma P450, enzima bez kojih je metabolizam lijekova nezamisliv.

FARMEBS 2017. je po mnogočemu prvi. Kako bismo osigurali istinski uvid u uključenost studenata u znanstveni rad na Fakultetu, organizirali smo postersku sekciju s mogućnosti predstavljanja svih rezultata rada tijekom 2016. i 2017. godine neovisno jesu li već objavljeni ili su po prvi put predstavljeni.

Ove godine financiranje FARMEBSa je u potpunosti neovisno. Na FARMEBSu redovito sudjeluje 180 studenata (maksimalni broj), iako je zanimanje uvijek veće. Da bismo osigurali besplatno sudjelovanje za sve studente uloga pokrovitelja je neizmijerna neovisno o kojem obliku pokroviteljstva je riječ. Zahvaljujemo se svima.

FARMEBSu su se ove godine pridružili i studenti studija farmacije Sveučilišta u Splitu i Sveučilišta u Mostaru. Izuzetna nam je radost da su se bez imalo oklijevanja i s velikom voljom odazvali pozivu za sudjelovanje, predstavljajući rezultate svojih znanstvenih i stručnih radova. Dok studijskim programima predstavljamo zdravu konkurenciju, znanstveni uspjesi jednih motiviraju druge na rad, a sve na dobrobit struke.

Akademski postupati znači dijeliti znanje i uključivati one željne znanja. U tom duhu želimo da vam protekne FARMEBS 2017.



doc. dr. sc. Miranda Sertić

Znanstveni odbor



doc. dr. sc. Mirza Bojić

Organizacijski odbor



## Uvodna riječ dekana FBF-a

Poštovane kolegice i kolege, dragi studenti,

Čast mi je i iznimno zadovoljstvo pozdraviti vas u ime nastavnika, suradnika, studenata i ostalih zaposlenika Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i u svoje osobno ime u prigodi otvaranja 6. Simpozija studenata farmacije i medicinske biokemije (FARMEBS). Posebno bih pozdravio našeg dragog gosta, plenarnog predavača prof. dr. sc. Fredericka Guengericha (Sveučilište Vanderbilt, Nashville, Tennessee) s kojim doc. dr. sc. Bojić ima dugogodišnju suradnju.



Ovogodišnji FARMEBS posvećen je lijeku od njegovog otkrića do registracije i života na tržištu te njegovoj primjeni kako u terapiji tako i dijagnostici. Među nizom noviteta FARMEBSAa 2017 je i sudjelovanje studenata farmacije, predstavnika Sveučilišta u Splitu i Mostaru kojima želim dobrodošlicu na našoj ustanovi. Po prvi puta program FARMEBSa je obogaćen i posterskim priopćenjima s kojima će se postići uvid na čemu se radilo protekle godine kako na našem Sveučilištu tako i na nama srodnim fakultetima. Vjerujem da će program simpozija (predavanja i posterska izlaganja) biti poticajan u znanstvenom i stručnom smislu.

Na kraju, izrazio bih iskrene čestitke Organizacijskom i Znanstvenom odboru, posebno predsjedniku organizacijskog odbora doc. dr. sc. Mirzi Bojiću i predsjednici znanstvenog odbora doc. dr. sc. Mirandi Sertić te svima zaželio uspješan rad, plodne rasprave i ugodno druženje.



Ž. Maleš

prof. dr. sc. Željko Maleš

Dekan FBF-a

## Program

10:00 – 12:00 | Registracija sudionika

### **Predsimpozijske paralelne radionice**

---

10:15 – 11:45 | Bruno Rački  
*Prezentacijske vještine*

10:30 – 11:30 | Maja Salajster  
*Solgar savjetovanje i mjerenje vitaminsko-mineralnog statusa*

12:00 – 12:15 | Otvaranje simpozija

### **Plenarno predavanje**

---

12:15 – 13:15 | Frederick P. Guengerich  
*Importance of Cytochrome P450 Enzymes in Drug Metabolism*



### **1. sekcija: „Od molekule do lijeka“**



voditelji: Ivana Perković i Toma Keser

---

13:15 – 13:30 | Maja Beus, Zvonimir Mlinarić  
*Dizajn i sinteza sahakina, potencijalnih antimalarika dvojnog djelovanja*

13:30 – 13:45 | Severina Jajčević  
*Mukopenetrativne nanočestice cefiksima*

13:45 – 14:00 | Robert Jerinić  
*Djelovanje ekstrakta lista divlje masline i oleuropeina na stupanj apoptoze na stanicama glioblastoma A1235*

14:00 – 14:15 | Ivan Sušanj, Matija Salopek  
*Toksičnost i mehanizmi toksičnosti kore obične krkavine (*Frangula alnus* Mill.)*

14:15 – 15:00	Ručak
15:00 – 15:45	Posterska sekcija
15:45 – 16:15	Predavanje pod pokroviteljstvom: Beckman Coulter
16:15 – 16:45	Predavanje Agencije za lijekove i medicinske proizvode (HALMED)

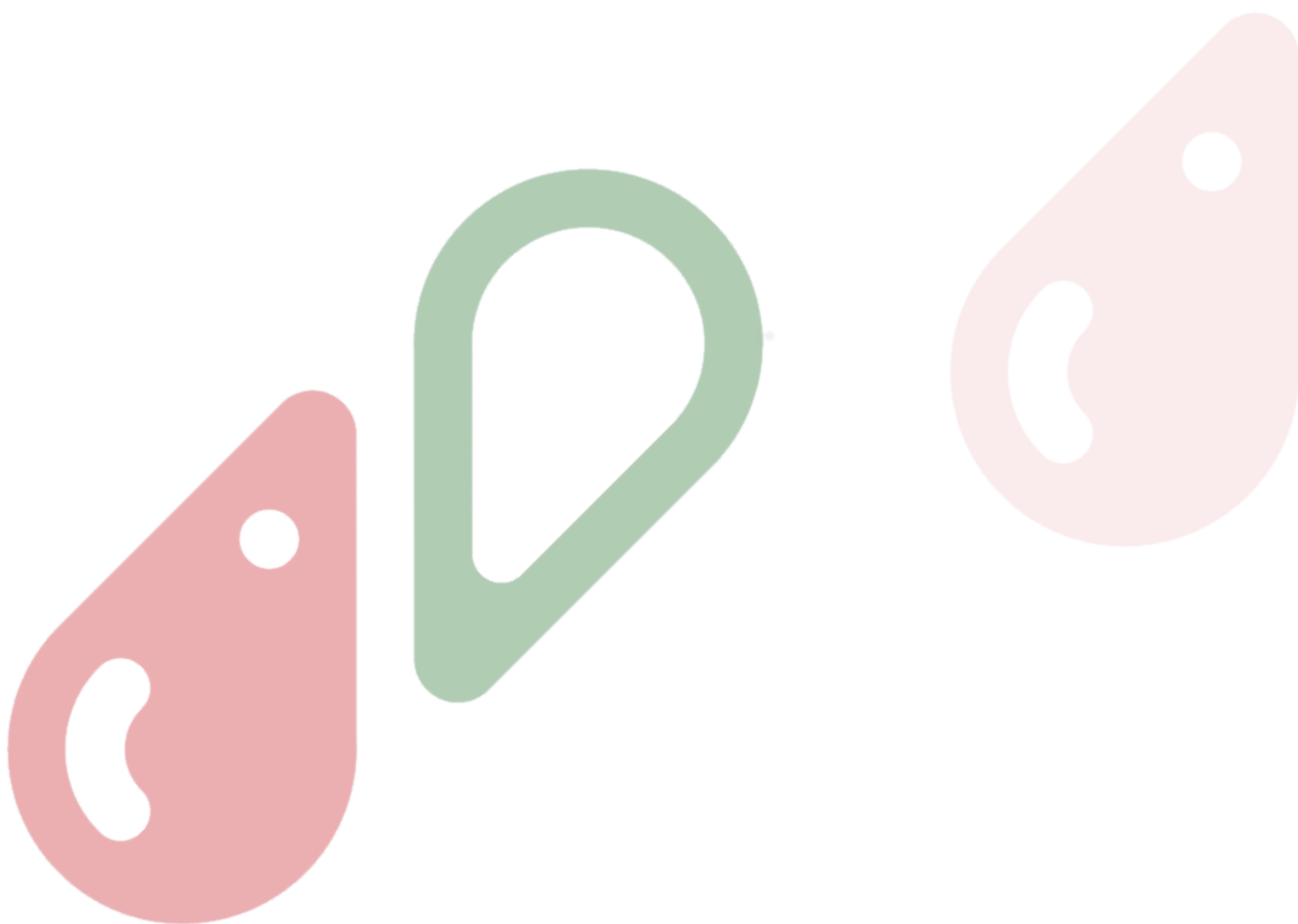


## 2. sekcija „Život lijeka nakon registracije“

voditelji: Kristina Pavić i Tin Weitner



16:45 – 17:00	<u>Andrea Čeri</u> <i>Polimorfizmi u genu za P-selektin i lokalizacija arterijskog ishemijskog moždanog udara u djece</i>
17:00 – 17:15	<u>Tana Tandarić, Lucija Hok</u> <i>Mehanizam reakcije između 5-fluorouracila i hipokloraste kiseline</i>
17:15 – 17:30	<u>Domagoj Antunović</u> <i>Trombotska mikroangiopatija vezana uz intravensku zlouporabu oksimorfon hidroklorida</i>
17:30 – 17:45	<u>Ivan Bošnjak, Marija Bošnjak</u> <i>Potrošnja lijekova i suradnja pacijenata na području Grada Zagreba</i>
17:45 – 18:00	Dodjela nagrada i svečano zatvaranje simpozija





Predavanja

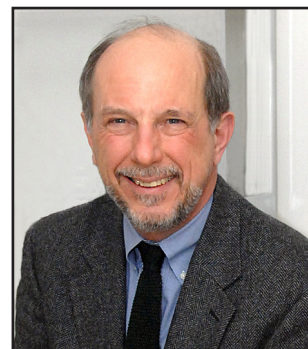
## P1 Plenarno predavanje

### **Importance of Cytochrome P450 Enzymes in Drug Metabolism**

#### **Citokromi P450 i metabolizam lijekova**

Frederick Peter Guengerich

*Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, USA*



The cytochrome P450 (P450, CYP) field has its origin with studies in the metabolism of drugs, steroids, and carcinogens in the 1940s. Biochemical characterization of the P450s occurred in the early 1960s and addressed the issue of whether a single enzyme or many was present. Today we understand the world of P450 in the context of 57 human P450 genes plus more than 30,000 from other species. Collectively the P450s are involved in >75% of the metabolism of drugs in humans, and understanding a small set of these has made it possible to predict drug metabolism in vitro early in the drug development process. The knowledge base with human P450s has led to rational prediction of drug-drug interactions, an important aspect of modern pharmacy. Another important area is the understanding of genetic polymorphisms in P450s, which can explain many of the variations in patient responses

to drugs. X-ray crystal structures of at least 23 of the 57 human P450s have made it possible to rationalize how these enzymes bind drugs and where they oxidize them. In several cases (P450s 51, 17A1, 19A1, and others) drugs have been designed as inhibitors and used to treat diseases. Our knowledge of P450s has facilitated understanding the bioactivation of drugs and their toxicity (e.g., thalidomide). In addition to drugs, many of the P450s are also involved in the metabolism of steroids and fat-soluble vitamins (A, D, E, K). One interest in this laboratory and others is defining the substrates of and reactions catalyzed by some human P450 "orphans," i.e. P450s without a characterized function. Progress has been made in this area, including identification of the retinoid desaturase P405 27C1, which has roles in vision in fish but in skin metabolism of retinoids in humans.



## Predavanje pod pokroviteljstvom

P2

### **Beckman Coulter – Vaš partner u svakodnevnom radu** **Beckman Coulter – Your Partner in Daily Work**

Darko Bortek

*Beckman Coulter*

Partner značenje: “osoba koja s nekim nešto dijeli, koja s nekim radi, sudionik, suigrač,” (Hrvatski Leksikon 2016).

Na pragu trećeg tisućljeća, uz suvremeni razvoj znanosti i visoko sofisticiranu tehnologiju, razvoj medicinsko biokemijske dijagnostike nezaobilazni je segment moderne medicine. Danas je gotovo nemoguće raditi bez tima u kojem jednu od bitnih karika čini upravo medicinsko biokemijska dijagnostika kao bazična, polazna osnova u otkrivanju bolesti, liječenju i izlječenju bolesnika.

U ozračju tima, kao jedan od partnera u svakodnevnom radu medicinskog biokemijskog laboratorija, sudjeluje i Beckman Coulter kroz biokemijsku, imunološku, hematološku i urinsku dijagnostiku.

Naši analizatori za biokemijsku, imunološku, hematološku i urinsku dijagnostiku optimiziraju svakodnevni laboratorijski rad, omogućavajući točne i standardizirane rezultate i najveću moguću zaštitu laboratorijskoga osoblja od ozljeda.

Jučer, danas i sutra, Beckman Coulter prati zahtjeve svojih partnera odnosno Vas i cijelog Vašeg tima koji stoji iza Vas.



## P3 Predavanje HALMED-a

### Život lijeka nakon davanja odobrenja za stavljanje u promet The Life of a Drug after Approval

Darko Krnić

*Agencija za lijekove i medicinske proizvode*

Nakon što lijek napusti dobro kontrolirane uvjete kliničkih ispitivanja te po dobivanju odobrenja za stavljanje u promet postane dostupan široj populaciji, nužno je uspostaviti takav sustav praćenja sigurne primjene lijekova koji će na vrijeme detektirati nove sigurnosne rizike primjene određenog lijeka. O takvim rizicima najčešće dobivamo informacije kroz prijave nuspojava, odnosno štetnih i neželjenih reakcija na lijek, a koje su uzrok su 5% hospitalizacija, 5% bolničkih smrtnih ishoda i oko 197.000 smrtnih ishoda godišnje u Europskoj uniji. Prijavljivanje sumnji na nuspojave zakonska je obveza zdravstvenih radnika te važan izvor podataka o sigurnosti primjene lijekova. Provođi se s ciljem unaprjeđenja i zaštite javnog zdravlja te osiguranja sigurne i učinkovite primjene lijekova.

U predavanju će biti prikazani podaci o sustavu prijavljivanja sumnji na nuspojave u Hrvatskoj, proces prijavljivanja, pregled prijave sumnji na nuspojave zaprimljenih u



2016. godini te trendovi prijavljivanja sumnji na nuspojave u posljednjih nekoliko godina. Cilj je predavanja ukazati na važnost prijavljivanja i poboljšanja kvalitete prijave sumnji na nuspojave.

[1] Zakon o lijekovima (Narodne novine, br. 76/13. i br. 90/14.)

[2] Pravilnik o farmakovigilanciji (Narodne novine, br. 83/13.)

[3] Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP) Module VI - Management and reporting of adverse reactions to medicinal products), Rev.1 (08. 09. 2014.)

[4] Podaci dostupni na internetskim stranicama Europske agencije za lijekove ([www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu))

[5] Podaci dostupni na internetskim stranicama [www.web-radr.eu](http://www.web-radr.eu)





## Dizajn i sinteza sahakina, potencijalnih antimalarika dvojnog djelovanja

### Design and Synthesis of Sahaquines, Potential Dual-Acting Antimalarials

Maja Beus<sup>1,2</sup>, Zvonimir Mlinarić<sup>3</sup>, Zrinka Rajić Džolić<sup>2</sup>, Branka Zorc<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Poslijediplomski doktorski studij, FBF

<sup>2</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

<sup>3</sup>Studij farmacije, FBF

Malarija je smrtonosna bolest tropskih i subtropskih krajeva koja se prenosi ubodom komarca, a uzrokovana je parazitima roda *Plasmodium*, *P. falciparum*, *P. knowlesi*, *P. vivax*, *P. ovale* i *P. malariae*. Trenutno prva linija terapije uključuje artemisinin i njegove derivate u kombinaciji s krvnim shizontocidima različitih mehanizama djelovanja [1]. U slučajevima zaraze *P. vivax* i *P. ovale*, merozoiti u jetri mogu prijeći u hipnozoite (latentni oblik) i tada se primakin (PQ), jedini dostupni hipnozoitocid, mora uvesti u terapiju [2]. Međutim, sve više se javljaju otporni sojevi roda *Plasmodium*, što dovodi do neučinkovitosti postojećih lijekova i potrebe za otkrićem lijekova s novim mehanizmima djelovanja [1]. Jedna od metoda razvoja novih lijekova je priprava hibridnih lijekova, u kojima su dva neovisna farmakofora kovalentno povezana. Histonske deacetilaze (HDAC) imaju ključnu ulogu u moduliranju strukture kromatina u stanicama sisavaca, u transkripciji i ekspresiji gena. Također je primijećeno da HDAC reguliraju transkripciju gena u *P. falciparum*. Tri od pet HDAC-a *P. falciparum* su Zn-ovisni enzimi, te ih vorinostat (suberoilanilid hidroksamska kiselina, SAHA), poznati inhibitor humane HDAC, također inhibira. Farmakofor u vorinostatu je terminalna hidroksamska kiselina koja kompleksira cink iz aktivnog mjesta HDAC [3].

Temeljem tih saznanja dizajnirani su sahakini, konjugati primakina i vorinostata, za koje očekujemo da će imati dvojno antimalarijsko

djelovanje, odnosno da će djelovati i na eritrocitnu i na hepatocitnu fazu plazmodija. Kako bismo provjerili našu hipotezu, mijenjali smo sljedeće parametre: duljinu i prirodu poveznice između primakinskog i hidroksamskog dijela molekule (zasićena ili nezasićena alkilna ili arilna poveznica), kao i supstituente na samoj hidroksamskoj funkcionalnoj skupini, pri čemu smo dobili četiri vrste derivata: *O*-benzilhidroksamske kiseline **4**, nesupstituirane hidroksamske kiseline **5**, *O*-metilhidroksamske kiseline **6** i *N*-metilhidroksamske kiseline **7** (Shema). Reakcije sinteze spojeva **4**–**7** jednostavne su, a iskorištenja visoka.

U tijeku je ispitivanje antimalarijskog djelovanja *in vitro* na eritrocitnu i hepatocitnu fazu parazita malarije.

Ovaj rad financirala je Hrvatska zaklada za znanost projektom IP-2014-09-1501.

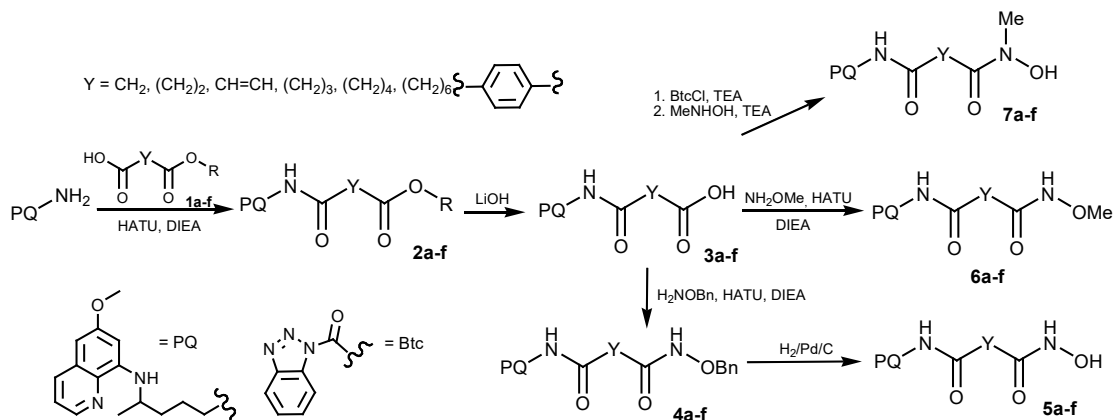
[1] D. Argawal, R. D. Gupta, S. K. Awasthi, *Antimicrob. Agents Chemother.* 61 (2017) e00249–17.

[2] F. D. da Cruz, C. Martin, K. Buchholz, M. J. Lafuente-Monasterio, T. Rodrigues et al. *J. Infect. Dis.* 205 (2012) 1278–1286.

[3] J. M. Ontoria, G. Paonessa, S. Ponzi, F. Ferrigno, E. Nizi et al. *Med. Chem. Lett.* 7 (2016) 454–459.

KLJUČNE RIJEČI: primakin, vorinostat, hibridni lijekovi, malarija

KEYWORDS: primaquine, vorinostat, hybrid drugs, malaria



## UP2 Mukopenetrativne nanočestice cefiksima Mucus-Penetrating Nanoparticles of Cefixime

Severina Jajčević<sup>1</sup>, Mario Jug<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Studij farmacije, FBF

<sup>2</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Cefiksim je cefalosporinski antibiotik treće generacije, stabilan na hidrolizu  $\beta$ -laktamaza, a djeluje baktericidno na *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* i *Neisseria gonorrhoeae* te na *Streptococcus* vrste. Primjenjuje se oralno kao druga linija liječenja infekcija respiratornog, urinarnog i bilijarnog sustava uzročnicima koji ne reagiraju na polusintetske peniciline [1]. Cilj ovog rada je razviti novi terapijski nanosustav koji će omogućiti lokalnu primjenu cefiksima na mukozne sluznice tijela te tako smanjiti nuspojave povezane sa sistemskom primjenom antibiotika. Međutim, sluz koja oblaže sluznice djeluje kao učinkovita zaštitna barijera, hvatajući i eliminirajući strane čestice. Time se značajno smanjuje mogućnost nanočestica da učinkovito dostave lijek. U tu svrhu su razvijene mukopenetrativne nanočestice, kojima je površina obložena lancima polietilenglikola (PEG) niske molekulske mase. Smatra se da PEG povećava hidrofilnost površine nanočestica, čime se olakšava njihov prolaz kroz sloj sluzi te se izbjegava nastajanje različitih hidrofobnih interakcija koje se smatraju odgovornim za zadržavanje stranih čestica u strukturi sluzi [2].

Kao osnova za izradu nanočestica korišten je kopolimer metil vinil etera i anhidrida jabučne kiseline (Gantrez AN-169), kojeg odlikuje netoksičnost, biokompatibilnost te izvrsna bioadhezivnost u vlažnom okolišu. U bezvodnom mediju anhidridne veze kopolimera reagiraju s dostupnim hidroksilnim skupinama, omogućujući relativno jednostavnu modifikaciju površine nanočestica [3]. U ovome radu, površina nanočestica je

oblagana PEG različitih molekulskih masa (4000, 6000 i 10000) te se pratilo kako korišteni polimer utječe na uklapanje lijeka te veličinu i svojstva površine nanočestica. Nanočestice su pripravljene postupkom desolvacije te su nakon pročišćavanja liofilizirane uz laktozu monohidrat i glukozu monohidrat kao krioprotektante. Prikladnost korištenih krioprotektanata vrednovana je ispitivanjem promjene veličine i zeta-potencijala nanočestica u odnosu na svježe priređene uzorke.

Pripremljene nanočestice su monodisperzne, a srednji promjer pripremljenih nanočestica varira od 141,8 do 162,5 nm, zavisno o molekulskoj masi PEG-a, što je u rasponu veličina koja osigurava mukopenetrativnost. PEGiliranjem se postiže i dugoročna stabilnost nanočestica. Zeta potencijal nanočestica varira od -41,5 do -48,8 mV te se od sustava se ne očekuje da će pokazati fizičku nestabilnost. Uklapanje cefiksima u nanočestice je relativno nisko te varira od 7 do 10%. Nanočestice obložene PEG 6000 te liofilizirane uz glukozu monohidrat kao krioprotektant su tehnološki najprihvatljivijih svojstava za lokalnu primjenu na sluznice.

[1] H. M. Arshad, O. A. Mohiuddin, M. B. Azmi, J. Appl. Pharm. Sci. 2 (2012) 109-113.

[2] S. L. Kai, Y. Y. Wang, J. Hanes, Adv. Drug Deliv. Rev. 61 (2009) 158-171.

[3] I. Inchaurrega, N. Martin - Arabella, V. Zabalera, G. Quincoces, I. Penuelas, J. M. Irache, Eur. J. Pharm. Biopharm. 97 (2015) 280-289.

KLJUČNE RIJEČI: mukopenetrativne nanočestice, sluz, cefiksim, polietilenglikol, uklapanje lijeka  
KEYWORDS: mucus- penetrating nanoparticles, mucus, cefixime, polyethylene glycol, drug incorporation



## Djelovanje lista divlje masline i oleuropeina na apoptozu stanicama glioblastoma A1235

### Effects of Wild Olive Leaf and Oleuropein on Apoptosis of Glioblastoma A1235 Cell Line

Robert Jerinić<sup>1</sup>, Vedrana Čikeš Čulić<sup>2</sup>, Tea Bilušić<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Studij farmacije, Split

<sup>2</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

<sup>3</sup>Kemijsko tehnološki fakultet Sveučilišta u Splitu

Apoptoza ili programirana stanična smrt je normalni fiziološki oblik smrti stanice. Proteini koji imaju važnu ulogu u procesu apoptoze su: Bcl-2, Smac/Diablo, IAP, kaspaza-3 (ced-3), kaspaza-4 (ced-4), kaspaza-8 (ced-8), kaspaza-9 (ced-9), TNF, Fas, i brojni drugi, koji nizom signalnih puteva aktiviraju nizvodne puteve koji će dovesti do stanične smrti [1].

Oleuropein spada u fitokemijsku skupinu iridoida, točnije sekoiridoida. Iridoidi su derivati ciklopentanopirana, a kod sekoiridoida dolazi do otvaranje ciklopentanskog prstena. U biljkama nastaju biosintetskim putem mevalonske kiseline. Osim oleuropeina, u listu masline prisutni su i njegovi razni derivati, kaodemtiloleuropein, metilni ester oleozida, ligstrozid, dimetilni ester oleozida, oleurozid i drugi [2].

Stupanj apoptoze je praćen protočnom citometrijom. Stanice koje su u fazi rane apoptoze obojane su aneksinom-V obilježenim zelenim fluorokromom, dok su stanice u kasnoj apoptozi obojane propidij jodidom koji fluorescira crveno. Postotak apoptotičkih stanica je izražen kao broj fluorescirajućih stanica u ukupnom broju stanica, čija je vrijednost postavljena kao 100%.

Iz rezultata je vidljivo da oleuropein i ekstrakt lista divlje masline djeluju na apoptozu stanične linije A1235. Pri višoj koncentraciji oleuropeina postotak ulaska stanice u apoptozu veći, te je time smanjen postotak

preživjelih stanica. Kod ekstrakta lista divlje masline postotak ulaska stanica u apoptozu je povezan s koncentracijom. U odnosu na stanice tretirane oleuropeinom, veći je broj preživjelih A1235 stanica tretiranih ekstraktom lista divlje masline. Dokazanom učinku ekstrakta lista divlje masline vjerojatno doprinose i druge sastavnice poput (iridoidi, triterpeni, flavonoidi, kalkoni, fenolne kiseline, kumarini) koji upravo zbog fitokemijskih karakteristika pridonose ulasku stanice u apoptozu. Kojim mehanizmom oleuropein i ekstrakt lista divlje masline potiču apoptozu možemo samo prepostaviti. U dosadašnjim istraživanjima spominju se inhibicija putem TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, COX-2 i indukcije miRNA [3].

[1] E. Vrdoljak, M. Šamija, Z. Kusić, M. Petković, D. Gugić, Z. Krajina, *Biologija raka: Genska osnova raka*, u: *Klinička onkologija*, A. Raič (ur.), Medicinska naklada, Zagreb, 2013, 1–2.

[2] European Medicines Agency. Assessment Report on *Olea europaea* L., folium, EMA/HMPC/430506/2009, European Medicines Agency, London, 2011.

[3] S. Lamy, A. Ben Saad, A. Zgheib, B. Annabi, J. Nutr. Biochem. 27 (2016) 136–145.

KLJUČNE RIJEČI: *apoptoza, oleuropein, list divlje masline, glioblastom*

KEYWORDS: *apoptosis, oleuropein, wild olive leaf, glioblastoma*



## UP4 Toksičnost i mehanizmi toksičnosti kore obične krkavine (*Frangula alnus* Mill.)

### Toxicity and Mechanism of Toxicity of *Frangula alnus* Mill. Bark

Ivan Sušan<sup>1</sup>, Matija Salopek<sup>1</sup>, Ana-Marija Domijan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Studij farmacije, FBF

<sup>2</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Kora obične krkavine, *Frangula alnus* Mill. (sin. *Rhamnus frangula* L.) od davnina se koristi kao laksativ, no zbog zabilježenih negativnih učinaka (gubitak kalija, nadražnost crijeva i razvoj karcinoma) preporuča se kratkotrajna primjena preparata na bazi kore obične krkavine [1, 2].

Cilj ovoga istraživanja bio je ispitati toksičnost i mehanizme toksičnosti ekstrakta kore obične krkavine. Pored toga ispitan je i emodin, sekundarni metabolit kore obične krkavine kojem se pripisuje laksativno djelovanje.

Istraživanje je provedeno na izoliranim mononuklearnim stanicama ljudske krvi (limfociti) koji su tretirani ili vodenim pripravkom ekstrakta kore obične krkavine (raspon koncentracija 0-1750 µg/mL) ili emodinom (raspon koncentracija 0-200 µg/mL) tijekom 24 sata. Citotoksičnost je određena diferencijalnim bojanjem, a genotoksičnost alkalnim komet testom. Razina oksidacijskog stresa praćena je fluorescentnom mikroskopijom mjerenjem reaktivnih kisikovih vrsta (ROS) i glutationa (GSH). Rezultati su izraženi kao % ± SD, u odnosu na kontrolnu skupinu (kontrolna skupina postavljena je na 100%; kontrolni uzorak tretiran je otapalom). Dobiveni rezultati između kontrola i tretiranih skupina uspoređeni su pomoću Mann-Whitney U testa (citotoksičnost, ROS i GSH) ili Newman-Keulsovim testom (genotoksičnost). Statistička značajnost postavljena je na  $P < 0,05$ .

Ekstrakt kore obične krkavine bio je

citotoksičan i genotoksičan za limfocite od koncentracije 500 µg/mL (različito od kontrole;  $P < 0,05$ ). Citotoksičnost i genotoksičnost modina zabilježena je kod koncentracije 150 µg/mL (različito od kontrole;  $P < 0,05$ ). Ekstrakt kore uzrokovao je porast ROS-ova kod koncentracije 250 µg/mL (različito od kontrole;  $P < 0,05$ ), no promijene u GSH nije bilo ( $P > 0,05$ ). Emodin pri koncentraciji od 100 µg/mL uzrokovao je porast ROS-ova (različito od kontrole;  $P < 0,05$ ), a promjena u razini GSH nije zabilježena ( $P > 0,05$ ).

Rezultati upućuju da ekstrakt kore obične krkavine i emodin u koncentracijama koje nisu citotoksične i genotoksične uzrokuju nastajanje ROS-ova što ukazuje na oksidacijski stres kao mehanizam citotoksičnosti i genotoksičnosti ispitivanih spojeva. S obzirom da je učinak emodina primijećen kod nižih koncentracija, dobiveni rezultati potvrđuju da emodin pridonosi toksičnosti kore obične krkavine. Iz dobivenih rezultata može se zaključiti da se preparati na bazi kore obične krkavine ili emodina trebaju koristiti s oprezom.

[1] European Parliament and the Council of the European Union, EU Directive 2001/83/EC, Official Journal of the European Communities L 311 (2001) 67.

[2] European Medicines Agency, Assessment report on *Rhamnus frangula* L., EMEA/HMPC/76306 (2006) 14-21.

KLJUČNE RIJEČI: *Frangulae cortex*, emodin, citotoksičnost, genotoksičnost, oksidativni stres  
KEYWORDS: *Frangulae cortex*, emodin, cytotoxicity, genotoxicity, oxidative stress





## Polimorfizmi u genu za P-selektin i lokalizacija arterijskog ishemijskog moždanog udara u djece

UP5

### P-Selectin Gene Polymorphisms and Pediatric Arterial Ischemic Stroke Localisation

Andrea Čeri<sup>1,2</sup>, Désirée Coen Herak<sup>3</sup>, Marina Pavić<sup>4</sup>, Jasna Leniček Krleža<sup>5</sup>, Margareta Radić Antolic<sup>3</sup>, Ivana Horvat<sup>3</sup>, Vlasta Djuranović<sup>6</sup>, Renata Zadro<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Poslijediplomski doktorski studij, FBF

<sup>2</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

<sup>3</sup>Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, KBC Zagreb

<sup>4</sup>Odjel za laboratorijsku dijagnostiku, Klinika za traumatologiju, KBC Sestre milosirdnice

<sup>5</sup>Zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinika za dječje bolesti Zagreb

<sup>6</sup>Zavod za neuropedijatriju, Klinika za dječje bolesti Zagreb

P-selektin je adhezijska molekula trombocitne membrane koja ima ključnu ulogu u njihovom pokretanju prema mjestu vaskularne ozljede i agregaciji [1]. Opisano je nekoliko polimorfizama u genu *PSEL* koji mogu uzrokovati trombofiliju [2]. Ishemijski moždani udar (MU) u djece, unatoč niskoj pojavnosti, bitan je uzrok smrtnosti i morbiditeta. Dosadašnja istraživanja su prepoznala trombofiliju kao jedan od mogućih rizičnih čimbenika za njegov nastanak [3], ali još ne postoje podaci o povezanosti genetičkih trombofilnih rizičnih čimbenika s lokalizacijom MU u djece.

Svrha ovog istraživanja bila je ispitati ulogu polimorfizama u genu *PSEL* u arterijskom ishemijskom MU u djece s obzirom na lokalizaciju ishemijske lezije.

DNA je izolirana metodom isoljavanja iz uzoraka krvi 112 djece (46 djevojčica, 66 dječaka) s perinatalnim MU ( $N=51$ ) i MU u dječjoj dobi ( $N=61$ ). Genotipizacija polimorfizama S290N, N562D, V599L i T715P u genu *PSEL*, učinjena je pomoću alel-specifičnog PCR-a ili PCR-a u stvarnom vremenu analizom krivulje taljenja visoke razlučivosti. Podaci o lokalizaciji MU za svakog bolesnika prikupljeni su iz njihovih povijesti bolesti i rezultata magnetske rezonancije mozga. Statistička analiza dobivenih podataka napravljena je pomoću alata SNPStats.

Prikupljeni podaci o lokalizaciji MU su pokazali prisutnost kortikalnog MU u 69 djece (39 s perinatalnim i 30 s MU u dječjoj dobi)

te subkortikalnog MU u 43 djece koji je češći u dječjoj dobi ( $N=31$ ) za razliku od perinatalnog razdoblja ( $N=12$ ).

Analizom dobivenih rezultata genotipizacije polimorfizama *PSEL* prema lokalizaciji ishemijske lezije, za polimorfizam S290N zabilježena je veća frekvencija genotipova SN i NN u djece s kortikalnim MU u odnosu na subkortikalni MU (0,37 vs. 0,26). Za polimorfizam N562D genotip DD je bio zastupljeniji u kortikalnom u odnosu na subkortikalni MU (0,30 vs. 0,18). Za razliku od toga, u djece sa subkortikalnim MU zabilježene su veće frekvencije heterozigota za polimorfizme V599L i T715P nego u djece s kortikalnim MU (0,22 i 0,19 vs. 0,11 i 0,13). Međutim, ni jedna od opaženih razlika nije bila statistički značajna ( $p=0,260$ ,  $p=0,170$ ,  $p=0,100$  i  $p=0,330$ ).

Zaključak ovog istraživanja jest kako polimorfizmi S290N, N562D, V599L i T715P u genu za P-selektin nisu povezani s lokalizacijom MU u djece. Međutim, dobivene rezultate trebalo bi potvrditi na većem broju ispitanika.

[1] B. Labar, E. Hauptman, Hematologija, Školska knjiga, Zagreb, 2007.

[2] P. André, Br. J. Haematol. 126 (2004) 289-306.

[3] R. Zadro, D. Coen Herak, Biochemia Medica 22 (2012) 298-310.

KLJUČNE RIJEČI: dječji moždani udar, lokalizacija, P-selektin, polimorfizmi

KEYWORDS: pediatric stroke, localisation, P-selectin, polymorphisms



## UP6 **Mehanizam reakcije između 5-fluorouracila i hipokloraste kiseline\*** **Mechanism of the Reaction between 5-Fluorouracil and Hypochlorous Acid**

Tana Tandarić<sup>1</sup>, Lucija Hok<sup>2</sup>, Davor Šakić<sup>3</sup>, Valerije Vrčec<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institut Ruđer Bošković, Zagreb

<sup>2</sup>Studij farmacije, FBF

<sup>3</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Reakcija između 5-fluorouracila (5-FU) i hipokloraste kiseline ključan je proces koji se događa tijekom obrade otpadnih voda kloriranjem odnosno u aktiviranim neutrofilima pacijenta tokom farmakoterapije karcinoma. U ovom radu, kombinacijom eksperimentalnih i teorijskih metoda je predložen reakcijski mehanizam kloriranja 5-FU hipoklorastom kiselinom.

Pokazano je da kinetički i termodinamički favorizirani *trans*-klorhidrin **3a** nastaje preko iminskog međuprodukta **2**, uz energetske barijere  $TS_{N1} = 82,90$  kJ/mol i  $TS_{3a} = 40,07$  kJ/mol. Daljnje kloriranje se odvija u N1-položaju preko N1-anionskog međuprodukta uz energetske barijeru  $2TS_{N1}$  koja iznosi 85,43 kJ/mol. Konačni produkt kloriranja je geminalni diol.

Strukturne karakteristike produkata i međuprodukata određene su korištenjem <sup>1</sup>H, <sup>19</sup>F i <sup>13</sup>C NMR spektroskopije te HPLC/ESI – MS-a. Reakcijski mehanizam istražen je korištenjem kvantno-kemijskih metoda.

B3LYP/6-31G(d). Otapalo je opisano implicitnom SMD metodom uz korištenje optimalnog broja eksplicitno dodanih molekula vode. Računalno dobiveni podaci u skladu su s eksperimentalnim opažanjima.

Ekotoksikološkom analizom na testnom vodenom organizmu *Daphnia magna* utvrđeno je da je klorhidrin **3a** manje toksičan, a produkt **11** više toksičan od ishodne supstance 5-FU. Dobiveni rezultati ključni su za poznavanje ekološke sudbine 5-FU i predlaganje novih, manje toksičnih načina obrade otpadnih voda.

[1] C.C. Winterbourn et al., *Ann. Rev. Biochem.* 85 (2016), 765-792.

[2] M. Deborde, U. von Gunten, *Water Res.* 42 (2008), 13-51.

[3] J.L. Acero, F.J. Benitez, F.J. Real, G. Roldan, *Water Res.* 44 (2010), 4158-4170.

KLJUČNE RIJEČI: 5-fluorouracil, hipoklorasta kiselina, NMR, komputacijska kemija, ekotoksikologija  
 KEYWORDS: 5-fluorouracil, hypochlorous acid, NMR, computational chemistry, ecotoxicology

\*25. HRVATSKI SKUP KEMIČARA I KEMIJSKIH INŽENJERA s međunarodnim sudjelovanjem i 3. Simpozij „Vladimir Prelog“, Poreč, 2017.



## Trombotska mikroangiopatija vezana uz intravensku zluporabu oksimorfon hidroklorida

### Thrombotic Microangiopathy Associated with Intravenous Abuse of Oxymorphone Hydrochloride

Domagoj Antunović<sup>1</sup>, Stela Bulimbašić<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Studij farmacije, FBF

<sup>2</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

<sup>3</sup>KB Dubrava, Zagreb

Trombotske mikroangiopatije (TMA) su patološka stanja uzrokovana ozljedama endotela s posljedicom stvaranjem mikrotromba u kapilarama i arteriolama [1]. Jedna od poznatijih TMA je trombotička trombocitopenična purpura (TTP). U njejoj patofiziologiji leži pojava neobično velikih multimeri von Willebrandovog faktora zbog deficijencije metaloproteinaze ADAMTS13 odgovorne za njegovu razgradnju [2]. Simptomi obuhvaćaju mikroangiopatsku hemolitičku anemiju i trombocitopeniju [2]. Rizični čimbenici za TTP, među ostalim uključuju korištenje inhibitora aktivacije trombocita, kinina i kokaina [1]. Od 2012. godine je u Sjedinjenim Američkim Državama prijavljen velik broj slučajeva naizgled neobjašnjive pojave TTP, koja se u kasnijim istraživanjima povezala s intravenskom administracijom oralne formulacije s produženim oslobađanjem oksimorfonhidroklorida trgovačkog imena Opana ER, proizvođača EndoPharmaceuticals [1]. Oksimorfonhidroklorid je polusintetski opioid, jaki analgetik koji se u navedenoj formulaciji redovito koristi za terapiju kronične boli, a na našem tržištu nije dostupan. U prošlosti su zabilježeni slučajevi mrvljenja i otapanja tableta za intravensku aplikaciju zbog euforijskih efekata oksimorfona [1]. Zato je 2012. na američkom tržištu puštena nova formulacija, koja je kao pomoćne tvari sadržavala polietilen oksid (PEO) i polietilenglikol (PEG), no zluporaba se nastavila [2]. U pacijenata s anamnezom intravenske zluporabe Opana ER, zabilježena jedispneja, trombocitopenija, hemolitička anemija, a u nekih i akutno zatajenje bubrega. Biopsijom bubrega dokazana je TMA uz normalnu aktivnost ADAMTS13 [2]. Temeljem ranije studije

kojom je u štakora uočen razvoj trombocitopenije nakon intravenske primjene PEO [3], posumnjalo se na moguću etiološku povezanost smjese pomoćnih tvari s većinskim udjelom visokomolekularnog (HMW) PEO te pojavom TMA i u navedenih pacijenata. U nedavno objavljenoj studiji, nakon simulacije otapanja i ekstrakcije pomoćnih tvari, autori su zamorčicama injektirali 0,1 ili 0,3 mg dobivene smjese u jednoj dozi ili u intervalima od 90 minuta [2]. S rastom koncentracije PEO je paralelno došlo do intravaskularne hemolize, pojave shistocita i trombocitopenije. Imuno-kemijskim tehnikama je PEO detektiran u endotelu i lumenu bubrežnih arterija životinja, čime je njegov efekt potpuno potvrđen [2]. Obzirom da pomoćne tvari iz viđenog primjera mogu imati dominantnu ulogu u razvoju nepoželjnih pojava, u cilju očuvanja kvalitete skrbi, liječnicima i ljekarnicima se snažno preporuča da prilikom prepisivanja, odnosno izdavanja bilo kakvih lijekova upozore pacijente na rizike nepropisanog korištenja.

[1] E. Marder, D. Kirschke, D. Robbins, J. Dunn, T. F. Jones, J. Racoosin, L. Paulozzi, A. Chang. *Morb Mortal Wkly Rep.* 62 (2013) 1-4.

[2] R. Hunt, A. Yalamanoglu, J. Tumlin, T. Schiller, J. H. Baek, A. Wu, A. B. Fogo, H. Yang, E. Wong, P. Miller, P. W. Buehler, C. Kimchi-Sarfaty. *Blood* 129 (2017) 896-905.

[3] G. V. Karpova, E. V. Abramova, T. Lamzina, E. A. Timina, T. V. Vetoshkina. *Eksp Klin Farmakol* 67 (2004) 61-5.

KLJUČNE RIJEČI: oksimorfonhidroklorid, visokomolekularni polietilen oksid, trombotska mikroangiopatija

KEYWORDS: oxymorphone hydrochloride, high molecular weight polyethyleneoxide, thrombotic microangiopathy



## UP8 **Potrošnja lijekova i suradnja pacijenata na području Grada Zagreba** **Drug Consumption and Patient Compliance in City of Zagreb**

Ivan Bošnjak<sup>1,2</sup>, Marija Bošnjak<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

<sup>2</sup>Ekonomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

<sup>3</sup>Studij farmacije, Farmaceutski fakultet Sveučilišta u Mostaru

Važnost pravilnog uzimanja terapije uvelike se ogleda u posljedicama zdravstvenog stanja pacijenata. Suradnja liječnika, farmaceuta i pacijenta nužna je za postizanje optimalnih i željenih ishoda liječenja.

Svrha istraživanja bila je proučiti korištenje i vjerodostojnost uzimanja terapije od strane pacijenata na području Grada Zagreba usporedbom lijekova koji su propisani od strane liječnika i nezbrinutih lijekova u ljekarnama na području grada Zagreba.

Istraživanje je uključivalo prikupljenje nezbrinutih lijekova u 51 ljekarni na području grada Zagreba u trajanju od mjesec dana, od 1.4.2014. do 1.5.2014. godine, te usporedbu s podacima Hrvatske agencije za lijekove i medicinske proizvode. Nezbrinuti lijekovi, uključujući i one s istekom roka trajanja, svrstani su prema Anatomsko Terapeutskoj Klasifikaciji (ATC) u različite terapeutske grupe. Nakon prikupljenih podataka doveli smo ih u korelaciju s lijekovima najčešće potrošnje na području Grada Zagreba.

Nezbrinuti lijekovi najviše evidentirani u ljekarnama su lijekovi s djelovanjem na kardiovaskularni, potom živčani i probavni sustav. Isti lijekovi bilježe i najčešću potrošnju na području Grada Zagreba. Kao dominantni su se pokazali ramipril i amlodipin od kardiovaskularnih lijekova, diazepam i alprazolam od lijekova s djelovanjem na središnji živčani sustav te metformin [1]. Prema ATC klasifikaciji zabilježene su razlike između nezbrinutih lijekova u ljekarnama i lijekova u evidenciji potrošnje u Gradu Zagrebu. Lijekovi s djelovanjem na središnji živčani sustav i probavni

sustav u obrnutom su poretku, na vrhu ljestvice usporedbom dviju grupa. Asimetričnu potrošnju ukazuju i lijekovi s djelovanjem na krv i krvotvorne organe. Najznačajnija razlika između potrošenih i nezbrinutih lijekova vidljiva je u skupini dermatika. Nesrazmjer se očituje na polovičnom, šestom mjestu u skupini lijekova nađenih u farmaceutskom otpadu i pretposljednem u grupi potrošenih lijekova.

Potrošeni i nezbrinuti lijekovi nisu u potpunoj korelaciji u 60% slučajeva. Unatoč većem propisivanju lijekova s djelovanjem na središnji živčani sustav, lijekovi s djelovanjem na probavni sustav su dominantniji u nezbrinutim lijekovima. Kao dodatni čimbenik pri potrošnji dermatika može se uzeti njihovo kraće vrijeme trajanja. Prema navedenom zaključujemo kako pacijenti ne uzimaju terapiju pravodobno i količinski dovoljno, što dovodi do diskrepancije vidljive na području nezbrinutih lijekova. Potrebno je uložiti dodatne napore u svrhu efikasnije komunikacije između pacijenta, liječnika i farmaceuta.

[1] M. Bošnjak, I. Bošnjak, D. Drmić, Pharmaceutical Waste Management in Pharmacies in Zagreb (2016) *The FASEB Journal* vol. 30 no. 1 Supplement 933.10

KLJUČNE RIJEČI: Anatomsko terapeutska klasifikacija, Hrvatska agencija za lijekove i medicinske proizvode

KEYWORDS: Anatomical Therapeutic Chemical Classification, Agency for Medicinal Products and Medicinal Devices of Croatia







Posteri

## PP1 Posterska priopćenja

## Novi semikarbazidni konjugati primakina i derivata cimetne kiseline\* Novel Cinnamic Acid-Primaquine Conjugates of Semicarbazide Type

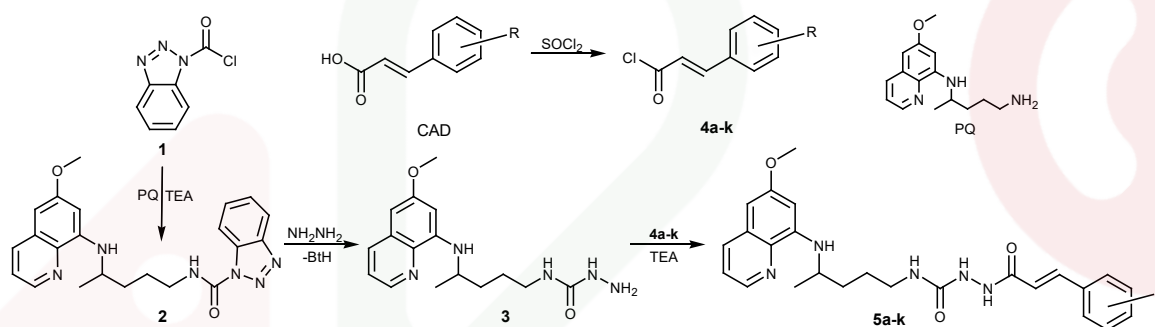
Kristina Pavić, Petra Gilja, Filip Kozlina, Branka Zorc

University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Molecular hybridization approach based on the combination of pharmacophoric moieties of different compounds was used to produce new hybrid molecules with cinnamic acid derivatives (CAD) and primaquine (PQ) motifs bound via spacer. CAD, a large group of compounds appearing naturally in plants, have a long history of human use. Impressive number of papers report on their biological activities (antitumor, antimicrobial, antioxidative, antidiabetic, hepatoprotective, hypolipemic, antimalarial) and low toxicity (1-3). On the other hand, primaquine is a well-known antimalarial drug with antiproliferative potential. In our recent work we have shown that primaquine derivatives with substituted terminal amino group possess significant cytostatic activity in low micromolar concentrations towards various cancer

cell lines (4, 5) or high selectivity towards MCF-7 (breast cancer).

The starting compound benzotriazole carboxylic acid chloride **1** was used for the preparation of primaquine benzotriazolide **2**, which reacted with hydrazine hydrate and gave semicarbazide **3**. The title CAD-primaquine conjugates **5a-k** were prepared by acylation of product **3** with corresponding CAD chlorides **4a-k**. The following CAD were used: cinnamic acid,  $\alpha$ -methylcinnamic acid, methoxy, dimethoxy, trimethoxy, methylenedioxy, chloro, fluoro, trifluoromethyl and bistrifluoromethyl cinnamic acid. Structures of newly prepared N-cinnamoyl-primaquine conjugates were confirmed by IR,  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR and MS spectroscopy. Evaluation of their biological activity is in progress.



- [1] P. Sharma, *J. Chem. Pharm. Res.* 2011; 3, 403–423.  
 [2] P. De, M. Baltas, F. Bedos-Belval, *Curr. Med. Chem.* 2011; 18, 1672–1703.  
 [3] R. Lone, R. Shuab, K. K. Koul, *Glob. J. Pharmacol.* 2014; 8, 328–335.  
 [4] I. Perković, S. Tršinar, J. Žanetić, M. Kralj, I.

- Martin-Kleiner, J. Balzarini, D. Hadjipavlou-Litina, A. M. Katsori, B. Zorc, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2013; 28, 601–610.  
 [5] K. Pavić, I. Perković, M. Cindrić, M. Pranjić, I. Martin-Kleiner, M. Kralj, D. Schols, D. Hadjipavlou-Litina, A.-M. Katsori, B. Zorc, *Eur. J. Med. Chem.* 2014; 86, 502–514.

\*XXIV EFMC International Symposium on Medicinal Chemistry, Manchester, UK, 2016



## Biolška aktivnost novih amidnih konjugata primakina i derivata cimetne kiseline\*

PP2

### Biological activity of novel primaquine-cinnamic acid conjugates of the amide type

Kristina Pavić<sup>1</sup>, Katja Ester<sup>2</sup>, Marijeta Kralj<sup>2</sup>, Dominique Schols<sup>3</sup>, Dimitra Hadjipavlou-Litina<sup>4</sup>, Eleni Pontiki<sup>4</sup> and Branka Zorc<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, Zagreb, Croatia

<sup>2</sup>Rudjer Boskovic Institute, Division of Molecular Medicine, Zagreb, Croatia

<sup>3</sup>Katholieke Universiteit Leuven, Rega Institute for Medical Research, Leuven, Belgium

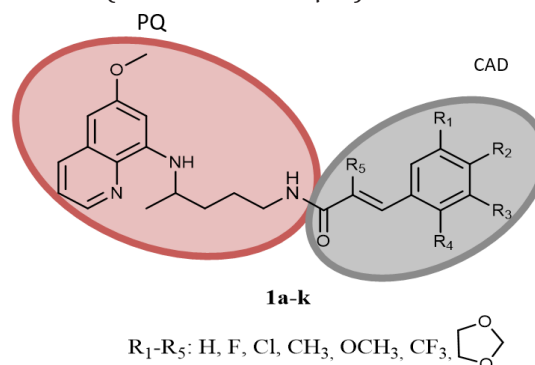
<sup>4</sup>Aristoteles University of Thessaloniki, Faculty of Health Sciences, Thessaloniki, Greece

Novel primaquine-cinnamic acid (PQ-CADs) conjugates of the amide type **1a-k**, bearing cinnamoyl moiety at the one and primaquine moiety at the other side, prepared by our research group (1) were evaluated for biological activity. Their antiproliferative activity was evaluated *in vitro* on five different types of human tumor cell lines: lymphoblastic leukemia (CEM), cervical carcinoma (HeLa), lung carcinoma (NCI-H460), colon carcinoma (SW 620), breast carcinoma (MCF-7) and murine lymphocytic leukemia (L1210), and compared with the standard anticancer drugs (sorafenib, cisplatin and 5-fluorouracil) and PQ. Practically all PQ-CAD amides were active against MCF-7 in low micromolar concentrations, with *o*-fluoro derivative **1h** as the most active compound ( $IC_{50}$   $1.1 \pm 0.6$  M). Activity against HeLa varied noticeably: **1a** and **1h** showed strong activity in low micromolar concentrations ( $IC_{50}$   $4.0 \pm 0.9$  M and  $2.1 \pm 2.1$  M, respectively). Other amides were either inactive (**1c-e**) or exerted very weak activity (the rest of the compounds). All compounds showed weak activity against L1210 and CEM, and no activity against H460 cell line. Similarly, most of the amide derivatives were inactive against SW 620. However, **1a** and **1i** showed mild and again, **1h** very strong activity ( $IC_{50}$   $0.3 \pm 0.1$  M) against the same cell line.

Compounds **1a-k** were evaluated against a broad variety of viruses (herpes simplex virus type 1 (KOS), herpes simplex virus 2 (G), herpes simplex virus 1 TK<sup>-</sup>(KOS) ACV<sup>r</sup>, vaccinia virus, adeno virus 2 and human coronavirus (229E) in HEL cell cultures) and their activities were compared with reference compounds. However, amide derivatives **1a-k** were inactive towards all tested viruses. All PQ-CAD amides did not display cytotoxic effects based on the inhibition of HEL growth. The results of cytotoxicity

measurements were expressed as minimum cytotoxic concentrations (MCC) and were equal or higher than 100  $\mu$ M.

For the measurement of the antioxidant potentials of the new PQ-CADs **1a-k** two different assays were used: interaction with the stable 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical, and interaction with 2,2'-azobis(2-amidinopropane)dihydrochloride (AAPH), used as a source of peroxy radicals. Antioxidant potentials of PQ-CADs were compared to nordihydroguaiaretic acid (NDGA) and Trolox. DPPH-reducing ability (RA) of the amide derivatives **1a-k** was very low or missing at 50  $\mu$ M. However, an increase was observed at 100  $\mu$ M. The highest activity was presented by the unsubstituted derivative **1a** (53%). The results of the interaction with AAPH showed that all amide derivatives significantly inhibited lipid peroxidation (LP) (32–87%). Compound **1f** with a benzodioxole ring exhibited the highest activity. In addition, all prepared compounds were evaluated for their ability to inhibit soybean lipoxygenase. From the tested compounds, all amides, with the exception of **1j**, were inactive (10–45% at 100  $\mu$ M).



[1] K. Pavić, I. Perković, P. Gilja, F. Kozlina, K. Ester, M. Kralj, D. Schols, D. Hadjipavlou-Litina, E. Pontiki, B. Zorc, *Molecules* 2016; 21, 1629–1654.

\*World Congress on Pharmaceutical and Chemical Sciences, Madrid, Spain, 2017



## PP3 Procjena inhibicije CYP3A4 enzima odabranim flavonoidima – metoda molekularnog sidrenja\*

### Assessment of CYP3A4 Inhibition by Selected Flavonoids – a Molecular Docking Approach

Hrvoje Rimac<sup>1</sup>, Darija Šarić-Mustapić<sup>2</sup>, Željko Debelja<sup>3,4</sup>, Mirza Bojić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry

<sup>2</sup>Agency for Medicinal Products and Medical Devices of Croatia

<sup>3</sup>Clinical Hospital Center Osijek

<sup>4</sup>J. J. Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine

#### Introduction:

Flavonoids are class of compounds found in fruits and vegetables. Cytochrome P450 3A4 is one of the major enzymes for metabolism of xenobiotics and as such susceptible to flavonoid-drug interactions. In our previous study we have shown that acacetin, apigenin, and chrysin act as reversible inhibitors while chrysin dimethylether, isorhamnetin, pinocembrin, and tangeretin act as irreversible inhibitors. The objective of this work was to assess potential binding sites of these flavonoids to CYP3A4.

#### Materials and Methods:

Molecular docking of aforementioned inhibitors and non-inhibiting flavonoids (3,6-dihydroxyflavon, tamarixetin) to cytochrome CYP3A4 was performed using AutoDock 4.2.6. with AutoDockTools 1.5.6.

#### Results:

Results of this research show that different flavonoids bind to different sites of the

CYP3A4 enzyme. While 3,6-dihydroxyflavon binds outside of the active site, acacetin and apigenin are located perpendicularly to the hem group, with their hydroxy group on the B ring directed to hem. Chrysin, chrysin dimethylether and pinocembrin are also located in the cavity, but parallelly to the hem group. Isorhamnetin, tamarixetin and tangeretin are located at the entrance of the cavity.

#### Conclusion:

Molecular docking can, to some extent explain observed patterns of CYP3A4 inhibition observed with analyzed flavonoids. Flavonoids binding outside of the active site have no impact on the activity of the enzyme or they can influence its activity through allosteric modifications. Flavonoids located perpendicularly or parallelly to the hem group can directly influence enzyme activity, while flavonoids located at the entrance can manifest their activity by blocking the access to the enzyme.

\*8. Hrvatski kongres farmakologije s međunarodnim sudjelovanjem, Split, Hrvatska, 2016.



## Strukturne odrednice vezanja flavonoida za humani serumski albumin\* Structural Determinants of Flavonoid Binding to Human Serum Albumin

PP4

Hrvoje Rimac<sup>1</sup>, Davor Šakić<sup>1</sup>, Željko Debeljak<sup>2,3</sup>, Mirza Bojić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

<sup>2</sup>Clinical Hospital Center Osijek

<sup>3</sup>J. J. Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine

Flavonoids are widely distributed secondary plant metabolites. They are found in everyday diet (fruits and vegetables) and numerous medicinal plants. After absorption, in humans, flavonoids bind to human serum albumin (HSA), the most abundant carrier blood protein. Binding of flavonoids to HSA may impact distribution and the free blood concentration of various drugs and hormones. The objective of this work was to determine structural features of flavonoids relevant for binding to HSA.

Binding constants were determined experimentally by measuring steady-state fluorescence spectra of increasing flavonoid concentrations (0-10  $\mu\text{M}$ ) to HSA (1  $\mu\text{M}$ ). Molecular descriptors calculations were based on density functional theory; the Gaussian09 program was used for quantum chemical calculations. These results were then integrated using Statistica 7.0 to elucidate structure-affinity relationship. In general, flavanones ( $0.5\text{-}2.2 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ) have shown the lowest binding constants, followed by isoflavones ( $2.1\text{-}4.9 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ), while flavones ( $1.3\text{-}8.9 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ) and flavonols ( $1.2\text{-}7.4 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ) are characterized by the highest binding constants. Most of the binding constants are in accordance with data from previously published studies, with a few exceptions, while for a few flavonoids literature data could not be found.

At physiological pH analyzed flavonoids have

a tendency to bind to the IIA binding site of HSA in the form of an anion. There are several key flavonoid properties that are associated with the respective binding affinity: (1) C3 nucleophilicity and partial charge – enables classification of flavonoids into subclasses; (2) O4 partial charge has shown strong association with the HSA binding affinity, reflecting its good hydrogen acceptor properties; (3) R4 electrophilicity – lower electrophilicity is associated with higher affinity for HSA; (4) high HOMO and LUMO energies reflect stronger binding; and (5) coplanarity of both AC and B rings and A and C rings are associated with higher binding constants. Contrary to previously published results, this study shows that neither conjugation of B and AC rings nor hydrogen acceptor and donor properties of the B ring are common determinants of flavonoid binding to HSA. This study represents the most extensive study of flavonoids binding to HSA, complementing an experimental technique of fluorescence spectrophotometry with results of quantum mechanics approach to provide explanations of flavonoid binding properties. However, it is important to emphasize that all of the calculations were done in vacuo and laboratory measurements were done in vitro. Further studies are needed to evaluate biological implications of the described phenomenon like flavonoid-drug and flavonoid-hormone interactions.

\*11th International ISSX Meeting, Busan, South Korea, 2016



## PP5 Predviđanje bioloških meta, ADMET svojstava i QSAR istraživanja u seriji entaktogenih tvari feniletilaminskog tipa\*

### Predicting of Biological Targets, ADMET Properties and QSAR Studies in a Series of Entactogen Substances of Phenylethylamine Class

Milena Jadrijević-Mladar Takač<sup>1</sup>, Tin Takač<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

<sup>2</sup>University of Zagreb Faculty of Chemical Engineering and Technology

Many of new and formerly obscure compounds, including entactogens, have appeared on the illicit drug market. Their rapid appearance and largely unknown character put them into a legal gray area.

The aim of this study was to predict an ADMET properties of selected entactogens in order to get more insights in their safety profile.

Entactogens of phenylethylamine class ( $n = 25$ ) were evaluated in QSAR studies using computed molecular descriptors (LogP,  $M_r$ , TPSA,  $V$ ) and ADMET properties predicted by ADMET Predictor™ 8.1 (Simulations Plus, USA). Using Swiss Target Prediction software the sodium dependent serotonin or dopamine transporters and trace amine-associated receptors were revealed as targets with the highest probability for majority of these substances.

The most significant correlations were obtained between ADMET Risk vs. CYP Risk ( $R = 0.9997$ ); MLogP vs. TOX hERG (cardiotoxicity)

and TOX ATTP (Acute toxicity in *Tetrahymena pyriformis*) with  $R = 0.7511$  and  $R = 0.7601$ , respectively. These molecules are both CYP inhibitors (1A2, 2D6) and CYP substrates (1A2, 2B6, 2C9, 2C19, 2D6 and 2E1). The following toxicological parameters were also predicted: ADMET risk 1 – 4 (codes 1A, 2C19, 2D6, Mu or Hp); CYP risk 1 - 2.72 (codes 1A2, 2D6 and 2C19) and TOX risk 0 - 3.45 with codes of mutagenicity (Mu) and hepatotoxicity (Hp). The mutagenicity was predicted for MDMEO or 1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-*N*-methoxypropan-2-amine and MDOH or 3,4-methylenedioxy-*N*-hydroxyamphetamine while both, hepatotoxicity and mutagenicity (Mu) were predicted for MDCPM or 3,4-methylenedioxy-*N*-cyclopropylmethamphetamine.

MDCPM was with worst toxicological profile among all investigated entactogen molecules in this study.

\*6th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress 2017, Stockholm, Sweden, 2017





## ADMET svojstva i korelacijske studije serije stimulansa zabranjenih od strane WADA\*

PP6

### ADMET Properties and Correlation Studies in a Series of Stimulants of the WADA List of Prohibited Substances

Milena Jadrijević-Mladar Takač<sup>1</sup>, Nikica Jenjić<sup>1</sup>, Tin Takač<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

<sup>2</sup>University of Zagreb Faculty of Chemical Engineering and Technology

Structural features of stimulants (World Anti-Doping Agency List of prohibited substances, WADA 2016) and the impact of different substituents on their physico-chemical, pharmacological and toxicological properties were analyzed in correlation studies using molecular descriptors (MlogP, Mr, TPSA and V), topological indices (F, X, J, H, W, WW, Wp and Sz), drug-likeness scores (dls) computed for GPCR ligand (GPCR l-dls), ion channel modulator (ICM-dls), kinase inhibitor (KI-dls), nuclear receptor ligand (NRL-dls), protease inhibitor (PI-dls) and enzyme inhibitor (EI-dls), as well as ADMET parameters including predicted toxicological properties. Molecular descriptors were calculated using Molinspiration property engine v2014.11 and Molinspiration bioactivity score v2014.03 ([www.molinspiration.com](http://www.molinspiration.com)) while topological indices were computed by means of Chem Axon software ([www.chemicalize.org](http://www.chemicalize.org)). The ADMET properties

were predicted by MedChem Studio™ 4.0 and ADMET Predictor™ 8.0 (Simulations Plus, Inc., USA). All analysis were performed using OriginPro 8.0 software (Origin Laboratories, USA). Insignificant drug-likeness scores were computed for most investigated molecules, except for ICM-dls (fenbutrazate, N-methylephedrine, methylphenidate, oxilofrine, sibutramine and strichnine, 0.21–0.53), KI-dls and PI-dls for strichnine (0.56 and 0.21, respectively), and EI-dls (pemoline, 0.26). The results of QSAR studies revealed the following significant correlations: Mr vs. Platt index ( $r = 0.9536, y = 0, 2381x - 9.104$ ) and Mr vs. V ( $r = 0.9498, y = 0, 9022x + 2165$ ). According to ADMET Predictor analysis, these molecules are mostly either CYP substrates and/or CYP inhibitors. For investigated compounds the following toxicological parameters were also predicted: ADMET risk between 0.0 - 4.446, CYP risk 0.0 - 1.956 and TOX risk 0.0 - 3.446.

\*5th Croatian Congress of Toxicology with International Participation (CROTOX 2016), Poreč, Hrvatska



## PP7 Uloga topivih adhezijskih molekula sICAM i sVCAM u etiologiji i dijagnostici fibromialgije\*

### The Role of Soluble Adhesion Molecules sICAM and sVCAM in the Etiology and Diagnostics of Fibromyalgia

Isabella Koprivec<sup>1</sup>, Josipa Korman<sup>1</sup>, Karmela Barišić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Studij farmacije, FBF

<sup>2</sup>Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Fibromialgija je sindrom kojega karakteriziraju ukočenost zglobova, kronična bol koštano-mišićnoga sustava, kognitivne smetnje, anksioznost, umor te poremećaji sna i raspoloženja [1]. Budući da ne postoje simptomi specifični za fibromialgiju, postavljanje pravilne dijagnoze je otežano te se često donosi na temelju negativnih rezultata testova na druge bolesti. Novije studije ukazuju na moguću povezanost povišenih koncentracija topivih oblika adhezijskih molekula i različitih autoimunih, neuroloških i upalnih bolesti [2]. Uzevši u obzir moguće uloge upalnih i imunskih čimbenika u patofiziologiji fibromialgije te otežanu dijagnostiku, nužno je istražiti povezanost koncentracija adhezijskih molekula i fibromialgije te njihov potencijalni dijagnostički značaj. U ovom radu ispitano je postoje li razlike u koncentracijama topivih oblika međustanične adhezijske molekule-1 (sICAM-1, eng. soluble intercellular adhesion molecule-1) i vaskularne stanične adhezijske molekule-1 (sVCAM-1, eng. soluble vascular adhesion molecule-1) u serumu pacijenata i zdravih dobrovoljaca.

Istraživanje je obuhvatilo dvije ispitivane skupine, skupinu osoba oboljelih od fibromialgije te skupinu zdravih dobrovoljaca. Obje skupine obuhvatile su samo osobe ženskoga spola. Sva mjerenja izvršena su na spektrofotometru VICTOR3Wallac 1420 multilabel counter, proizvođača PerkinElmer Inc. Za mjerenje koncentracije adhezijskih molekula sICAM-1 i sVCAM-1 u serumu korišteni su komercijalno dostupni ELISA

test kompleti Human sICAM-1, odnosno Human sVCAM-1, proizvođača Abbexa Ltd. Princip određivanja koncentracije sICAM-1 i sVCAM-1 u serumu temelji se na imunokemijskoj sandwich-ELISA metodi.

Statističkom analizom uspoređivani su medijani koncentracija sICAM-1 i sVCAM-1 za skupinu pacijenata s fibromialgijom i skupinu zdravih dobrovoljaca. Iako su koncentracije sICAM-1 i sVCAM-1 u skupini osoba s fibromialgijom niže od istih u skupini zdravih dobrovoljaca, ta razlika nije statistički značajna (Mann-Whitney test (sICAM-1),  $p = 0.065$ ; Mann-Whitney test (sVCAM-1),  $p = 0.112$ ). Spearmanov test korelacije pokazao je za uzorke pacijenata s fibromialgijom da između koncentracija sICAM-1 i sVCAM-1 molekula postoji korelacija (koeficijent korelacije = 0,729;  $p < 0,050$ ). U skupini zdravih dobrovoljaca nije ustanovljena korelacija između koncentracija sICAM-1 i sVCAM-1 (Spearmanov koeficijent korelacije = 0,315;  $p = 0,0842$ ).

Može se zaključiti da opaženo sniženje koncentracija sICAM-1 i sVCAM-1 kod osoba oboljelih od fibromialgije u odnosu na zdrave dobrovoljce nije specifično za fibromialgiju. Za konačan zaključak trebalo bi nastaviti ovo istraživanje na većim skupinama ispitanika.

[1] E. Bellato, E. Marini, F. Castoldi, N. Barbasetti, L. Mattei, D. E. Bonasia, D. Blonna, *Pain Res Treat.* 2013;2013:960270.

[2] A. M. Witkowska, M. H. Borawska, *Eur Cytokine Netw.* 15(2) (2004) 91-98.

\*Rektorova nagrada za akademsku godinu 2015./2016.; 3. simpozij studenata kemičara, PMF u Zagrebu, 2017.





## Razvoj bioanalitičke metode za određivanje pirfenidona u serumu\*

### Bioanalytical Method Development for Determination of Pirfenidon in Serum Samples

PP8

Miranda Sertić, Ana Mornar, Petra Tremški, Biljana Nigović

*University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry*

Pirfenidone is a new anti-fibrotic drug for the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis (IPF), a fatal disease caused by the progressive scarring of the lungs, which makes breathing difficult. It prevents enough oxygen to the heart and other vital organs. The cause of IPF is unknown, it is unpredictable, but it will get worse.

Pirfenidone was first approved in Japan in 2008, and in EU by the European Medicines Agency in 2011. The mechanism of pirfenidone action is still not understood. It is believed to interfere with the production of Transforming Growth Factor-beta, a small protein involved in cell growth, and Tumor Necrosis Factor-alpha, a small protein involved in inflammation. However, interest around pirfenidone continues to grow, since it shows effectiveness in other disease models, such as renal failure, hepatic fibrosis, and cardiac fibrosis.

Optimization of the bioanalytical method was conducted using Synthetic Serum Substitute (Roche). Protein precipitation was

performed using acetonitrile (3:1). Analytical procedure was performed on an Agilent 1100 LC system, using an XBridge column 3.0 x 50 mm, 2.5  $\mu\text{m}$  (Waters) with a guard column. Different mobile phase compositions were tested, and acetonitrile:water = 60:40 with a flow rate of 0.4 mL was chosen as optimum. Two detectors were employed, DAD detector at 225 nm wavelength, and electrospray ionization – ion trap mass detector. ESI-MS<sup>n</sup> operating conditions were as follows: positive ESI-ion mode, capillary voltage 3.5 kV, source temperature 350 °C, nebulizer gas nitrogen 15 psi, 10 L/h, collision energy of helium 30%, ions scanning 10-600  $m/z$ , numbers of ions accumulated 10000, accumulation time 200 ms. Total run time was 6 min. The linearity of the method was in the range of 0.001-1.0 mg/mL, with a correlation coefficient of  $R^2 = 0.999$ . Since biological samples are considered as complex matrices, the mass detector gave the necessary selectivity as well as sensitivity of the method.

\*XI. Susret mladih kemijskih inženjera, Zagreb, Hrvatska, 2016.



**PP9 Ultrazvučna ekstrakcija vs. QuEChERS ekstrakcija: određivanje pirfenidona u hrani za glodavce\***  
**Ultrasonic Extraction vs. QuEChERS Approach: Determination of Pirfenidon Drug in Normal Chow**

Miranda Sertić, Ana Mornar, Martina Švarc

*University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry*

Instrumental analysis techniques develop exponentially; however, extraction procedures in many laboratories are still very simple and old-established. It is only in the past few years that the extraction technology has been recognized as a crucial part of analysis. The goal of extraction procedure is to isolate analytes from the potentially interfering matrix and getting the analytes in a form suitable for analysis. For this purpose different sample preparation techniques can be employed, such as: liquid-liquid extraction, solid-phase microextraction, solid-liquid extraction, exclusion chromatography, ultrasonic extraction, supercritical fluid extraction and QuEChERS. QuEChERS is a sample preparation technique intended for food analysis, developed by FDA and EU Food Regulatory Agencies. It provides a ready to use kit and a fast solution for different analytes and matrixes. Interference from lipids is a problem for measuring trace residues in fatty foods or complex biological matrices. Lipids can build up in the instrument

and column, decrease lifetime and reduce analyte sensitivity due to ion suppression. Hence a new Agilent Enhanced Matrix Removal-Lipid, a new sample preparation type, is a part of lipid QuEChERS procedure which uses a unique sorbent that selectively removes lipids in complex matrices. This procedure was compared to a simple ultrasonic extraction using methanol:water = 50:50 as an extraction solvent for the extraction and determination of a drug pirfenidone in normal chow.

The results indicated that both QuEChERS procedure and ultrasonic extraction gave similar extraction recoveries and quantification results for pirfenidone in normal chow. However, QuEChERS extraction approach is more selective and solvent saving. Its effectiveness is even more prominent when normal chow and other feedstuff containing higher lipid levels is to be analysed.

\*XI. Susret mladih kemijskih inženjera, Zagreb, Hrvatska, 2016.



## Usporedba tehnika pripreme uzoraka ekstrakcija tekuće-tekuće i QuEChERS za procijenu sastava polifenola u maslinovom ulju\*

### Comparison of Liquid-Liquid Extraction and QuEChERS Sample Preparation Techniques for Evaluation of Polyphenol Content in Olive Oil Samples

PP10

Ana Mornar<sup>1</sup>, Miranda Sertić<sup>1</sup>, Iva Marinac-Anđić<sup>1</sup>, Daniela Amidžić Klarić<sup>2</sup>, Ilija Klarić<sup>3</sup>

<sup>1</sup>University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

<sup>2</sup>Clinical Hospital Dubrava

<sup>3</sup>Public Health Brčko DC, Bosnia and Herzegovina

Food quality and safety assessments are the main issues that modern food industries are required to fulfill in their production chains, being these properties directly correlated to the claims of a holistic nutrition representing the fundamentals of a healthy balanced diet. Consumption of extra virgin olive oil within the Mediterranean diet has been long known to have many health benefits due to presence of monounsaturated fatty acids and multiple minor components such as polyphenols. The presence of active compounds in oil depends on many factors such as olive cultivar, tree cultivation and the operations of olive picking, storage and processing. Therefore, the continual evaluation of olive oil quality is essential. For analysts the olive oil is one of the most difficult food matrices due to the high fat content. The determination of active or toxic ingredients by chromatography techniques requires the complete removal of the high-molecular-mass fat from the sample. Therefore, sample preparation is a crucial step in the analytical procedure since even small amount of lipids can harm instruments,

columns or cause signal suppression or signal reduction in mass spectrometry. Most of sample preparation procedures currently applied in olive oil analysis are based on fat acids clean up or analyte extraction, which represents much analysis time and is typically bottleneck of the analytical procedure. This work is focused on the outlay of a sample preparation strategy based on miniaturized liquid-liquid extraction and QuEChERS for effective lipid removal and evaluation of polyphenol content. The determination of polyphenols was performed using the colorimetric assay based on the reaction of Folin-Ciocalteu reagent. The calibration curve was constructed using standard solution of gallic acid within the range of 0.4-10 µg/mL ( $r^2=0.98$ ). The total phenolic content found in investigated sample was 89.6 mg/kg [GAeq]. Slightly lower amounts were obtained using several QuEChERS procedures. The overall results sufficiently demonstrate superior lipid removal by QuEChERS procedure but also partial loss of some lipophilic polyphenolic compounds.

\*XI. Susret mladih kemijskih inženjera, Zagreb, Hrvatska, 2016.



## PP11 Nova MEKC metoda za analizu feboksostata i njegovih onečišćenja u gotovim ljekovitim oblicima\*

### A New MEKC Method for Analysis of Febuxostat and Its Impurities in Pharmaceuticals

Marina Galović, Emanuela Jug, Miranda Sertić, Ana Mornar, Biljana Nigović

*Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet*

Febuksostat je nepurinski, selektivni inhibitor enzima ksantin oksidaze. To je novi lijek koji predstavlja alternativu alopurinolu za liječenje hiperuricemije i gihta, česte i potencijalno vrlo progresivne bolesti ukoliko se ne liječi. Dugoročne komplikacije gihta su oštećenja zglobova koja nastaju uslijed nakupljanja kristala urata, uz povremenu i trajnu ukočenost zglobova, stvaranje bubrenih kamenaca, stvaranje tofa na prstima te kronična gihtična bubrežna bolest. Budući da je riječ o novijem lijeku, registriranom u EU 2008. godine, te u SAD 2009. godine, lijek još nema službenu farmakopejsku monografiju. Stoga je razvoj novih analitičkih metoda za njegovu identifikaciju, određivanje sadržaja i praćenje onečišćenja iznimno važno.

Predložena je prva kapilarnoelektroforetska metoda za istovremenu analizu feboksostata i njegova tri onečišćenja, etilnog estera feboksostata, feboksostat amida i etoksikarbonil feboksostata. Najvećim izazovom pokazala se analiza teško topljivog amida feboksostata. Tijekom razvoja metode, optimizacija je uključivala izbor optimalnog otapala kao i sastava radnog pufera. Preliminarna ispitivanja

uključivala su organska otapala metanol, etanol, acetonitril, dimetilsulfoksid, dimetilformamid, kao i surfaktante triton i alfa-ciklodekstrin, dodane u otopinu radnog pufera. Amid feboksostata otopljen je u optimalnom otapalu sastava: dimetilformamid uz dodatak smjese acetonitril:voda = 50:50, u omjeru 4:6. Ostali analiti su bili otopljeni u acetonitrilu, dok je paravastatin, kao unutrašnji standard, otopljen u vodi. Uspješno razdvajanje sva četiri analita i pravastatina kao unutrašnjeg standarda postignuto je primjenom 20 mM boratnog pufera i 50 mM SDS kao radnog pufera. Također je ispitan utjecaj napona i temperature tijekom analize, a optimalni uvjeti iznosili su 30 kV i 25 °C. Korištena je kapilara duljine 35 cm (27 cm do detektora), unutrašnjeg promjera 50 μm. Optimalna valna duljina detekcije za sve analite, a uz što manji šum bazne linije, iznosila je 225 nm. Pri ovim uvjetima, vrijeme analize feboksostata i tri onečišćenja iznosilo je manje od 2 min uz dobro razlučivanje ( $R_s > 3,2$ ). Metoda je uspješno primijenjena za analizu komercijalno dostupnih tableta feboksostata.

\*XI. Susret mladih kemijskih inženjera, Zagreb, Hrvatska, 2016.



**Primjena metode površine odgovora za optimizaciju ultrazvučne ekstrakcije flavonoida iz vrste Žuti zvjezdan (*Lotus corniculatus* L.)\***  
**Response Surface Methodology for Optimization of the Ultrasonic Extraction of Flavonoids from *Lotus Corniculatus* L.**

Barbara Fumić, Marijana Zovko Končić

*University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry*

*Lotus corniculatus* L., Fabaceae (bird's-foot trefoil), is a perennial herbaceous plant species, wide spread in temperate regions of Europe, Asia and America [1]. In this work *L. corniculatus* was investigated as a cheap and widely available source of flavonoids and other phenols with potential use as food supplements. For efficient extraction of the desired compounds, ultrasonic-assisted extraction procedure was optimized using Box–Behnken design. The independent variables were: ethanol concentration ( $X_1$ ), temperature ( $X_2$ ), and extraction solvent pH ( $X_3$ ), while the responses were yield of the extraction (Y), DPPH radical scavenging activity of the extracts (RSA  $IC_{50}$ ), content of total phenols (TP), total flavonoids (TF) and total phenolic acids (TPA) which were analysed spectrophotometrically. Concentration of individual flavonoids in the obtained extracts was determined using HPLC-DAD. Response-surface methodology was used to find the relationship between dependent and independent variables. The selected quadratic modelshad  $r^2$  values over 0.9. The most important extraction variable was  $X_1$  which had a significant ( $P < 0.05$ ) effect on Y, TP and TF, both as a linear and quadratic term.

Furthermore, it influenced TPA but only as quadratic term. RSA  $IC_{50}$ , on the other hand, was influenced by pH, temperature as well as their interaction. Taking into consideration only the statistically significant extraction variables it was found that TP and TPA were best extracted using 45 % ethanol, whereas 95 % ethanol was more appropriate for TF extraction. Lowest RSA  $IC_{50}$  was achieved at 60 °C and pH 7. The main flavonoids in the extracts were glycosides of flavonols quercetin and kaempferol, as well as glycosides of isoflavone genistein. However, even though phenolic compounds are reputed antioxidants [2], the lack of correlation between RSA  $IC_{50}$  and the other investigated responses indicates that the other components play crucial role in the observed antiradical activity.

[1] Sánchez M, Ramírez-Bahena M-H, Peix A, Lorite MJ, Sanjuán J, Velázquez E, Monza J. *Phyllobacterium loti* sp. nov. isolated from nodules of *Lotus corniculatus*. *Int J Syst Evol Microbiol* 2014; 64: 781-786

[2] Solanki I, Parihar P, Mansuri ML, Parihar MS. Flavonoid-based therapies in the early management of neurodegenerative diseases. *Adv Nutr* 2015; 6: 64-72

\*9th Joint Natural Products Conference, Copenhagen, Denmark, 2016



**PP13 Optimizacija ultrazvučne ekstrakcije bioaktivnih sastavnica vrste *Medicago sativa* L. : utjecaj ekstrakcijskog otapala, temperature i pH\***  
**Optimization of Ultrasonication Assisted Extraction of Bioactive Components from *Medicago Sativa*: Influence of Extraction Solvent, Temperature and pH**

Barbara Fumić, Mario Jug, Marijana Zovko Končić

*University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry*

*Medicago sativa* L., Fabaceae (alfalfa or lucerne), is a perennial herbaceous plant species that has a long history of medicinal and nutritional use in Europe, Asia and America. It is assumed that its medicinal properties are mostly based on the content of phenolic compounds, among which isoflavones play an especially prominent role. Ultrasonic-assisted extraction (UAE), an inexpensive, rapid, simple and efficient technique, was used for extraction of isoflavone and other antioxidant compounds from aerial parts of *Medicago sativa* L., Fabaceae. The procedure was performed according to a three-level-three-factor Box–Behnken design. The independent variables were ethanol concentration ( $X_1$ ), temperature ( $X_2$ ), and extraction solvent pH ( $X_3$ ), while the responses were yield of the extraction, DPPH radical scavenging activity of the extracts (RSA IC50), content of total phenols (TP), total flavonoids (TF), total phenolic acids (TPA) and total isoflavonoids (TI). Concentration of isoflavones in the obtained extracts was determined using HPLC while the other responses were determined spectrophotometrically. The results were

analysed using response surface methodology. By applying multiple regression analysis on the experimental data and by analysis of variance (ANOVA) for the selected models it was shown that the relationship between dependent and independent variables can best be described with quadratic models. In addition, each of the independent variables, as well as their interactions, had a significant ( $P < 0.05$ ) effect on at least one of the selected responses. The response values of extracts prepared at optimum conditions (response,  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ) were: yield (162 mg/ml, 20%, 60°C, 5.5), TI (236.5 mg/ml, 0%, 35°C, 8.5) TP (6.63 mg/ml, 100%, 60°C, 5.5) TF (0.292 mg/ml, 100%, 23°C, 5.5) TPA (0.275 mg/ml, 100%, 23°C, 8.5) and RSA IC50 (3.97 mg/ml, 40%, 60°C, 7.0). In addition, it was found that the most abundant isoflavones in *M. sativa* were glycosides of formononetin (5.7–206.1 µg/ml) and genistein (2.5–37.3 µg/ml). The predicted values matched well with the observed ones indicating the suitability of the models for extraction of bioactive compounds from *M. sativa*.

\*9th Joint Natural Products Conference, Copenhagen, Denmark, 2016





## Kvantitativna analiza flavonoida u listovima matičnjaka - *Melissa officinalis* L.\*

PP14

### Quantitative Determination of Flavonoids in the Leaves of Lemon Balm - *Melissa Officinalis* L.

Željani Maleš<sup>1</sup>, Katarina Žunić<sup>1</sup>, Valentina Suban Jakuš<sup>2</sup>, Mirza Bojić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry

<sup>2</sup>Suban d.o.o.

Medicinal properties of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) have been known for centuries in Europe and the wider Mediterranean area. In Croatia, use of lemon balm as a medicinal plant begun under the influence of German monasteries during the Middle Ages. Anti-depressant, antidiabetic, cardioprotective and antimicrobial properties have been investigated in numerous studies. Polyphenols, including flavonoids, are considered to be the main components responsible for pharmacological activity.

The objective of this work was to determine the total content of flavonoids using spectrophotometric method by Christ and Müller [1]. In this method flavonoids are determined as aglycones after hydrolysis in a complex with Al<sup>3+</sup>. Quantity of flavonoids in each sample was determined in triplicates and obtained results were expressed as mean value with standard deviation.

The highest flavonoid content of 0.42±0.01% was found in leaves collected from the Pharmaceutical Botanical Garden "Fran Kušan" (2016) while the lowest one of 0.14±0.01% was detected in leaves from Našice (2014). These result correlate with content of rosmarinic acid and previously reported antiaggregatory effect *Melissa officinalis* leaf extracts [2]. Results vary between herbal drugs collected in different years and on different locations and are highly susceptible to weather conditions, heat, humidity, plant pathogens, air quality, etc.

[1] Ž. Maleš, M. Plazibat, V. Bilušić Vundać, I. Žuntar, Acta Pharm. 56 (2006) 245-250.

[2] Ž. Maleš, A. Antolić, I. Babić, S. Jurić, M. Bojić. Nat Prod Commun 12 (2017) 93-94.

KLJUČNE RIJEČI: *flavonoidi, spektrofotometrija, matičnjak*

KEYWORDS: *flavonoids, spectrophotometry, lemon balm*

\*25. Hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera s međunarodnim sudjelovanjem, Poreč, Hrvatska, 2017.



## PP15 Optimizacija mikrovalno potpomognute ekstrakcije polifenola iz komine masline\*

### Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Polyphenols from Olive Pomace

Sanja Jurmanović<sup>1</sup>, Toni Safner<sup>2</sup>, Kristina Radić<sup>1</sup>, Martina Teskera<sup>1</sup>, Ana-Marija Domjan<sup>1</sup>, Dubravka Vitali Čepo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

<sup>2</sup>University of Zagreb Faculty of Agriculture

Olive pomace (OP) is a solid residue that is lagging behind in the production of olive oil. It contains various biologically active polyphenols (PP), primarily hydroxytyrosol (HTS), oleuropein (OLE), and tyrosol (TS) [1]. The potential of OP as the starting raw material for obtaining PP is not even close to fully utilized. The main reason is unavailability of adequate methods for the isolation of PP which leads to poor quality of obtained extracts being unsuitable for further testing and processing. The aim of this study was to develop and optimize environmentally and economically acceptable ("green") microwave-assisted extraction (MAE) for obtaining high-quality extracts in terms of total phenolic content (TPC) and the content of hydroxytyrosol derivatives (the sum of tyrosol, hydroxytyrosol and oleuropein) representing the main bioactive fraction of OP.

Fast and simple MAE has been proposed as an alternative to conventional (solid-liquid) extraction in water-bath and ultrasound-assisted extraction (UAE). For MAE optimization Full Factorial (FF) design was used for studying the effects of three independent factors: 1) extraction solvent (20 – 96% ethanol); 2) microwave power

(400 – 700 W); and 3) time of extraction (1 – 10 min). TPC was determined using Folin-Ciocalteu method [2]. HPLC coupled with fluorescent detector was used for the separation and quantification of analytes, hydroxytyrosol derivatives.

Our results indicate that all analysed factors (microwave power, extraction time and concentration of ethanol) and their interactions had significant influence on TPC and the content of hydroxytyrosol derivatives. The highest yields of both, PP and hydroxytyrosol derivatives were obtained with the microwave power of 700 W, extraction time of 10 minutes, and 20% ethanol. In comparison to yields obtained under optimum conditions of UAE and conventional extraction [3], MAE was found to be superior method, requiring shorter extraction time and showing better efficiency.

[1] P. Albahari, L. Vujić, G. Filipović Grčić, J. Jablan, D. Vitali Čepo. Antalija, 2015 (poster)

[2] V. L. Singleton, J. A. Rossi. *Am. J. Enol. Vitic.*, 16 (1965) 144–158.

[3] A. Tsarbopoulos, E. Gikas, N. Papadopoulos, N. Aligiannis, A. Kafatos. *J. Chromatogr. B*, 785 (2003) 157–164.

\*25. Hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera s međunarodnim sudjelovanjem, Poreč, Hrvatska, 2017.





## Pilot istraživanje o učincima pripravaka morskog ulja u modelu iritacijskog kontaktnog dermatitisa\*

PP16

### Effects of Sea Oil Formulations in Human Irritant Contact Dermatitis Model (Pilot Study)

Dario Leskur<sup>1</sup>, Josipa Bukić<sup>1</sup>, Ana Petrić<sup>1,2</sup>, Lovre Zekan<sup>1,2</sup>, Doris Rušić<sup>1</sup>, Lea Kukoč-Modun<sup>3</sup>, Darko Modun<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište u Splitu Medicinski fakultet

<sup>2</sup>Ljekarna Splitsko-dalmatinske županije

<sup>3</sup>Sveučilište u Splitu Kemijsko-tehnološki fakultet

Morska voda i minerali mora se koriste u brojnim kozmetičkim pripravcima, od kojih su najpoznatiji oni temeljeni na mineralima Mrtvog mora. Provedena klinička ispitivanja su ukazala na određeno poboljšanje kože u upalnim kožnim bolestima nakon topikalne primjene takvih pripravaka. Istraživanja upućuju da bi prikazani učinci mogli biti povezani sa sadržajem magnezija [1].

Morsko ulje je sekundarni proizvod nastao tijekom postupka proizvodnje morske soli iz Jadranskog mora. Radi se o koncentriranoj otopini bogatoj magnezijevim solima i sastava usporedivog sa sastavom Mrtvog mora [2]. Iz toga proizlazi potencijal sličnog korisnog djelovanja na kožu. Provedene analize su potvrdile da ne sadrži, naftu i naftne derivate, toksine, teške metale ni mikroorganizme čime se omogućava primjena morskog ulja kao sirovine u izradi topikalnih pripravaka. Cilj rada je ispitati učinke pripravaka morskog ulja na popravak oštećenja kože u humanom modelu iritacijskog kontaktnog dermatitisa (ICD).

Planirano je dvostruko slijepo, randomizirano, placebom kontrolirano kliničko ispitivanje. Zdravim ispitanicima će se izazvati iritacija natrijevim laurilsulfatom prema standardiziranom modelu ICD u skladu sa smjericama Europskog društva za kontaktni

dermatitis [3]. Na mjestima iritacije će se dnevno primjenjivati pripravci morskog ulja i kontrole. Učinak intervencije će biti mjereno svakodnevno koristeći referentni uređaj za objektivna mjerenja parametara kože: transepidermalnog gubitka vlažnosti, hidracije i eritema. Mjerenja će se izvoditi u kontroliranim uvjetima u skladu sa smjericama.

Pripravci morskog ulja i standarda magnezija su pokazali bolji učinak na poboljšanje hidracije i smanjenje eritema kože u odnosu na kontrolu. Također, standard magnezija je doveo do izraženijeg smanjenja transepidermalnog gubitka vlažnosti. Dobivena razlika nije bila statistički značajna.

Relativni pozitivni učinak morskog ulja i magnezija na parametre kože ukazuje na potencijal korisnog djelovanja. Za pronalaženje statistički značajne razlike i potvrdu učinka potrebno je provesti studiju s više uključenih ispitanika.

[1] N. C. Chandrasekaran, C. Weir, S. Alfraji, J. Grice, M. S. Roberts, R. T. Barnard, *Exp Biol Med* 10 (2014) 1280-1291.

[2] D. Modun, L. Kukoč-Modun, Z. Grubač, 8th Croatian Congress of Pharmacology with international participation Book of abstracts (2016) 91.

[3] R. A. Tupker, C. Willis, E. Berardesca, C. H. Lee, M. Fartasch, T. Agner, et al., *Contact dermatitis* 37 (1997) 53-69.

\*2. hrvatski kongres kliničke farmacije, Zagreb, Hrvatska, 2017.



## PP17 Morsko ulje i alergijski kontaktni dermatitis\* Sea Oil and Allergic Contact Dermatitis

Josipa Bukić<sup>1</sup>, Dario Leskur<sup>1</sup>, Ana Petrić<sup>1,2</sup>, Lovre Zekan<sup>1,2</sup>, Doris Rušić<sup>1</sup>, Lea Kukoč-Modun<sup>3</sup>, Darko Modun<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište u Splitu Medicinski fakultet

<sup>2</sup>Ljekarna Splitsko-dalmatinske županije

<sup>3</sup>Sveučilište u Splitu Kemijsko-tehnološki fakultet

Ljekarnik se u svome svakodnevnom radu susreće s velikim brojem pacijenata koji dolaze potražiti pomoć zbog kožnih alergijskih reakcija. Pacijenti traže savjet ljekarnika vezano uz pripravak koji bi im brzo i učinkovito olakšao simptome. Novi terapijski pristupi mogli bi dodatno poboljšati skrb o bolesnicima. Mineral magnezij inhibira antigen prezentirajuću sposobnost Langerhansovih stanica koje su uključene u alergijski odgovor te time iskazuje potencijal za korištenje u smanjenju simptoma alergije [1]. Dosadašnja su ispitivanja soli magnezija Mrtvog mora pokazala pozitivne učinke u pacijenata sa psorijazom, atopijskim dermatitisom i pelenskim osipom.

U studiji je korišten model alergije na nikal, koji se rutinski koristi u ispitivanju djelotvornosti lijekova na simptome kožne alergije [2]. Nikal, kao jedan od najčešćih alergena, se primijenio u obliku 5% otopine u vazelinu na Finnovoj komori koja se stavljala na kožu pacijenata s otprije poznatom preosjetljivosti na nikal. Komora se ostavila 48 sati te su se nakon skidanja mjerile vrijednosti transepidermalnog gubitka vlage, eritema i hidracije kože (uređaj Multi Probe Adapter, Courage+Khazaka electronic GmbH, Cologne,

Njemačka). Mjerenja su ponavljana svaki dan tijekom 5 dana, a nakon svakog mjerenja se pacijentima nanosilo pripravke koji sadrže otopinu minerala (takozvano morsko ulje) podrijetlom iz Jadranskog mora [3].

Morsko ulje je pokazalo bolji učinak na smanjenje eritema kože u odnosu na kontrolu. Učinak je bio podjednak učinku standarda magnezija. Osim crvenila mjereno je i transepidermalni gubitak vlage te hidracija kože, no rezultati mjerenja nisu pokazali značajnu razliku između morskog ulja, standarda magnezija i kontrole.

Rezultati daju naslutiti da morsko ulje ima određeni zaštitni učinak na smanjenje simptoma alergije. Obzirom da je pripravak s morskim uljem imao podjednake rezultate kao i pripravak s jednakom količinom magnezija, može se pretpostaviti da je za učinak morskog ulja odgovoran magnezij.

[1] C. M. Schempp, H. C. Dittmar, D. Hummler, B. Simon-Haarhaus, J. Schulte-Monting, E. Schopf et al., *J Invest Dermatol.* 4 (2000) 680-686.

[2] H. Zhai, Y. C. Chang, M. Singh, H. I. Maibach, *Contact dermatitis* 4 (1999) 205-208.

[3] D. Modun, L. Kukoč-Modun, Z. Grubač, 8th Croatian Congress of Pharmacology with international participation (2016) 91.

\*2. hrvatski kongres kliničke farmacije, Zagreb, Hrvatska, 2017.



## Stavovi i znanja studenata farmacije i medicine o antimikrobnoj rezistenciji\*

PP18

### Attitudes and Knowledge Regarding Antimicrobial Resistance among Pharmacy and Medical Students

Doris Rušić<sup>1</sup>, Joško Božić<sup>1</sup>, Josipa Bukić<sup>1</sup>, Dario Leskur<sup>1</sup>, Marino Vilović<sup>1</sup>, Piero Marin Živković<sup>2</sup>, Darko Modun<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište u Splitu Medicinski fakultet

<sup>2</sup>Klinički bolnički centar Split

Antimikrobna rezistencija je jedna od vodećih prijetnji globalnom zdravlju stanovništva ovog stoljeća i glavni je čimbenik rasta zdravstvenih troškova širom svijeta, a među glavne uzroke rezistencije se ubraja zloraba antimikrobnih lijekova [1]. Budući liječnici, odnosno studenti završnih godina medicine trebaju biti spremni na savjesno korištenje antimikrobnih lijekova i zajedno s farmaceutima imaju važnu ulogu u nastojanju da se ograniči rast i širenje rezistencije na antimikrobnu terapiju [2].

Svrha istraživanja je utvrditi stavove i znanja studenata završnih godina studija medicine i farmacije o antimikrobnoj terapiji i rezistenciji te procijeniti zadovoljstvo studenata dosadašnjim obrazovanjem na spomenute teme.

Stavovi i znanja studenata o antimikrobnoj terapiji i rezistenciji ispitivani su prilagođenim anketnim upitnikom Abooa i sur. [3] kojeg je sačinjavalo ukupno 50 pitanja podijeljenih u 7 skupina (demografski podatci i stavovi, izvori učenja, teme formalnih predavanja o antimikrobnoj rezistenciji, uzroci rezistencije, te zadovoljstvo obrazovanjem i znanje o antimikrobnoj rezistenciji). Ispitanici su bili studenti završnih godina studija medicine i farmacije Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu.

Upitnik je ispunio 161 student, od čega 46 studenata Studija farmacije, 78 studenata Studija medicine i 37 studenata Studija medicine na engleskom jeziku. Ukupno 146 (90,7%) studenata smatra da se antimikrobni

lijekovi prekomjerno koriste, a 145 (90,0%) se složilo da će bolja uporaba antimikrobnih lijekova smanjiti problem rezistentnih organizama. Čak 141 (87,5%) student smatra da će antimikrobna rezistencija biti veći problem kasnije u njihovoj profesionalnoj karijeri nego je danas. U procjeni znanja o antimikrobnoj rezistenciji (0 - 6) nije pronađena statistički značajna razlika u prosječnom zbiru među studentima farmacije i medicine (studenti farmacije  $4,28 \pm 0,83$ ; studenti medicine  $4,07 \pm 0,95$ ;  $P=0,187$ ). Općenito su studenti s postignutim višim prosječnim zbirom u procjeni znanja bili zadovoljniji dosadašnjim obrazovanjem o pravilnoj antimikrobnoj terapiji i o antimikrobnoj rezistenciji ( $P=0,003$ ).

Studenti su općenito svjesni problema antimikrobne rezistencije i vjeruju da će rezistencija predstavljati sve veći problem u njihovoj karijeri, stoga predlažemo da se u obrazovanju dodatno razvija suradnja liječnika i farmaceuta u nastojanju ispravnog korištenja antimikrobnih lijekova.

[1] Wang XM, Zhou XD, Hesketh T. Massive misuse of antibiotics by university students in China: a cross-sectional survey. *Lancet* 2016;388:S94.

[2] Allison DG, Higginson P, Martin S. Antibiotic resistance awareness: a public engagement approach for all pharmacists. *Int J Pharm Pract* 2017;25:93-96.

[3] Abbo LM, Cosgrove SE, Pottinger PS i sur. Medical students' perceptions and knowledge about antimicrobial stewardship: how are we educating our future prescribers? *Clin Infect Dis* 2013;57:631-638.

\*2. hrvatski kongres kliničke farmacije, Zagreb, Hrvatska, 2017.



## PP19 Terapijski problemi u hospitaliziranih osoba starije životne dobi\* Drug Therapy Problems in Elderly Hospitalized Patients

Josipa Radonić<sup>1</sup>, Iva Mucalo<sup>1</sup>, Ivana Marinović<sup>2</sup>, Vesna Bačić Vrca<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>KB Dubrava

Terapijski problem (TP) definiran je kao nepoželjan događaj ili iskustvo bolesnika, koji uključuje, ili se sumnja da uključuje, terapiju te koji ometa postizanje željenih terapijskih ishoda [1]. Pojam starije životne dobi u literaturnim podacima nije definiran jednoznačno te je većina razvijenih zemalja kao definiciju starije životne dobi prihvatila kronološku dob od 65 i više godina [2]. Zbog višestrukih komorbiditeta i posljedične politerapije te izmijenjenih farmakodinamičkih i farmakokinetičkih karakteristika lijekova u ove skupine bolesnika, osobe starije životne dobi su pod povećanim rizikom od nuspojava te imaju značajno veći broj TP-a.

Svrha rada bila je identificirati i odrediti učestalost terapijskih problema u osoba starije životne dobi tijekom hospitalizacije, korištenjem sedam osnovnih kategorija terapijskih problema definiranih od strane Cipolle i suradnika [1]. Provedeno istraživanje bilo je dizajnirano kao presječno i opservacijsko, a provodilo se u razdoblju od listopada 2014. do travnja 2016. godine na Klinici za unutarnje bolesti Kliničke bolnice Dubrava. Za svakog hospitaliziranog bolesnika tijekom prijema u bolnicu prikupljena je medikacijska povijest, podaci o adhezenciji, nuspojavama, komorbiditetima te osnovni laboratorijski nalazi. Izvori podataka prikupljeni su iz medicinske dokumentacije, temperaturne liste te razgovorom s ispitanicima, a prema potrebi i od nadležnog liječnika obiteljske medicine ili člana rodbine. Odobrenje za provedbu ovog istraživanja

dobiveno je od Etičkog povjerenstva Kliničke bolnice Dubrava.

U istraživanje su bila uključena 273 ispitanika prosječne životne dobi  $74,0 \pm 6,3$  godine (raspon 65-92) koji su u prosjeku uzimali  $7,8 \pm 3,2$  lijekova (raspon 1-17) te imali  $7,5 \pm 2,9$  dijagnoza (raspon 2-17). Identificirana su 652 TP. Broj terapijskih problema po bolesniku iznosio je  $2,4 \pm 1,8$ . Najviše TP-a utvrđeno je u kategoriji INDIKACIJA – potreba za uvođenjem dodatne terapije ( $n = 226$ ), nakon čega su uslijedili TP-i iz kategorija SURADLJIVOST ( $n = 108$ ), UČINKOVITOST – neučinkovit lijek ( $n = 89$ ) te INDIKACIJA – nepotrebna terapija ( $n = 85$ ). Ustanovljeno je da su potreba za prevencijom (18,3%), problemi suradljivosti (16,6%) i neliječeno stanje (10,3%) najčešći TP-i.

Koristeći kategorizaciju TP-a Cipolle i suradnika, otkriven je visok postotak TP-a u osoba starije životne dobi. Stoga postoji potreba da se ljekarnici kao ravnopravni članovi multidisciplinarnog zdravstvenog tima aktivno uključe u njihovu identifikaciju i rješavanje, a sve kako bi se olakšalo postizanje željenih terapijskih ishoda i poboljšala kvaliteta zdravstvene skrbi bolesnika.

[1] R. J. Cipolle, P. C. Morley, L. M. Strand, Drug therapy problems, u *Pharmaceutical care practice: The patient-centered approach to medication management*, The McGraw-Hill Companies, New York, 2012, 141 – 182.

[2] World Health Organization - World report on health and ageing 2015., <http://www.who.int/en/>, pristupljeno 12. 3. 2017.

\*2. hrvatski kongres kliničke farmacije, Zagreb, Hrvatska, 2017.



## Terapijski problemi u hospitaliziranih bolesnika koji boluju od astme i KOPB-a\*

PP20

### Drug Therapy Problems in Hospitalized Patients with Asthma and COPD

Iva Perković<sup>1</sup>, Iva Mucalo<sup>1</sup>, Ivana Marinović<sup>2</sup>, Vesna Bačić Vrca<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>KB Dubrava

Astma i kronična opstruktivna plućna bolest (KOPB) su kronične bolesti dišnih puteva velike globalne prevalencije i značajnog udjela u zdravstvenim troškovima. Uz to, nepravilna upotreba lijekova kao česti uzrok suboptimalne kontrole astme [1] te kompleksnost liječenja KOPB-a [2] upućuju na potrebu aktivnijeg uključivanja ljekarnika u proces skrbi za oboljele od tih bolesti.

Utvrđivanje učestalosti i vrste terapijskih problema u hospitaliziranih pacijenata s astmom, KOPB-om i sindromom preklapanja astme i KOPB-a (ACOS-om).

Retrospektivno opservacijsko istraživanje provedeno je na Klinici za unutarnje bolesti Kliničke bolnice Dubrava u razdoblju od listopada 2014. do travnja 2016. godine. Uključni kriteriji bili su: 1) postavljena dijagnoza astme, KOPB-a ili ACOS-a, 2) najmanje jedan lijek u terapiji pri otpustu te 3) potpisan Informirani pristanak. Za svakog bolesnika prikupljeni su podaci o terapiji, komorbiditetima, nuspojavama, alergijama, adherenciji i životnim navikama te laboratorijski nalazi. Podaci su se prikupljali razgovorom s ispitanicima te uvidom u njihovu medicinsku dokumentaciju. Kategorizacija prema Cipolleu i suradnicima [3] bila je temelj identifikacije terapijskih problema, a u analizu su bile uključene X i D interakcije pretraživane u programu Lexi-Interact. Etičko povjerenstvo Kliničke bolnice Dubrava odobrilo je provedbu ovog istraživanja.

U istraživanje je bilo uključeno 55 ispitanika prosječne životne dobi 66 godina (raspon

30 - 82 godine) koji su u prosjeku koristili 10,6 lijekova (raspon 4 do 19) i bolovali od 8,2 komorbiditeta (raspon 3 - 20). Najviše je ispitanika imalo KOPB ( $n = 42$ ), nakon čega su uslijedili astma ( $n = 10$ ) i ACOS ( $n = 3$ ). U 94,5% ispitanika je utvrđeno ukupno 238 terapijskih problema, s prosjekom od  $4,3 \pm 3,0$  terapijska problema po ispitaniku. Najviše je terapijskih problema svrstano u kategoriju „potreba za uvođenjem dodatne terapije“ (24,4%) te „preniska doza“ (19,8%). S astmom i KOPB-om bilo je povezano 45,0% terapijskih problema, najčešće u kategoriji „potreba za uvođenjem dodatne terapije“ te „nuspojave“, dok su na drugom mjestu uslijedili kardiovaskularni komorbiditeti odgovorni za 26,1% ukupnog broja terapijskih problema. Dodatno, tek polovina identificiranih X i D interakcija definirana je kao terapijski problem, i to najčešće u kategoriji nuspojava.

Izrazito visoka učestalost terapijskih problema ukazuje na veliku potrebu za poboljšanjem skrbi bolesnika s astmom i KOPB-om u čemu bi ljekarnici mogli ponuditi jedinstveni doprinos.

[1] V. Garcia-Cardenas, C. Armour, S.I. Benrimoj, F. Martinez-Martinez, I. Rotta, F. Fernandez-Llimos, *Eur. Respir. J.* 47 (2016) 1134-1143.

[2] T. van der Molen, J.F. van Boven, T. Maguire, P. Goyal, P. Altman, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 83 (2017) 192-201.

[3] R.J. Cipolle, P.C. Morley, L.M. Strand, *Pharmaceutical Care as the Professional Practice for Patient-Centered Medication Management Services*, The McGraw-Hill Companies, New York, 2012.

\*2. hrvatski kongres kliničke farmacije, Zagreb, Hrvatska, 2017.





## PP21 Upravljanje farmaceutskim otpadom u ljekarnama Zagreba\* Pharmaceutical Waste Management in Pharmacies in Zagreb

Marija Bošnjak<sup>1,2</sup>, Ivan Bošnjak<sup>3</sup>, Domagoj Drmić<sup>3</sup>

<sup>1</sup>University of Applied Health Sciences, Zagreb

<sup>2</sup>University of Mostar Faculty of Pharmacy, Mostar, Bosnia and Herzegovina

<sup>3</sup>University of Zagreb School of Medicine, Zagreb

**Aim:** The main goal was to study pharmaceutical waste (drugs that were unsold, as of their expiration date, and drugs disposed by patients in pharmacies) disposal by using data from pharmacies in the City of Zagreb, Republic of Croatia. Subsequently, we also tried to determine which drugs and their therapeutical groups were disposed of, the amount of prescription drugs and OTC (Over the Counter) drugs disposed, and the cost of their disposal.

**Methods:** The research included 51 of the overall 208 pharmacies in Zagreb (Agency for Medicinal Products and Medicinal Devices of Croatia, Publication. 2014.), which had a population of 795,505 inhabitants, almost a quarter of the whole population of Croatia (Croatian Bureau of Statistics – Republic of Croatia, Publication. 2014.). Pharmaceutical waste was collected in pharmacies from April 14 to May 14, 2014. After collection, the drugs were sorted using Anatomical Therapeutic Chemical Classification (ATC) into different therapeutical groups, noting them in an electronic formular for waste recording in each pharmacy. We also used Register of Medicines as a source for prices of medicines (Lejla Bencaric, Register of Medicines in Croatia. Zagreb. 2014.) as well as internal data from companies whose core business was pharmaceutical waste disposal as the source for cost of its disposal.

**Results:** During the research, pharmacies collected 291.56 kilograms of pharmaceutical

waste, containing 6289 medicine packings, including tablets and other formulations of drugs. 4549 (72.3%) of them were prescription drugs and 1740 (27.7%) were OTC drugs. Of all the pharmaceutical units, there were more prescribed medicines than OTCs. The majority of the pharmaceutical waste drugs included Cardiovascular system (17.8%), Alimentary tract and metabolism (14.5%) and Nervous system (12.4%) according to ATC. In the first group, the most prevalent drugs were the antihypertensives atenolol and amlodipine. In the second group, the leading drug was ranitidine, followed by insuline and metformin. Among the antibiotic drugs, amoxiciline in combination with clavulonic acid was the most reported. Among OTCs, acetylsalicylic acid was the most often evidenced substance. Overall, results showed a strong correlation between drugs mostly prescribed by physicians and those evidenced in pharmaceutical waste. We estimated the total cost of managing pharmaceutical waste to be 132,194 €.

**Conclusion:** Although the practice of disposing medicines through pharmacies is well regulated, its cost is high, especially when we know that most of it is consisted of prescribed drugs. This reflects patients' non-compliance or misunderstanding of directions in regard to drug use, showing us that the level of cooperation in drug treatment between patients and their physicians has room for improvement.

\*Experimental Biology 2016 Meeting, San Diego, USA, 2016

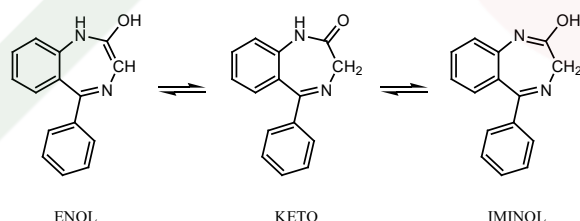


## Računalna studija tautomerizacije benzodiazepina Computational Study of Tautomerization in Benzodiazepines

PP22

Barbara Pem<sup>1</sup>, Valerije Vrčec<sup>2</sup><sup>1</sup>Studij farmacije, FBF<sup>2</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Tautomerizacija je ravnotežni proces u kojem sudjeluju različiti oblici iste molekule, koji prelaze jedan u drugi intramolekulskim pomakom atoma. Prototropička tautomerizacija uključuje pomak vodikova atoma uz istovremenu promjenu položaja dvostruke veze [1,2]. Molekule koje sadrže -CH-C(=O)-NH-fragment mogu postojati u tri tautomerna oblika: keto, enol i iminol. Među takvim molekulama značajni su benzodiazepini kao jedni od najpropisivanijih psihofarmaceutika. [3] Potpuna karakterizacija tautomera važna je za razumijevanje fizikalno-kemijskih svojstava, reaktivnosti i stereokemije molekula [2].



Cilj je ovog istraživanja usporedba Gibbsovih energija tautomera benzodiazepina i određivanje učinka pojedinih strukturnih elemenata na njihovu stabilnost. Studija je provedena *in silico* jer računalne metode omogućuju proučavanje nestabilnih molekula.

U istraživanje je uključen 31 različit benzodiazepin s potvrđenom biološkom aktivnošću. Koristeći program za vizualizaciju struktura GaussView i program za molekularno modeliranje PCMODEL, provedena je konformacijska analiza tautomera svake molekule. Najstabilniji konformeri i njihove Gibbsove energije određeni su upotrebom programskog paketa Gaussian09, koristeći M06/6-31+G(d,p) teorijsku razinu, u vakuumu i modelnom otapalu (voda,  $\epsilon = 78,4$ ).

Odabrani benzodiazepini podijeljeni su u tri skupine: klasični (3-nesupstituirani)

1,4-benzodiazepin-2-oni, heteroaromatski 1,4-diazepin-2-oni i 3-supstituirani 1,4-benzodiazepin-2-oni. Keto oblik pokazao se najstabilnijim u svim slučajevima. Klasični benzodiazepini postoje samo u keto i iminolnom obliku, jer je enol izrazito nestabilan. Relativne Gibbsove energije iminola variraju od +37,5 kJ/mol do +45,6 kJ/mol, a enola od +89,8 kJ/mol do +108,3 kJ/mol. Supstituenti na položajima C7 i C2' nemaju značajni utjecaj na relativnu stabilnost tautomera. Zamjena fuzioniranog benzenskog prstena heterociklom stabilizira iminol u odnosu na keto oblik za 10-15 kJ/mol, dok enol ostaje nestabilan i stoga nije relevantna ravnotežna specija. C3 supstituent ne mijenja stabilnost iminola, no ima izrazit utjecaj na stabilnost enolnog oblika. Hidroksilna i amino skupina stabiliziraju enol u odnosu na keto oblik za 5-15 kJ/mol, cijano skupina za 45 kJ/mol, a karboksilna skupina za 75 kJ/mol. Solvatacija generalno stabilizira keto oblik u odnosu na ostale tautomere.

Pažljivim odabirom supstituenata moguće je utjecati na stabilnost tautomera i na njihov udio u ravnotežnoj smjesi. Rezultati mogu imati značajne implikacije na razvoj novih diazepinskih derivata željenih kemijskih i farmakoloških svojstava.

[1] Guasch L, Yapamudiyansel W, Peach ML, Kelley JA, Barchi Jr. JJ, Nicklaus MC. J. Chem. Inf. Model. 56 (2016) 2149-2161.

[2] Raczyńska ED, Kosińska W, Ośmiałowski B, Gawinecki R. Chem. Rev. 105 (2005) 3561-3612.

[3] Izvješće o potrošnji lijekova u Republici Hrvatskoj u 2015. godini, 2016., <http://www.halmed.hr>, pristupljeno 15.4.2017.

KLJUČNE RIJEČI: tautomerizacija, enolizacija, iminolizacija, benzodiazepini, računalna studija  
KEYWORDS: tautomerism, enolization, iminolization, benzodiazepines, computational study



## PP23 Intramolekulske C-H amidacijske reakcije: kvantno-kemijska studija regioselektivnosti Hoffmann-Löffler-Freytag reakcija

### Intramolecular C-H Amidation Reactions: Quantum-Chemical Study of Hoffmann-Löffler-Freytag Reactions

Marija Škrlec<sup>1</sup>, Davor Šakić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Studij farmacije, FBF

<sup>2</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Moderne inačice Hoffmann-Löffler-Freytag (HLF) reakcija proučavaju se na velikom broju sustava kako bi se funkcionalizirali udaljeni nefunkcionalizirani (alkanski) ugljici [1]. Naročitu primjenu pronalaze u farmaceutskoj industriji prilikom funkcionalizacije u kasnoj fazi (late-stage functionalization) nefunkcionaliziranih alkilnih lanaca u spojevima uzora pri čemu nastaju mnogi novi kandidati za lijekove [2]. Tosilna skupina redovito se koristi kao zaštitna skupina za amine pri čemu nastaju N-supstituirani sulfonamidi. Jedan od češće korištenih protokola uključuje induciranu pregradnju sulfonamida s jodom uz ko-oksிடans. U toj reakciji nastaje jodosulfonamid kao međuprodukt koji uslijed fotokemijske aktivacije homolitičkim cijepanjem N-I veze stvara N-radikal. Uz pomoć reakcija prijenosa atoma vodika (HAT-reakcija) pregrađuje se u termodinamički stabilniju strukturu C-radikala. Nastali C-radikal može reagirati s atomom joda pri čemu nastaje aktivirani udaljeni C-atom. Daljnjom se obradom takav spoj ciklizira. Uočena je regioselektivnost HLF reakcije; produkti 1,5-HAT reakcije češće nastaju od produkata 1,6-HAT reakcije, unatoč termodinamičkim pretpostavkama o stabilnosti C5 i C6 radikala. Cilj rada je odrediti kinetičke i termodinamičke parametre koji diktiraju regioselektivnost reakcije.

Korištene su kvantno-kemijske metode koje su validirane tijekom termodinamičkog proučavanja ovog sustava [3]. Sustavnim ispitivanjem reakcija koje se pregrađuju putem 1,4-, 1,5-, 1,6-HAT i stvaraju sekundarne C-radikale uočena je nepovoljna barijera strukturnog peteročlanog prstena u prijelaznom stanju, dok približno jednaku barijeru imaju strukture prijelaznih stanja koje sadrže šesteročlane i sedmeročlane prstene.

Nastajanjem primarnih, sekundarnih ili tercijarnih C-radikala na položajima C4, C5 i C6 u alkilnim lancima može se termodinamički usmjeriti reakcija. Dosadašnja istraživanja pokazuju da predreakcijski lokalni minimumi imaju važniju ulogu.

Navedenim istraživanjem rasvijetlit će se uvjeti koji su potrebni za upravljanje regioselektivnošću HFL reakcija na sulfonamidima

[1] L.R. Reddy, B.V.S. Reddy, E.J. Corey, *Org. Lett.* 8 (2006) 2819

[2] T. Cernak, K.D. Dykstra, S. Tyagarajan, P. Vachal, S.W. Krska, *Chem. Soc. Rev.* 45 (2016) 546

[3] D. Šakić, H. Zipse, *Adv. synth. & cat.*, 358 (2016) 3983

KLJUČNE RIJEČI: *HLF- reakcije, regioselektivnost, sulfonamidna zaštitna skupina, HAT-reakcija*  
 KEYWORDS: *HLF- reactions, regioselectivity, sulfonamide protecting group, HAT-reaction*





## Sinteza i antimalarijsko djelovanje konjugata aminokiselina i primakina PP24

### Synthesis and Antimalarial Activity of Amino Acid-Primaquine Conjugates

Filip Kozlina<sup>1</sup>, Kristina Pavić<sup>2,3</sup>, Branka Zorc<sup>3</sup>, Marcel Kaiser<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Studij farmacije, FBF

<sup>2</sup>Poslijediplomski doktorski studij, FBF

<sup>3</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

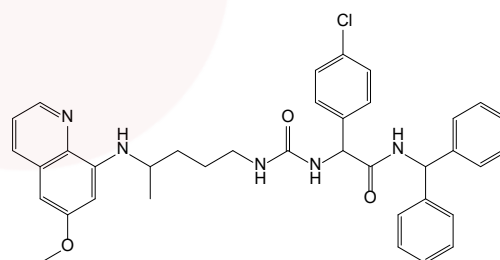
<sup>4</sup>Swiss Tropic and Public Health Institute iz Basela, Švicarska

Prema izvješću Svjetske zdravstvene organizacije, samo u 2015. godini od malarije je oboljelo preko 212 milijuna ljudi, a umrlo 429 000, zbog čega malarija još uvijek predstavlja jednu od najsmrtonosnijih bolesti u svijetu [1]. Primakin (PQ) je 8-aminokino-linski antimalarik djelotvoran protiv svih vrsta plazmodija koji uzrokuju malariju u ljudi, uključujući multirezistentne sojeve *P. falciparum* te je jedini dostupan gametocitocid čime se sprječava prijenos uzročnika s čovjeka na komarce, ali je slabo aktivan na nespolne krvne faze životnog ciklusa plazmodija. PQ je ujedno i jedini dostupan lijek koji djeluje na hipnozoite *P. vivax* i *P. ovale* malarije. Međutim, PQ povećava rizik od akutne hemolitičke anemije kod osoba s nedostatkom glukoza-6-fosfat dehidrogenaze [2]. Osim toga, sve veći problem predstavlja rastuća otpornost *Plasmodium* vrsta na postojeću terapiju. Zbog svega navedenog i dalje je iznimno aktualna potreba za istraživanjem novih antimalarijskih lijekova. U ovom radu dizajnirani su i sintetizirani novi konjugati aminokiselina i PQ **5a-g** kao potencijalni antimalarici.

Konjugati **5a-g** pripremljeni su aminolizom *N*-(1-benzotriazolkarbonil)-aminokiselinskih amida **4a-g** uz PQ, a amidi **4a-g** dobiveni su iz *N*-(1-benzotriazolkarbonil)-aminokiselinskih klorida **3a-c** i odgovarajućih amina ili hidrazona.

Provedeno je *in vitro* ispitivanje antimalarijskog djelovanja sintetiziranih konjugata na eritrocitnu fazu životnog ciklusa *P. falciparum* NF54 te su rezultati uspoređeni sa

standardnim antimalarijskim lijekovima (PQ, klorokin, artesunat). Svi sintetizirani konjugati pokazali su podjednak učinak kao PQ, ali znatno manju citotoksičnost na L6 staničnu liniju (mioblasti štakora). Najpovoljniji indeks selektivnosti (*SI*), tj. omjer učinkovitosti i citotoksičnosti pokazao je spoj **5e** – konjugat PQ s benzhidrilaminom i *p*-klorfenilglicinom (*SI* = 114).



Struktura konjugata **5e** s najpovoljnijim indeksom selektivnosti

Zahvaljujući podjednakoj učinkovitosti na eritrocitnu fazu životnog ciklusa *P. falciparum* NF54 kao PQ, a manjoj citotoksičnosti (*SI* = 16,9 – 114), pripremljeni konjugati **5a-g** predstavljaju dobre kandidate za razvoj učinkovitih i sigurnih lijekova u terapiji malarije.

[1] World Malaria Report 2016, 2016., <http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2016/report/en/>, pristupljeno 1.4.2017.

[2] J. Recht, E. Ashley, N. White, Safety of 8-aminoquinoline antimalarial medicines, WHO, Ženeva, 2014.

KLJUČNE RIJEČI: aminokiseline, primakin, antimalarijsko djelovanje, citotoksičnost  
KEYWORDS: amino acids, primaquine, antimalarial activity, cytotoxicity



## PP25 Određivanje citokrom P450 enzima odgovornih za metabolizam aglikona flavonoida

### Determination of Cytochrome P450 Enzymes Responsible for the Metabolism of Flavonoid Aglycones

Mirela Lozić<sup>1</sup>, Goran Benković<sup>2,3</sup>, Mirza Bojić<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Studij farmacije, FBF

<sup>2</sup>Poslijediplomski doktorski studij, FBF

<sup>3</sup>Agencija za lijekove i medicinske proizvode

<sup>4</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Flavonoidi su heterogena porodica polifenolnih spojeva niske molekulske mase koji se sintetiziraju u biljkama kao sekundarni biljni metaboliti. Pripadaju fito-spojevima te se nalaze u jestivom voću i povrću. Redovitom konzumacijom pojedini flavonoidi pokazuju potencijal modulacije ljudskog zdravlja tako da pomažu u prevenciji kroničnih i degenerativnih bolesti [1]. Njihovi brojni farmakološki učinci čine ih zanimljivim za istraživanje u području farmacije. Stanični mehanizmi njihovih brojnih bioloških učinaka i dalje su uvelike nepoznati.

Citokromi P450 su neupitno najvažniji enzimi koji kataliziraju biotransformacije lijekova. Sekvenciranjem ljudskog genoma je otkriveno da u ljudi postoji 57 citokrom P450 enzima [2]. Područje biokemije i enzimologije citokroma P450 ostaje atraktivno, s mnogim otvorenim pitanjima na koja trebamo odgovoriti, uključujući metabolizam flavonoida koji je ispitan na relativno malom broju flavonoida.

Cilj ovog rada je *in vitro* postupcima utvrditi

humane jetrene citokrome P450 odgovorne za biotransformaciju 30 odabranih flavonoida primjenom humanih jetrenih mikrosoma. Za praćenje metabolizma primijenjena je obrnuto-fazna tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti spregnuta sa spektrometrom masa kao detektorom. Od analiziranih 30 flavonoida, 11 ih je pokazalo tendenciju biotransformacije posredovane citokromima P450 od kojih su po prvi put opisani metaboliti flavona, 7-hidroksiflavona, galangina, 3,7-dihidroksiflavona, 6-hidroksiflavona, akacetina i tangeretina.

Ovaj rad financirala je Hrvatska zaklada za znanost (UIP-2014-09-5704).

- [1] C. Manach, A. Scalbert, C. Morand, C. Rémésy, L. Jiménez. *Am. J. Clin. Nutr.* 79 (2004) 727-747.  
 [2] T.H. Rushmore, A.N.T. Kong. *Curr. Drug. Metab.* 3 (2002) 481-490.

KLJUČNE RIJEČI: *flavonoidi, metabolizam, citokrom P450*

KEYWORDS: *flavonoids, metabolism, cytochrome P450*



## Metabolizam flavonoida posredovan citokromom P450 3A4 Metabolism of Flavonoids Mediated by Cytochrome P450 3A4

PP26

Marija Posavčević<sup>1</sup>, Goran Benković<sup>2,3</sup>, Hrvoje Rimac<sup>2,4</sup>, Mirza Bojić<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Studij farmacije, FBF

<sup>2</sup>Poslijediplomski doktorski studij, FBF

<sup>3</sup>Agencija za lijekove i medicinske proizvode

<sup>4</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Flavonoidi su fenolni spojevi koje sintetiziraju biljke te se kao takvi pojavljuju u većini jestivog voća i povrća. Uobičajeni ugljikov skelet C6-C3-C6 čini njihovu temeljnu strukturu, a razlikuju se po vrsti i položaju supstituenta. Generalno su prihvaćeni kao supstancije koje promoviraju zdravlje zbog svojeg antioksidativnog, antikancerogenog, antivirusnog, protuupalnog učinka, ali se zna da ovisno o dozi mogu djelovati i proupalno, prooksidativno i drugo [1]. Kao i drugi ksenobiotici, i flavonoidi u organizmu podliježu apsorpciji, distribuciji, metabolizmu i eliminaciji [2]. U ovom radu od posebnog je interesa metabolizam aglikona flavonoida posredovan citokromom P450 3A4.

Za potrebe ovoga rada ispitano je 11 flavonoida koji su prethodnim probiranjem na humanim jetrenim mikrosomima pokazali metabolizam posredovan citokromima P450. Za identifikaciju metabolita pojedinih flavonoida primijenjena je tekućinska kromatografija spregnuta sa spektrometrijom masa (LC-MS) i UV-Vis detektorom. Proučavajući UV kromatograme, kromatograme izdvojenog iona, retencijska vremena spojeva i dobivene molekulske formule, možemo

zaključiti o prisutnosti metabolita i tako potvrditi reakcije biotransformacije posredovane citokromom P450 3A4 za pojedini flavonoid. Od ispitanih flavonoida tri su pokazala da je u njihov metabolizam uključen CYP3A4 enzim: 7-hidroksiflavon, za koji su potvrđena dva hidroksilirana metabolita, sakuranetin, za koji je potvrđen jedan hidroksilirani metabolit te tangeretin za koji su potvrđeni hidroksilirani metabolit te jedan koji je metilirani na dvije pozicije.

Za flavonoide čije smo metabolite detektirali postoji potencijal interakcija s lijekovima koji se metaboliziraju posredstvom citokroma P450 3A4.

Ovaj rad financirala je Hrvatska zaklada za znanost (UIP-2014-09-5704).

[1] C. Manach, A. Scalbert, C. Morand, C. Rémésy, L. Jiménez. *Am. J. Clin. Nutr.* 79 (2004) 727-747.

[2] G.L. Hostetler, R.A. Ralston, S.J. Schwartz. *Adv. Nutr.* 3 (2017) 423-435.

KLJUČNE RIJEČI: *flavonoidi, metabolizam, citokrom P450 3A4*

KEYWORDS: *flavonoids, metabolism, cytochrome P450 3A4*



## PP27 Reakcije biotransformacije flavonoida posredovane citokromom P450 2D6

### Biotransformation Reactions of Flavonoids Mediated by Cytochrome P450 2D6

David Šarčević<sup>1</sup>, Goran Benković<sup>2,3</sup>, Mirza Bojić<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Studij farmacije, FBF

<sup>2</sup>Poslijediplomski doktorski studij, FBF

<sup>3</sup>Agencija za lijekove i medicinske proizvode

<sup>4</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Flavonoidi su heterogena skupina fenolnih spojeva koji se sintetiziraju u biljkama, a ljudi ih unose putem voća i povrća. Osnovni skelet čine dva benzenska prstena povezana piranskim prstenom, a daljnje se razlike temelje na postojanju i raspodjeli dodatnih hidroksilnih i metilnih skupina. Interes za proučavanje flavonoida porastao je spoznajom o njihovom djelovanju kao antioksidansa te čitavog niza bioloških učinaka [1]. S farmakološkog gledišta ističu se zbog moguće interferencije s enzimima koji metaboliziraju ksenobiotike, a to su u najvećem postotku enzimi superporodice citokroma P450 [2].

Za potrebe ovoga rada ispitano je 11 različitih flavonoida koji su prethodnim probiranjem pokazali značajniju biotransformaciju u reakcijama posredovanim citokrom P450 enzimima. Tekućinska kromatografija spretna sa spektrometrijom masa daje nam uvid u nastali metabolit jer osigurava informacije o molekulskoj masi i strukturi spoja temeljem koje se provodi identifikacija nastalog

spoja. Tako smo potvrdili postojanje metabolita za 4 flavonoida i pokazali da je u njihov metabolizam uključen enzim citokrom P450 2D6. Navedeni enzim u reakciji sa 7-hidroksiflavonom, galanginom i akacetinom daje hidroksilirane metabolite, a s tangeretinom daje 4 različita demetilirana metabolita. S obzirom na polimorfizam citokroma P450 2D6, ovi su nam rezultati važni jer ukazuju na potencijal interakcija lijek-flavonoidi koje je važno poznavati kako bi se osigurao dobar terapijski učinak lijeka ovisno o prehrani bogatoj polifenolima.

Ovaj rad financirala je Hrvatska zaklada za znanost (UIP-2014-09-5704).

[1] L. Bravo. *Nutr. Rev.* 56 (1998) 317-333.  
[2] T.H. Rushmore, A.N.T. Kong. *Curr. Drug. Metab.* 3 (2002) 481-490.

KLJUČNE RIJEČI: *flavonoidi, metabolizam, citokrom P450 2D6*

KEYWORDS: *flavonoids, metabolism, cytochrome P450 2D6*



## Utjecaj ekstrakata lista matičnjaka na primarnu hemostazu The Effect of Lemonbalm Leaves Extracts on Primary Hemostasis

PP28

Ivan Novaković<sup>1</sup>, Andrea Antolić<sup>2</sup>, Željko Maleš<sup>3</sup>, Mirza Bojić<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Studij farmacije, FBF

<sup>2</sup>Poslijediplomski studij biologije, PMF

<sup>3</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Kako broj ljudi oboljelih od kardiovaskularnih bolesti raste, tako rastu i troškovi liječenja koji se sada mjere u milijardama dolara. Tromboembolijski poremećaji su skupina kardiovaskularnih bolesti koji zahtijevaju dugotrajnu farmakoterapiju koja ima određene nuspojave. Ekstrakt matičnjaka sadrži polifenole te bi mogao utjecati na ishod terapije tromboembolijskih poremećaja.

U ispitivanju je primijenjeno pet etanolnih ekstrakata lista matičnjaka. Antiagregacijska ispitivanja su provedena na Hrvatskom zavodu za transfuzijsku medicinu impedancijskom agregometrijom. Za indukciju agregacije korišten je adenoindifosfat. Kao standard u ovom ispitivanju korištena je ružmarinska kiselina koja ima dokazano antiagregacijsko djelovanje. Prilikom ispitivanja mjerio se porast impedancije u ovisnosti o vremenu koji daje podatak o agregaciji koja je izražena preko arbitrarnih

jedinica kao mjera površine ispod dobivene krivulje.

Podatci su obrađeni jednosmjernom ANOVA statističkom analizom s Tukeyovim *post hoc* testom te su pokazali da jedino nerazrijeđeni ekstrakti (31,25 µg/mL) pokazuju antiagregacijski učinak. Otopina standarda ružmarinske kiseline pokazala je statistički značajno smanjenje agregacije trombocita pri koncentraciji od 87 µM.

Ovime je pokazano da u ekstrakt lista matičnjaka može utjecati na agregaciju trombocita odnosno primarnu hemostazu. Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se identificirale sastavnice matičnjaka s antiagregacijskim djelovanjem.

KLJUČNE RIJEČI: *matičnjak, antiagregacijsko djelovanje, impedancijska agregometrija*

KEYWORDS: *lemonbalm, antiaggregatory effect, impedance aggregometry*





## PP29 Antioksidacijska svojstva i sastav ekstrakta zelenog čaja u ovisnosti o načinu pripreme

### Green Tea Extracts Antioxidant Properties and Composition Depending on Preparation Procedure

Ivana Bota<sup>1</sup>, Elena Ćosić<sup>1</sup>, Adriana Bolić<sup>1</sup>, Ivana Milardović<sup>1</sup>, Klara Dumanić<sup>1</sup>, Sara Grubišić Čabo<sup>1</sup>, Martina Stipišić<sup>1</sup>, Franko Burčul<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Studij farmacije, Sveučilište u Splitu

<sup>2</sup>Kemijsko tehnološki fakultet Sveučilišta u Splitu

Kineski čajevac (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae) se kultivira već stoljećima s prvim početcima u Indiji i Kini od koje se različitim postupcima sakupljanja i obrade dobivaju zeleni, crni i bijeli čaj. Kada se usporedi s ostalim čajevima (crni čaj, čaj od paprene metvice, stolisnika) ima veću koncentraciju polifenola te je najčešće konzumirani napitak nakon vode. Mnoge studije pokazuju kako ispijanje zelenog čaja ima brojne pozitivne učinke (antioksidacijski, antikancerogeni itd.) [1].

Smatra se da različiti prooksidansi i slobodni radikali pridonose nastanku oksidacijskog stresa, a time i procesu starenja kao i razvoju brojnih zdravstvenih problema kao što su različite kardiovaskularne i neurodegenerativne bolesti, tumorska oboljenja i dr. [2]. Ekstrakt zelenog čaja sadrži različite polifenolne spojeve koji pokazuju antioksidacijska svojstva, a glavne sastavnice su su flavan-3-ol monomerini spojevi – katehini, među kojima su najaktivniji epigalokatehin-3-galat i epikatehin-3-galat najaktivnije komponente [3]. Antioksidansi su tvari, prisutne u niskoj koncentraciji, koje mogu odgoditi ili spriječiti oksidaciju neke druge tvari.

Cilj ovog rada bio je određivanje sastava i antioksidacijske aktivnosti osamnaest (18) ekstrakta zelenog čaja u ovisnosti o temperaturi vode korištene za pripremu (80, 85, i 90°C), vremenu ekstrakcije (3, 4, i 5 minuta) te načinu pripreme (poklopljena ili otklopljena čaša).

Za određivanje sadržaja ukupnih fenola u ekstraktu korištena je Folin-Ciocalteu

metoda, dok je za određivanje ukupnog sadržaja katehina korištena metoda s vanilinom. Antioksidacijska aktivnost je određivana dvjema najčešće korištenim metodama i to: DPPH metodom (metoda "gašenja" slobodnih radikala) te FRAP metodom (metoda bazirana na redukciji Fe<sup>3+</sup> u Fe<sup>2+</sup>).

Rezultati ukazuju na jasnu razliku u sadržaju katehina i fenola između ekstrakata zelenog čaja pri različitim parametrima. Uzorak zelenog čaja koji se ekstrahirao 3 minute pri 80°C u otklopljenoj čaši sadržavao je ukupno 213,8 mg/L fenola i 60 mg/L katehina dok je uzorak zelenog čaja koji se ekstrahirao 5 minuta pri 90°C u poklopljenoj čaši sadržavao ukupno 427,8 mg/L fenola i 113,6 mg/L katehina. Uzorci su pokazali značajnu antioksidacijsku aktivnost. Postotak inhibicije DPPH radikala za uzorak koji se ekstrahirao 5 minuta pri 90°C u poklopljenoj čaši iznosio je 93,78%.

Zaključujemo da je uzorak zelenog čaja ekstrahiran pri različitim parametrima pokazao različit sastav fenola i katehina što ukazuje na važnost u postupku pripreme ekstrakata te da su svi uzorci pokazali antioksidacijsku aktivnost.

[1] S. Aafrin Thasleema, J. Pharm. Sci. & Res. 5 (2013) 171-173.

[2] S. M. Chacko, P. T. Thambi, R. Kuttan, I. Nishigaki, Chin. Med. 5 (2010) 1-9.

[3] S. P. J. Namal Senanayake, J. Funct. Food. 5 (2013) 1529-1541.

KLJUČNE RIJEČI: zeleni čaj, antioksidacijska svojstva, ukupni fenoli, ukupni katehini

KEYWORDS: green tea, antioxidant properties, total phenolics, total catechins



## ***In vitro* oslobađanje azitromicina iz liposomskih formulacija** ***In vitro* Release of Azithromycin from Liposomal Formulations**

PP30

Zora Rukavina<sup>1,3</sup>, Matea Novosel<sup>2</sup>, Karmela Justić<sup>2</sup>, Željka Vanić<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Poslijediplomski doktorski studij, FBF

<sup>2</sup>Studij farmacije, FBF

<sup>3</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Sistemska primjena antibiotika relativno uspješno eliminira uzročnike, ali uzrokuje i niz nuspojava, uz značajno povećanu mogućnost razvoja bakterijske rezistencije. Stoga se opravdanom pokazala potreba razvoja novih topikalnih antimikrobnih terapijskih nanosustava čijom bi se primjenom omogućila kontrolirana i ciljana dostava lijeka na ograničeno (oboljelo) područje te na taj način izbjegle sistemske nuspojave i smanjila mogućnost razvoja rezistencije [1, 2].

Svrha ovog rada bila je priprava različitih tipova liposoma s uklopljenim azitromicinom, njihova fizikalna karakterizacija te ispitivanje *in vitro* oslobađanja lijeka. Azitromicin je uklopljen u liposome različitog lipidnog sastava i fizičko-kemijskih svojstava: klasične (CL), deformabilne (DL), propilenglikol liposome (PGL) i kationske liposome (KL). Istraživane liposomske preparacije pripravljene su metodom hidratacije suhog fosfolipidnog sloja [3], te su ekstrudirane kroz polikarbonatne membrane promjera pora 400 i 100 nm. Srednji promjer, indeks polidisperznosti i zeta potencijal liposoma određeni su fotonskom korelacijskom spektroskopijom. *In vitro* oslobađanje azitromicina iz liposoma tijekom 24 sata ispitano je na Franz difuzijskoj ćeliji [3]. Ispitivanja su provedena korištenjem celuloza-nitratnih membrana i pri temperaturi od 32°C. Akceptorski odjeljak sadržavao je smjesu fosfatnog pufera (pH 7,5) i etanola (95:5, w/w), a količina oslobođenog azitromicina u određenim vremenskim intervalima određena je kromatografski (HPLC).

Uspješnost uklapanja azitromicina iznosila je više od 90%, a srednji promjeri liposoma su bili u rasponu od 130 nm (PGL) do 250 nm (KL). Zeta potencijal kationskih liposoma bio je veći od +30 mV, dok se za ostale liposomske preparacije kretao oko -30 mV. Pokazano je da se uklapanjem azitromicina u liposome postiže kontrolirano i produljeno oslobađanje u odnosu na slobodni lijek, te da sastav vezikula značajno utječe na profil oslobađanja lijeka iz liposoma. Rezultati *in vitro* ispitivanja oslobađanja lijeka ukazuju na brži trend oslobađanja azitromicina u prvih 60 - 120 minuta, nakon čega se oslobađanje usporava. Konvencionalni liposomi pokazali su najsporije oslobađanje lijeka, dok se lijek najbrže oslobađao iz kationskih liposoma. Dobiveni rezultati upućuju na mogućnost primjene liposoma s azitromicinom za lokalnu dostavu lijeka. Međutim, potrebno je provesti ispitivanja antimikrobnog učinka ispitivanih liposoma kako bi se potvrdila opravdanost razvoja nove formulacije.

[1] P. Basnet, N. Škalko-Basnet, *Curr. Pharm. Des.* 19 (2013) 1-7.

[2] Z. Rukavina, Ž. Vanić, *Pharmaceutics* 18 (2016) 1-26.

[3] Z. Palac, A. Engesland, G. E. Flaten, N. Škalko-Basnet, J. Filipović-Grčić, Ž. Vanić, *J. Liposome Res.* 24 (2014) 313-322.

KLJUČNE RIJEČI: *liposomi, azitromicin, in vitro oslobađanje, lokalna primjena*

KEYWORDS: *liposomes, azithromycin, in vitro release, local administration*





## PP31 Razvoj kapilarnoelektroforese metode za analizu gemcitabina i njegovog onečišćenja

### Development of a Capillary Electrophoretic Method for the Analysis of Gemcitabine and Its Impurity

Iva Blažević<sup>1</sup>, Marija Hranilović<sup>1</sup>, Miranda Sertić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Studij farmacije, FBF

<sup>2</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Gemcitabin, 2',2'-difluoro-2'-deoksicitidin, antimetabolit pirimidina, je antineoplastični lijek koji se koristi u liječenju uznapredovalih ili metastatskih karcinoma mokraćnog mjehura, adenokarcinoma gušterače u odraslih, karcinoma pluća nemalih stanica kao prva linija, epitelnog karcinoma jajnika te karcinoma dojke. Koristi se kao monoterapija (adenokarcinom gušterače), ali češće je u kombinaciji sa drugim citostaticima kao što su cisplatin, karboplatin, i paklitaksel, ovisno o indikaciji [1].

Monografija gemcitabina je uvrštena u 8. izdanje Europske farmakopeje. Za određivanje sadržaja gemcitabina te određivanje onečišćenja koristi se metoda tekućinske kromatografije, uz primjenu gradijenta u trajanju od 20 minuta.

Cilj je ovog istraživanja bio razviti novu, brzu, jednostavnu i ekološki prihvatljivu kapilarnoelektroforetsku metodu za identifikaciju i određivanje sadržaja gemcitabina, kao i njegovog onečišćenja cizotina. Kapilarna elektroforeza (CE) je separacijska tehnika koja se temelji na migraciji električki nabijenih čestica primjenom visokih potencijala (10-30 kV) u uskoj kapilari ispunjenoj otopinom elektrolita. Nabijeni analiti putuju različitim brzinama prema jednoj od elektroda ovisno o njihovom naboju i polumjeru iona, a neutralni analiti kreću se unutar kolone zahvaljujući elektroosmotskom toku [2].

Tijekom razvoja nove metode ispitane su različite vrste radnih pufera: boratni (pH 9,3), fosfatni (pH 7,0) i acetatni (pH 3,0). U

preliminarnom ispitivanju s 20 mM boratom pokazalo se da do razdvajanja gemcitabina i citozina vjerojatno neće doći zonskom kapilarnom elektroforezom te da će se zbog njihove slične strukture puno bolje razdvajanje postići micelarnom elektrokromatografijom (MEKC), odnosno uz dodatak surfaktanta SDS-a. Optimalnim puferom pokazao se fosfatni pufer, dok je bolje razdvajanje i oblik pikova postignut dodatkom veće koncentracije SDS-a. Ispitan je utjecaj dodatka organskog otapala, metanola, acetonitrila i etanola na razdvajanje i oblik pika. Tijekom optimizacije također je ispitan i utjecaj napona na vrijeme analize, kao i na razlučivanje između analita. Analiza je vršena u kapilari duljine 35 cm (27 cm do detektora) i unutrašnjeg promjera 50 µm te pri temperaturi 25 °C, a detekcija je vršena primjenom detektora s nizom dioda na valnoj duljini 275 nm. Daljnja ispitivanja bit će usmjerena prema optimizaciji uvjeta MEKC metode kao „zelene“ alternative uobičajeno korištenoj HPLC tehnici.

[1] Sažetak opisa svojstava lijeka Gemcitabin Sandoz (gemcitabin), 2017., <http://www.halmed.hr>, pristupljeno 13.3.2017.

[2] Watson DG. High-performance capillary electrophoresis. U: *Pharmaceutical Analysis*. Churchill Livingstone Elsevier, Edinburgh, 2012, str. 376-397.

KLJUČNE RIJEČI: *gemcitabin, onečišćenja u lijekovima, kapilarna elektroforeza, micelarna elektrokromatografija*

KEYWORDS: *gemcitabine, drug impurities, capillary electrophoresis, micellar electrokinetic chromatography*



## Uloga bakra u oboljenjima štitne žlijezde The Role of Copper in Thyroid Gland Diseases

PP32

Antonio Lukenda<sup>1</sup>, Mario Bažant<sup>1</sup>, Jasna Jablan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Studij medicinske biokemije, FBF

<sup>2</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Štitnjača je endokrini organ čiji hormoni imaju važnu ulogu u rastu i razvoju organizma. U posljednjih desetak godina prema Registru za rak u Hrvatskoj je porastao broj oboljelih od bolesti štitne žlijezde za 60% [1]. Usprkos brojnih istraživanja, etiologija bolesti štitnjače nije razjašnjena. Esencijalni element bakar dio je brojnih enzima koji sudjeluju u metaboličkim reakcijama organizma. Također, sastavni je dio superoksid dismutaze (SOD) antioksidacijskog enzima koji priječi nastanak oksidacijskog stresa. Oksidacijski stres je neravnoteža između stvaranja slobodnih radikala i aktivnosti antioksidativnih mehanizama stanice te se povezuje s patogeneom brojnih bolesti [2]. Cilj ovoga istraživanja bio je utvrditi ulogu bakra i SOD u oboljenjima štitne žlijezde. Sakupljeni su uzorci plazme oboljelih od bolesti štitne žlijezde ( $n = 24$ ) i zdravih ispitanika koji su predstavljali kontrolnu skupinu. Grupu oboljelih od bolesti štitnjače činili su: oboljeli od papilarnog karcinoma (50%), folikularnog adenoma (25%) te ostala oboljenja štitne žlijezde (struma i Hashimotov tiroiditis; 25%). U sakupljenim uzorcima plazme izmjerena je razina bakra i katalitička aktivnost SOD. Koncentracija bakra u plazmi određena je spektrofotometrijski uz pomoć kromogena 5-Br-PSAA (5-brom-2-piridilazo-N-propil-N-sulfopropil-amilo-anilina) [3]. Za određivanje katalitičke aktivnosti SOD korišten je komercijalno dostupan test komplet. Dobivene vrijednosti izražene su kao srednja vrijednosti  $\pm$  SD, a razlika između dviju skupina (oboljeli vs. kontrolna) statistički je uspoređena Mann-Whitney U

testom. Statistička značajnost postavljena je na  $P < 0,05$ .

Koncentracija bakra bila je viša u oboljelih od bolesti štitnjače u usporedbi s kontrolnom skupinom ( $1,62 \pm 0,50 \mu\text{g/mL}$  vs.  $1,24 \pm 0,53 \mu\text{g/mL}$ ;  $P < 0,05$ ). Katalitička aktivnost SOD bila je niža u oboljelih od bolesti štitnjače nego u kontrolnoj skupini ( $0,76 \pm 0,48 \text{ U/mL}$  vs.  $1,23 \pm 0,36 \text{ U/mL}$ ;  $P < 0,05$ ). Dobiveni rezultati pokazuju da oba izmjerena parametra imaju važnu ulogu u bolestima štitnjače. Povećana razina bakra u oboljelih od bolesti štitnjače može se povezati s njegovom ulogom u angiogenezi tumorskog tkiva dok snižena katalitička aktivnost SOD pokazuje da je u oboljelih od bolesti štitnjače povećana razina oksidacijskog stresa te da je oksidacijski stres uključen u patogenezu oboljenja štitne žlijezde.

Iz rezultata ovoga istraživanja može se zaključiti da su bakar i SOD neovisni parametri čije određivanje može poslužiti u dijagnostici bolesti štitne žlijezde.

[1] M. Šekerija i sur., Registar za rak Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo, Incidencija raka u Hrvatskoj 2012., Zagreb, 2014.

[2] B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge, C.E. Cross, Free radicals, antioxidants, and human disease: Where are we now?, *J Lab Clin Med*, 119 (1992) 598-620.

[3] T. Makino, A sensitive, direct colorimetric assay of serum copper using 5-Br-PSAA, *Clinica Chimica Acta*, 185 (1989) 7-16.

KLJUČNE RIJEČI: štitna žlijezda, bakar, oksidacijski stres, superoksid dismutaza, angiogeneza

KEYWORDS: thyroid gland, copper, oxidative stress, superoxid dismutase, angiogenesis



## PP33 Kloriranje barbiturata. Kvantno - kemijska studija reakcijskog mehanizma\*

### The Chlorination of Barbiturates. Quantum - Chemical Study of the Reaction Mechanism

Lucija Hok<sup>1</sup>, Barbara Pem<sup>1</sup>, Tana Tandarić<sup>2</sup>, Davor Šakić<sup>3</sup>, Valerije Vrčec<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Studij farmacije, FBF

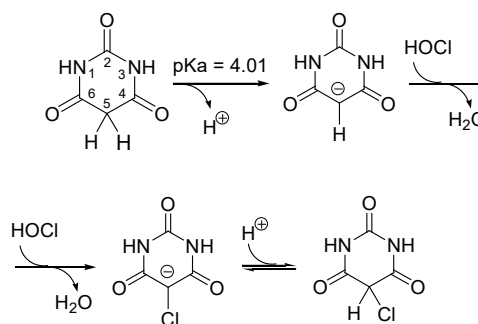
<sup>2</sup>Institu Ruđer Bošković

<sup>3</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

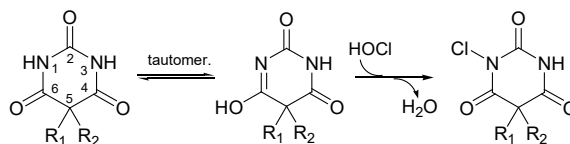
Barbiturati su lijekovi s djelovanjem na središnji živčani sustav, a koriste se kao neinhalijski anestetici, sedativi, hipnotici i antiepileptici. Poznavanje mehanizma kloriranja barbiturata kao jednog od najčešće korištenih postupaka obrade otpadnih voda, od iznimne je važnosti u ekotoksikologiji. Jednom ispušteni u okoliš barbiturati pokazuju stabilnost tijekom dužeg vremenskog perioda posjedujući izraženo svojstvo rekalcifikacije, tj. otpornosti prema biorazgradnji, ali i razgradnji utjecajem klorirajućih agenasa. Posljedica toga je njihov dugotrajan farmakološki učinak na ekosustav. Cilj ovoga rada je detaljnije objasniti razloge kemijske inertnosti barbiturata prema klorirajućim agensima.

U svrhu izrade rada primijenjene su kvantno - kemijske metode. Korišten je programski paket Gaussian09, a sve su geometrije optimizirane koristeći DFT funkcional B2K - PLYP. Za opis molekulskih orbitala korišten je bazni skup 6 - 31 + G(d). Kompleksi reaktanata, produkata, međuprodukata i prijelaznih stanja optimizirani su s dvije eksplicitno dodane molekule vode kako bi se točnije opisala prva solvacijska ljuska. Za implicitnu solvataciju korišten je SMD solvacijski model (otapalo voda,  $\alpha = 1,2$ ).

Utvrđeno je da je barbiturna kiselina lako podložna kloriranju hipoklorastom kiselinom (HOCl), pri čemu nastaje C5 - klorirani produkt (Slika 1). Kloriranje 5,5 - disupstituiranih barbiturata nije moguće u C5 - položaju, nego se odvija u N - položaju, međutim, izračunate barijere za takve procese su vrlo visoke ( $\Delta G_{298}^\ddagger > 200$  kJ/mol). Stoga je pretpostavljen mehanizam kloriranja barbiturata preko iminolnog međuprodukta [1]. Izračunate energetske barijere takvih procesa su niže od barijera izravnog kloriranja amidnog oblika, ali iznose više od 150 kJ/mol (Slika 2).



Slika 1. Kloriranje barbiturne kiseline u C - 5 položaju.



Slika 2. Tautomerizacija i N - kloriranje 5,5 - disupstituiranih barbiturata.  $R_1 = R_2 = \text{Et}$  (barbital);  $R_1 = \text{Et}$ ,  $R_2 = \text{Ph}$  (fenobarbital)

Visoke barijere za reakcije kloriranja barbiturata objašnjavaju njihovu kemijsku otpornost u postrojenjima za obradu otpadnih voda i njihovu perzistentnost u okolišnim vodama. S obzirom na nepovoljan ekološki profil barbiturata, potrebno je razmotriti primjenu efikasnijih metoda obrade otpadnih voda ili dizajn ekološki prihvatljivijih farmaceutika. Kvantno - kemijske metode su iznimno korisne za razumijevanje reakcijskih mehanizama kloriranja barbiturata, a ispitivanjem utjecaja različitih supstituenata u C5 - položaju na otpornost kloriranju, može se predvidjeti kemijsko ponašanje tih lijekova u vodenom okolišu.

[1] D. Šakić, P. Šonjić, T. Tandarić, V. Vrčec, J. Phys. Chem. A. 118 (2014) 2367 - 2376.

KLJUČNE RIJEČI: *barbiturati, hipoklorasta kiselina, iminolna forma, računalna kemija, rekalcitranti*  
 KEYWORDS: *barbiturates, hypochlorous acid, iminol form, computational chemistry, recalcitrants*

\*25. HRVATSKI SKUP KEMIČARA I KEMIJSKIH INŽENJERA s međunarodnim sudjelovanjem i 3. Simpozij „Vladimir Prelog“, Poreč, od 19. do 22. travnja 2017. godine.

## Citotoksično djelovanje izotiocijanata iz porodice kupusnjača na različite stanične linije humanih karcinoma mjereno MTT metodom PP34

### The Cytotoxic Effect of the Brassicaceae Family Isothiocyanates on Various Cell Lines of Human Cancers Measured by the MTT Assay

Mirna Župić<sup>1</sup>, Vedrana Čikeš-Čulić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Studij farmacije, Sveučilište u Splitu

<sup>2</sup>Medicinski fakultet, Sveučilište u Splitu

Karcinom je složena bolest u kojoj stanice više ne odgovaraju na signale unutar tkiva u kojem reguliraju staničnu diferencijaciju, preživljavanje, proliferaciju i smrt. Kao rezultat toga, ove stanice se nakupljaju unutar tkiva, dovodeći do lokalnog oštećenja i upale. Postoji više od 200 različitih vrsta karcinoma [1].

Kupusnjače ili krstašice (Brassicaceae, prethodno Cruciferae), porodica su cvjetnica (red Brassicales) i sadrže 338 rodova i oko 3700 vrsta [2].

Izotiocijanati su biološki aktivni produkti hidrolize glukozinolata. Kupusnjače sadrže razne glukozinolate, od kojih svaki hodrolizom formira različite izotiocijanate [3].

*In vitro* je ispitivano citotoksično djelovanje izotiocijanata izoliranih iz porodice kupusnjača na dvije stanične linije: T24 (karcinom mokraćnog mjehura) i A1235 (glioblastom). Za staničnu liniju T24 korišteni su alil izotiocijanat, fenil izotiocijanat, benzil izotiocijanat, 2-fenil etil izotiocijanat, izopropil izotiocijanat, 4-metoksifenil izotiocijanat, 3-metoksifenil izotiocijanat, p-tolil izotiocijanat, 4-(metiltio)-fenil izotiocijanat u koncentracijama od 10 $\mu$ M, 5 $\mu$ M, 5mM i 0,5mM.

Za staničnu liniju A1235 korišteni su identični spojevi u koncentracijama 10 $\mu$ M i 20 $\mu$ M. Kod obje stanične linije apsorbancija stanica mjerena je nakon 4h, 24h, 48h i 72h inkubacije.

Za statističku analizu podataka koristio se T-test za nezavisne uzorke.

Stanična živost i proliferacija određena je mjerenjem staničnog metabolizma koristeći MTT metodu. MTT testom se određuje postotak metabolički aktivnih stanica nakon izlaganja jednom od ekstrakata biljaka, jer mrtve, odnosno metabolički neaktivne stanice ne vežu MTT. Omjer apsorbancije stanica tretiranih vodenim otopinama

izotiocijanata te apsorbancije onih koje nisu tretirane pokazatelj nam je citotoksične aktivnosti korištenih izotiocijanata.

Najbolji citotoksični učinak na staničnu liniju T24 pokazao je izopropil izotiocijanat pri koncentraciji od 5mM nakon 72h inkubacije.

Najbolji citotoksični učinak na staničnu liniju A1235 pokazao je benzil izotiocijanat pri koncentraciji od 20 $\mu$ M nakon 24h inkubacije.

*In vitro* izlaganje stanica karcinoma mokraćnog mjehura (T24) i glioblastoma (A1235) izotiocijanatima izoliranim iz biljne porodice kupusnjača (Brassicaceae) dovodi do smanjenja preživljenja tih stanica.

Ispitivani izotiocijanati pokazuju citotoksični učinak ovisan o vremenu inkubacije i koncentraciji.

Djelovanje izotiocijanata nije uvijek razmjerno povećanju koncentracije i vremenu inkubacije, te u pojedinim slučajevima dolazi do oporavka stanica.

Citotoksični učinak izotiocijanata, što je ujedno i hipoteza našeg ispitivanja, je potvrđen, a idući korak je potvrđivanje tih učinaka *in vivo* ispitivanjem na modelima karcinoma mokraćnog mjehura i glioblastoma kod životinja.

The research was funded by HRZZ project BioSme (IP-2016-06-1316)".

[1] D. Hanahan, RA. Weinberg, Cell. 144 (2011) 646-674.

[2] Brassicaceae. Encyclopædia Britannica, 2015. URL: <https://www.britannica.com/plant/Brassicaceae>, pristupljeno 30.11.2016.

[3] Isothiocyanates, 2005., <http://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/isothiocyanates>, pristupljeno 10.4.2017.

KLJUČNE RIJEČI: biljke, karcinom, citotoksičnost, MTT

KEYWORDS: plants, cancer, cytotoxicity, MTT





## PP35 Određivanje citokina izlučenih iz THP-1 i NCI-H292 stanica nakon tretiranja izvanstaničnim Hsp70

### Measurement of Cytokines from THP-1 and NCI-H292 Cells after Treatment with Extracellular Hsp70

Ana Dojder<sup>1</sup>, Andrea Hulina<sup>2,3</sup>, Marija Grdić Rajković<sup>2</sup>, Mirna Sučić<sup>2,4</sup>, Lada Rumora<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Studij medicinske biokemije, FBF

<sup>2</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

<sup>3</sup>Poslijediplomski doktorski studij, FBF

<sup>4</sup>Zavod za patologiju i citologiju, KB „Sveti Duh“, Zagreb

Kronična opstruktivska plućna bolest (KOPB) karakterizirana je pojačanom kroničnom upalom dišnih putova i pluća koja dovodi do opstrukcije te sistemskom upalom [1]. Brojne upalne stanice i njihovi medijatori uključeni su u upalne procese KOPB-a, a važnu ulogu imaju receptori slični Toll receptoru *Drosophila* vrste TLR2 i TLR4 (eng. *Toll like receptor*). Izvanstanični protein toplinskog šoka Hsp70 (eng. *heat shock protein 70*) izmjeren je u povišenim koncentracijama u serumu bolesnika s KOPB-om, a smatra se da djeluje preko TLR2 i TLR4 receptora te na taj način izaziva sterilnu upalu [2,3].

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati ulogu izvanstaničnog Hsp70 proteina u imunom upalnom odgovoru na staničnim modelima KOPB-a određivanjem koncentracije upalnih citokina IL-1 $\alpha$  (eng. *interleukin 1 $\alpha$* ), IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 i TNF- $\alpha$  (eng. *tumor necrosis factor  $\alpha$* ). Kao plućni model KOPB-a korištena je stanična linija humanih bronhijalnih epitelnih stanica NCI-H292, a kao sistemski model KOPB-a stanična linija humanih monocitnih stanica THP-1. THP-1 i NCI-H292 stanice su tijekom 24 sata tretirane različitim koncentracijama rekombinantnog humanog Hsp70 proteina (rhHsp70) te agonistima TLR4 i TLR2 receptora: lipopolisaharidom (LPS) i lipoteikoičnom kiselinom (LTA). Koncentracija upalnih citokina izlučenih u stanični medij određena je sendvič ELISA-om (eng. *enzyme-linked immunosorbent assay*).

Istraživanje je pokazalo da kod NCI-H292 stanica 0,3, 1 i 3  $\mu$ g/mL rhHsp70 stimulira

izlučivanje IL-1 $\alpha$  i IL-8, dok 0,1, 0,3, 1, 3 i 30  $\mu$ g/mL rhHsp70 potiče otpuštanje IL-6. Nadalje, pokazano je kako tretiranje NCI-H292 stanica s LPS-om uzrokuje povećano izlučivanje IL-6 i IL-8, te da LPS uzrokuje snažnije izlučivanje IL-6 i IL-8 u odnosu na LTA. S druge strane, kod THP-1 stanica 10 i 30  $\mu$ g/mL rhHsp70 uzrokuje povećanu koncentraciju IL-1 $\beta$  i IL-8, ali ne i IL-1 $\alpha$ , IL-6 niti TNF- $\alpha$ . Također, dobiveni rezultati pokazuju da THP-1 stanice tretirane s LPS-om ili LTA izlučuju povećanu količinu svih ispitivanih citokina. Pri tome je uočeno kako LPS ima izraženiji učinak od LTA i na THP-1 stanice.

Zaključujemo da izvanstanični Hsp70 protein potiče izlučivanje upalnih citokina te je moguće da doprinosi nastanku i/ili daljnjem pogoršanju lokalne i sistemske upale u bolesnika s KOPB-om.

[1] Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2017, [www.goldcopd.org](http://www.goldcopd.org), pristupljeno 4.5.2017.

[2] S. Hacker, C. Lambers, K. Hoetzenecker, A. Pollreis, C. Aigner et al. *Clin. Lab.* 55 (2009) 31–40.

[3] A. Asea, M. Rehli, E. Kabingu, J.A. Boch, O. Baré, P.E. Auron, M.A. Stevenson, S.K. Calderwood. *J. Biol. Chem.* 277 (2002) 15028–15034.

KLJUČNE RIJEČI: KOPB, Hsp70, THP-1, NCI-H292, citokini

KEYWORDS: COPD, Hsp70, THP-1, NCI-H292, cytokines



## Aktivnost apoptoznih i upalnih kaspaza u NCI-H292 stanicama tretiranim izvanstaničnim Hsp70

PP36

### Activity of Apoptotic and Pro-Inflammatory Caspases in NCI-H292 Cells Treated with Extracellular Hsp70

Andrea Hulina<sup>1,2</sup>, Marija Grdić Rajković<sup>2</sup>, Mirna Sučić<sup>2,3</sup>, Lada Rumora<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Poslijediplomski doktorski studij, FBF

<sup>2</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

<sup>3</sup>Zavod za patologiju i citologiju, KB „Sveti Duh“, Zagreb

Izvanstanični protein toplinskog šoka Hsp70 (eng. heat shock protein 70) povišen je u krvi osoba s različitim upalnim stanjima i bolestima, poput kronične opstruktivske plućne bolesti (KOPB) [1]. Za razliku od unutarstaničnog Hsp70 proteina koji djeluje citoprotekcijski i protu-upalno, smatra se da izvanstanični Hsp70 djeluje preko receptora sličnih Toll receptorima *Drosophila* vrste TLR2 i TLR4 (eng. *Toll like receptor*) izazivajući sterilnu upalu [2]. Upala i stanična smrt (poput apoptoze) značajni su stanični procesi koji kontroliraju homeostazu organizma. Poremećaj bilo kojeg od ova dva procesa može dovesti do razvoja bolesti. Stoga je za razumijevanje mehanizama bolesti važno razjasniti na koji način se procesi upale i stanične smrti mogu kontrolirati te također koje je njihovo međusobno djelovanje.

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati aktivnost apoptoznih kaspaza -3/7, -8 i -9 te upalne kaspaze-1 u NCI-H292 stanicama kao staničnom modelu KOPB-a. Hipoteza istraživanja je da izvanstanični Hsp70 može inducirati upalne procese, no ne nužno i stanično umiranje procesom apoptoze. NCI-H292 stanice tretirane su s 0,3, 1 i 3 mg/mL humanog rekombinantnog Hsp70 proteina s niskim sadržajem endotoksina (rhHsp70) tijekom 2, 4, 6 i 8 sati. Aktivnosti kaspaza -1, -3/7, -8 i -9 određene su luminescentnom

metodom (Caspase-Glo assay), a rezultati su izraženi u relativnim jedinicama svjetlosti RLU (eng. relative light units).

Istraživanje je pokazalo da rhHsp70 nije utjecao na aktivaciju apoptoznih kaspaza -8 i -9, no sve testirane koncentracije značajno su inhibirale aktivnost kaspaza-3/7 nakon 2 h:  $979,00 \pm 9,00$  RLU,  $P = 0,0107$ ;  $1005,00 \pm 29,00$  RLU,  $P = 0,0146$  i  $1033,00 \pm 18,00$  RLU,  $P = 0,0209$  za 0,3, 1 i 3  $\mu\text{g/ml}$  rhHsp70 u odnosu na netretirane kontrolne stanice ( $1292,00 \pm 63,00$  RLU). Upalna kaspaza-1 nije aktivirana u navedenim vremenima pri tretiranju s rhHsp70.

Zaključujemo da rhHsp70 ne postiže upalno djelovanje putem aktivacije inflammasoma i kaspaze-1, te ne uzrokuje apoptozu. Štoviše, rhHsp70 ima protu-apoptozno djelovanje koje vrši na način da inhibira kaspaze-3/7.

[1] S. Hacker, C. Lambers, K. Hoetzenecker, A. Pollreis, C. Aigner et al. Clin. Lab. 55 (2009) 31–40.

[2] A. Asea, M. Rehli, E. Kabingu, J.A. Boch, O. Baré, P.E. Auron, M.A. Stevenson, S.K. Calderwood. J. Biol. Chem. 277 (2002) 15028–15034.

KLJUČNE RIJEČI: *izvanstanični Hsp70, kaspaze, apoptoza, upala, NCI - H292*

KEYWORDS: *extracellular Hsp70, caspases, apoptosis, inflammation, NCI - H292*



## PP37 Prognostička vrijednost klinički relevantnih medicinsko-biokemijskih pretraga u predikciji rane retransplantacije jetre

### Prognostic Value of Clinically Relevant Medical Biochemistry Tests in the Prediction of Early Liver Retransplantation

Nives Antolić<sup>1</sup>, Anđelka Milakara<sup>1</sup>, Sonja Perkov<sup>2</sup>, Zlata Flegar-Meštrić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Studij medicinske biokemije, FBF

<sup>2</sup>Klinička bolnica Merkur

Transplantacija jetre (TJ) ključno je rješenje u liječenju završnog stadija bolesti jetre. U Kliničkoj bolnici "Merkur" program TJ provodi se od 1998.g., a u Kliničkom zavodu za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu, akreditiranom prema normi ISO 15189 određuju se klinički relevantne medicinsko biokemijske pretrage u postupku kliničke procjene statusa primatelja i davalca prije transplantacije, u praćenju statusa bolesnika tijekom transplantacije i praćenju funkcije organa i optimiziranju individualne terapije nakon transplantacije [1]. Zbog činjenice da sustav raspodjele raspoloživih jetri spremnih za transplantaciju ide prvo onim pacijentima koji su dulje ili na samom vrhu transplantacijske liste, transplantat dobivaju sve bolesniji pacijenti što umanjuje uspješnost ishoda transplantacije. Od svih komplikacija najčešće su one koje se pojavljuju u prvom tjednu nakon TJ. Ozbiljnu prepreku predstavlja nedostatak znanja o ranim pokazateljima koji bi se mogli koristiti kao prediktivni biljezi rane disfunkcije presatka, retransplantacije, sekundarnih komplikacija ili smrti pacijenta [2].

Cilj rada bio je odrediti ulogu aspartat aminotransferaze (AST), alanin aminotransferaze (ALT), gama glutamil transferaze (GGT), alkalne fosfataze (ALP), i ukupnog bilirubina u predikciji predikciji rane retransplantacije jetre u prvom postoperativnom tjednu nakon TJ.

Naše istraživanje je retrospektivno u kojem su analizirani rezultati AST, ALT, GGT, ALP i ukupnog bilirubina u prvom tjednu nakon TJ kod 40 kliničkih slučajeva s ranom disfunkcijom presatka (retransplantacija ili smrtni ishod 90 dana nakon transplantacije) i 39 bolesnika bez znakova disfunkcije

i dvogodišnjm preživljenjem presatka nakon prve TJ u Kliničkoj bolnici Merkur u razdoblju od 01.07.2014.-31.12.2016.

Za određivanje statistički značajnih razlika između skupina korišten je parametrijski Studentov *t* - test ili neparametrijski Mann - Whitneyjev test u statističkom programu MedCalc. ROC analiza (eng. *Receiver Operating Characteristic Curve*) primijenila se za izračunavanje pokazatelja dijagnostičke valjanosti pretraga.

Analiza dobivenih rezultata pokazala je da se vrijednosti ALT-a u 2. postoperativnom danu (POD), ( $p = 0,0465$ ), i vrijednosti GGT-a u POD4 ( $p = 0,0241$ ), POD5 ( $p = 0,0030$ ), POD6 ( $p = 0,0007$ ) i POD7 ( $p = 0,0006$ ) statistički značajno razlikuju između istraživanih skupina, pri čemu vrijednosti GGT-a u POD6 i POD7 imaju dovoljno dobru razlikovnu djelotvornost kao prediktori rane disfunkcije presatka (AUC(POD6) = 0,722 , 95% - CI = 0,610 - 0,8170), Se = 52,5 , Sp = 84,6), AUC(POD7) = 0,723, 95% - CI = 0,611 - 0,818, Se = 50,0, Sp = 84,6). Vrijednosti AST, ALP i ukupnog bilirubina nisu se statistički značajno razlikovali između istraživanih skupina, te nemaju prediktivnu vrijednost u procjeni rane disfunkcije presatka u prvom posttransplantacijskom tjednu.

[1] Z. Flegar-Meštrić, A. Nazor, S. Perkov, B. Šurina, Z. Šiftar, I. Ožvald, Ž. Vidas, *Acta Med Croatica*. 65 (2011) 23-29.

[2] G. Bolondi, F. Marchegiani, R. Montalti, D. Nicolini, M. Vivareli, L. De Pietri, *World J Gastroenterol*. 22 (2016) 5936-5949.

KLJUČNE RIJEČI: *transplantacija jetre, prognostička vrijednost, predikcija, presadak*

KEYWORDS: *liver transplantation, prognostic value, prediction, graft*





## Uloga ljekarnika u identifikaciji terapijskih problema u osoba starije životne dobi smještenih u Domu za starije i nemoćne

### The role of the pharmacist in the identification of therapeutic problems in the elderly placed in a nursing home

PP38

Katarina Fehir Šola<sup>1,2</sup>, Jelena Kurija<sup>3</sup>, Ivona Đurović<sup>3</sup>, Iva Mucalo<sup>4</sup>, Donatella Verbanac<sup>5</sup>, Sanda Vladimir Knežević<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Poslijediplomski doktorski studij, FBF

<sup>2</sup>ZU Ljekarna Bjelovar

<sup>3</sup>Studij farmacije, FBF

<sup>4</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

<sup>5</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Osobe starije životne dobi uglavnom uzimaju veliki broj lijekova, što često rezultira terapijskim problemima koji se odražavaju povećanjem trajanja i intenziteta bolničkog liječenja, prijema u bolnicu, neodgovarajućom skrbi u domovima za starije i nemoćne te neuspjeha u liječenju.

Svrha ovog istraživanja bila je odrediti učestalost i vrstu terapijskih problema u bolesnika starije životne dobi smještenih u domu za starije i nemoćne.

Prospektivno intervencijsko istraživanje provedeno je u razdoblju od veljače do lipnja 2016. godine u Domu za starije i nemoćne „Sv. Kamilo de Lellis“. U istraživanje su bili uključeni stacionirani korisnici koji su uzimali dva ili više lijekova i koji su potpisali Informirani pristanak za sudjelovanje u istraživanju. Podaci o terapiji i komorbiditetima te osnovni laboratorijski nalazi prikupljeni su uvidom u medicinsku dokumentaciju te kroz razgovor s korisnicima i medicinskim osobljem Doma. Procjena moguće neprikladnosti propisane terapije provedena je primjenom kategorizacije terapijskih problema prema Strand i sur. [1]. Provedbu ovog istraživanja odobrilo je Etičko povjerenstvo Doma za starije i nemoćne „Sv. Kamilo de Lellis“.

U istraživanje bilo je uključeno 101 ispitanika prosječne životne dobi 79 godina (raspon 60-96) koji su u prosjeku uzimali 7 lijekova (raspon 2-16) te bolovali od 4 različita komorbiditeta (raspon 1-11). Najčešći

komorbiditeti bili su prema Međunarodnoj klasifikaciji bolesti i srodnih zdravstvenih problema (MKB) iz skupina F (Mentalni poremećaji i poremećaji ponašanja), I (Bolesti cirkulacijskog sustava) i K (Bolesti probavnog sustava). Utvrđeno je ukupno 526 terapijskih problema s prosjekom 5 terapijskih problema po ispitaniku. Najviše je terapijskih problema svrstano u kategoriju „Predugo trajanje primjene lijeka“ (14,83%), zatim „Lijek nije siguran za pacijenta s obzirom na rizične čimbenike“ (11,03%) i „Neliječeno stanje“ (10,65%).

Velik broj identificiranih terapijskih problema u bolesnika starije životne dobi smještenih u Domu ukazuje na potrebu za boljom kontrolom terapije i uključivanjem ljekarnika u tim koji aktivno skrbi o zdravstvenim potrebama gerijatrijskih osiguranika u domovima za starije osobe.

[1] R.J. Cipolle, P.C. Morley, L. M.Strand, Drug therapy problems, u: Pharmaceutical care practice: The patient-centered approach to medication management. M. Weitz, C. Naglieri (ur.), New York, The McGraw-Hill Companies, 2012, 149-182.

KLJUČNE RIJEČI: Dom za starije i nemoćne, starija životna dob, ljekarnička skrb, terapijski problemi  
KEYWORDS: Nursing home, older age, pharmaceutical care, drug therapy problems



## PP39 Udruga studenata farmacije i medicinske biokemije Hrvatske (CPSA) Croatian Pharmaceutical Student's Association (CPSA)

Bruno Rački, Jelena Kurića, Marin Tušinec, Iva Mitrović, Tajana Iva Pejaković, Sara Šipicki, Petra Neralić, Mia Šojat, Stjepan Perić, Marin Vrhovac, Severina Jajčević, Jelena Mišić, Dalia Vađunec, Luka Bender, Jelena Durbek, Karlo Žili, Katarina Žunić, Josipa Mileta, Marija Vladović, Tomislav Marković

Udruga studenata farmacije i medicinske biokemije Hrvatske – CPSA, nezavisna je, neprofitna i samostalna udruga osnovana 18. lipnja 1994. godine na Farmaceutsko-bioke-mijskom fakultetu u Zagrebu na inicijativu Studentskog vijeća. CPSA je jedina udruga u Republici Hrvatskoj koja zastupa studente farmacije i medicinske biokemije. Njezini članovi promiču edukaciju na nacionalnoj i internacionalnoj razini u smislu informiranja i obrazovanja studenata vezano uz samu struku, zdravstvo, aktualnim temama na polju biomedicinskih znanosti te obilježavanja svjetskih dana u zdravstvu. Ponosni smo članovi europske (eng. *EPSA - European Pharmaceutical Students' Association*) i svjetske zajednice studenata (eng. *IPSF - International Pharmaceutical Students' Federation*).

Najveći projekti su *Student Exchange Programme* i *Twinnet* programi razmjena. Četvrti put organiziramo Kongres Udruge, najvažniji i najveći projekt na nacionalnoj razini na kojem preko 200 studenata iz Hrvatske i susjednih zemalja dobiva mnoge korisne informacije od stručnjaka iz biomedicinskog područja. Organiziramo također i Virtualni kongres, prvi i jedini takav među studentima farmacije i medicinske biokemije na kojem sudjeluju studenti širom svijeta! Organiziramo i studentska natjecanja, i to u konzultacijskim, kliničkim i marketinškim

vještinama. Cilj našeg Natjecanja u konzultacijskim vještinama je razviti stručne vještine studenata radi savladavanja realnih ljekarničkih izazova. U Natjecanju u kliničkim vještinama studenti farmacije, medicinske biokemije i medicine surađuju i rješavanju klinički slučaj, potičući tako suradnju struka u skrbi za pacijente. Natjecanje u marketinškim vještinama potiče i razvija znanja iz područja marketinga u farmaceutskoj industriji, ali i promiče važnost mekih vještina (eng. *soft-skills*). Najbolja verzija sebe projekt je usmjeren razvijanju najvažnijih mekih vještina kod studenata kako bi bili konkurentniji na tržištu rada. Provodimo brojne humanitarne akcije poput Palačinkijade i Fritulijade, ali i javnozdravstvene akcije gdje se nastoji podići svijest sugrađana o bolestima današnjice. Novi projekt je CPSA punčić, u kojem održavamo radionice po vrtićima i učimo najmlađe pravilnom pranju ruku te je 2016. nagrađen i Rektorovom nagradom! Sudjelovali smo u organizaciji projekta Bolnica za medvjediće u suradnji sa studentima medicine u svibnju 2016. Ponosni smo organizatori 15. EPSA-ine Ljetne škole u Zadru 2013. godine u kojem su sudjelovali studenti iz 22 europske zemlje. 2016. smo proglašeni najboljom udrugom studenata farmacije i medicinske biokemije na svijetu!



## Natjecanja Udruga studenata farmacije i medicinske biokemije Hrvatske (CPSA) PP40

### Croatian Pharmaceutical Student's Association (CPSA) Competition

Luka Bender, Jelena Durbek, Grgo Ljubičić, Severina Jajčević, Jelena Kurija, Tomislav Marković, Josipa Mileta, Jelena Mišić, Iva Mitrović, Teo Morožin, Petra Neralić, Tajana Iva Pejaković, Stjepan Perić, Bruno Rački, Sara Šipicki, Mia Šojat, Marin Tušinec, Dalia Vađunec, Marija Vladović, Marin Vrhovac, Karlo Žili, Katarina Žunić

Udruga studenata farmacije i medicinske biokemije Hrvatske – CPSA, nezavisna je, neprofitna i samostalna udruga osnovana 1994. godine na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu u Zagrebu. CPSA je jedina udruga u Republici Hrvatskoj koja zastupa studente farmacije i medicinske biokemije. Njezini članovi promiču edukaciju i informiranje o aktualnim temama na polju zdravstva, obilježavaju svjetske dane u zdravstvu te organiziraju projekte. Ponosni smo članovi europske i svjetske zajednice studenata.

Već dugi niz godina Udruga organizira Natjecanje u konzultacijskim vještinama (eng. *Patient Counselling Event*, PCE) u kojem studenti farmacije primjenjuju svoje stečeno znanje i vještine kroz savjetovanje pacijenata o pravilnoj primjeni terapije. U ovom projektu studenti imaju prilike poslušati predavanja i sudjelovati u farmakoterapijskim i konzultacijskim radionicama tesse natjecati u finalu. S obzirom na promjeneprograma, najnovija promjena jest uključivanje mlađih studenata kako bi se na samom početku fakultetskog obrazovanja susreli s ovim važnim aspektom struke.

Natjecanje u kliničkim vještinama (eng. *Clinical Skills Event*, CSE) zajednički je projekt studenata farmacije, medicinske biokemije i medicine. Na Natjecanju studenti imaju zadatak riješiti kompleksni klinički slučaj. Cilj

je potaknuti studente svih triju profesija na kritičko i praktično razmišljanje pri razmatranju kliničkog slučaja. Time se studenti vježbaju za svoje buduće zanimanje u kojem će se učestalo sretati sa pacijentima koji imaju kompleksnu kliničku sliku, a za koje je potrebno pronaći najbolji način liječenja. Osim primjene znanja iz raznih područja pojedinih struka u cilju osiguravanja optimalnog liječenja za pacijente, ovo Natjecanje potiče timski rad te esencijalnu interdisciplinarnu suradnju biomedicinskih struka.

Natjecanje u marketinškim vještinama (eng. *Marketing Skills Event*, MSE) prvo je takvo natjecanje u svijetu studenata farmacije i medicinske biokemije te zajednički projekt CPSA-e i Studentskog zbora Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta. U Natjecanju su sudjelovali studenti Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i Sveučilišta u Splitu koji su skupinama rješavali marketinški slučaj. S obzirom na veliku važnost marketinga u farmaceutskoj industriji te sve manjem udjelu biomedicinskih stručnjaka u njemu, ovo Natjecanje služi razvijanju kompetencija kolegama koji žele nastaviti karijeru u tom smjeru. Iako se marketing kao takav najčešće percipira kao prodaja i reklamiranje, on u zdravstvu ima mnogo važniju ulogu – osiguravanje najbolje moguće terapije i plasiranje kvalitetnih i nužnih proizvoda.



## PP41 Humanijada 2017. Humanijada 2017

Antonia Belušić<sup>1</sup>, Martina Drljanovčan<sup>1</sup>, Kevin Kovač<sup>1</sup>, Ivan Mamić<sup>1</sup>, Franjo Josip Marelja<sup>1</sup>, Mirna Momčilović<sup>1</sup>, Helena Orehovački<sup>1</sup>, Zvonimir Palac<sup>1</sup>, Lucija Sušilović<sup>1</sup>, Matej Svilar<sup>1</sup>, Željko Maleš<sup>2</sup>, Drago Vujević<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Studij farmacije i studij medicinske biokemije, FBF

<sup>2</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Humanijada je sportsko-edukacijski projekt koji se održava svake godine, a sudionici su studenti biomedicinskih fakulteta (medicine, stomatologije, farmacije, veterine...) iz Republike Hrvatske i Federacije Bosne i Hercegovine. Za vrijeme projekta studenti se natječu u ekipnim i pojedinačnim sportovima, sudjeluju na predavanjima i radionicama iz struke te prisustvuju organiziranim druženjima. Riječ je o najvećem skupu studenata biomedicinskih djelatnosti u Hrvatskoj, a cilj projekta je upoznati te intelektualno i socijalno približiti studente srodnih područja djelatnosti u svrhu bolje interdisciplinarnе suradnje u budućnosti. Organizacija za 2017. godinu povjerena je nezavisnoj i neprofitnoj Sportskoj udruzi Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, čijih je 10 članova Organizacijskog odbora pod vodstvom predsjednika Udruge, profesora dr.sc. Drage Vujevića, pokazalo zavidne marketinške i organizacijske vještine i trud kako bi uz pomoć donatora, sponzora i volontera iz Udruge osigurali financijsku i organizacijsku podršku projektu.

Ovogodišnja 25. po redu Humanijada održala se u Termama Tuhelj od srijede, 3. svibnja, do nedjelje, 7. svibnja 2017. godine s rekordnim brojem sudionika od preko 700 studenata. Sportska natjecanja započela su u četvrtak te kulminirala u subotu s polufinalnim i finalnim utakmicama ekipnih sportova, a odvijala su

se u deset disciplina: nogometu, rukometu, košarci, odbojci, odbojci na pijesku, tenisu, stolnom tenisu, plivanju, ergometru (veslanje) te krosu. Vremenske neprilike značile su veliki izazov za satnice sportova koji se održavaju na vanjskim terenima, no zahvaljujući snalažljivosti organizatora, svi su sportovi bili odigrani po planu i popraćeni brojnim gledateljstvom.

Osim sudjelovanja na sportskim natjecanjima, sudionici su imali priliku opustiti se preko dana u hotelskim bazenima te svaku večer prisustvovati zabavama uz glazbu stručnog DJ-a te profesionalnu rasvjetu i ozvučenje. Večernje zabave bile su odlično posjećene te su privukle i vanjske posjetitelje željne dobrog provoda. Posljednju večer održano je tradicionalno proglašenje pobjednika te dodjela medalja i pehara najbolje plasiranim sportašima/ekipama u muškoj i ženskoj kategoriji svakog sporta, nakon čega se zabava nastavila do ranih jutarnjih sati.

Farmaceutsko-biokemijski fakultet ponovno se istaknuo kao fakultet s najviše osvojenih odličja te je treću godinu zaredom osvojio titulu ukupnog pobjednika i tako uspješno zaokružio priču o jubilarnoj 25. Humanijadi kao domaćin i pobjednik.

KLJUČNE RIJEČI: *Humanijada, sport, studenti, biomedicinski fakulteti, natjecanje*

KEYWORDS: *Humanijada, sport, students, biomedical faculties, competition*



## Utjecaj pojave zdravstvenih djelatnika na školsku i predškolsku djecu Influence of the Appearance of Health Professionals on School and Pre-School Children

PP42

Marija Pehar, Anđela Sušac

*Farmaceutski fakultet Sveučilišta u Mostaru*

*Student Assembly Faculty of Pharmacy University of Mostar (SAFPUM)*

Posjet zdravstvenom djelatniku kod najmlađih pacijenata često uzrokuje nelagodnu i strah bez obzira na zdravstveno stanje. Takav posjet često se povezuje s bolom i uzimanjem preparata koje oni inicijalno ne žele. Ako su imali barem jedno neugodno iskustvo prilikom ranijeg posjeta, tada će strahovati da bi se to iskustvo moglo ponoviti. Sindrom bijele kute česta je pojava i u odraslih, a povezuje se i s hipertenzijom kod mjerenja arterijskog tlaka [1]. Svrha projekta je kroz simulaciju zdravstvene ustanove utjecati na najmlađe pacijente kako bi se oni oslobodili straha od djelatnika u bijelim kutama. Dugoročni cilj je u široj populaciji stvoriti pozitivne stavove prema ostvarenju osnovnih prava na zdravlje i korištenju zdravstvene zaštite djelujući od najranijih dana.

Projekt otvorenog tipa održan je 02.04.2017. godine u prostoru Mepas Mall-a. U simulaciji zdravstvene ustanove organizirana je bolnica u čijem su se sklopu nalazile ljekarna i čekaonica (igraonica). Svako dijete dobilo je svog medvjedića pacijenta kojeg smo liječili na razne načine, te smo ih pritom upoznavali s medicinskim priborom, lijekovima za vanjsku i unutarnju uporabu. Za vrijeme igre, istraživanje smo provodili s njihovim roditeljima u obliku ankete. Javnnozdravstvena kampanja trajala je tri sata, a ispitanici su bili slučajni prolaznici koji su se odazvali na sudjelovanje.

Ispitivanju je pristupilo ukupno 50 roditelja djece predškolske (3-5 g.) 32% i školske dobi (6-12 g.) 68%. Od toga 26% muške i 74% ženske djece.

Danas u svijetu vlada mišljenje kako je negativan stav prema zdravstvenim djelatnicima vrlo zastupljen u mlađim naraštajima. Na temelju provedene ankete uočili smo kako se strah od bijele kute neznatno smanjuje u školskoj dobi te prevladava kod muške djece od kojih 20% uvijek reagira negativno naspram ženske djece (16,8%). Pokazano je da korištenje lijekova ne prihvaća 38% djece neovisno o dobi. Ženska djeca imaju lošiji odnos prema lijekovima i to u 7,7%.

Rezultati pokazuju kako strah od bijele kute nije toliko izražen, a pozitivnom ishodu uvelike pridonosi adekvatan razgovor s djetetom. Zbog neznatnog postotka trebalo bi provoditi edukaciju među djecom kako bi se on što više reducirao. Također bi se trebala poticati svijest farmaceuta o prilagodbi lijekova dječjem uzrastu.

[1] S.S. Franklin, L.Thijs, T. W. Hansen, E. O'Brien, J. A. Staessen, Hypertension 62 (2013) 982-987.

KLJUČNE RIJEČI: *djeca, lijek, farmaceuti, bijela kuta*

KEYWORDS: *children, drug, pharmacists, white coat*





## PP43 Antibiotici – posljednja linija obrane Antibiotics – Last Line of Defense

Student Assembly Faculty of Pharmacy University of Mostar (SAFPUM), Student Association of the Faculty of Pharmacy (SAFF)

*Studij farmacije, Farmaceutski fakultet Sveučilišta u Mostaru  
u suradnji s Farmaceutskim fakultetom Sveučilišta u Sarajevu*

Antibiotici su lijekovi koji se koriste za liječenje bakterijskih infekcija i jedni su od najčešće propisivanih lijekova. U pedesetak godina upotrebe, bakterije su postale rezistentne na mnoge od njih [1]. Potvrđeno je kakonjihova pretjerana ili neopravdana upotreba vodi ka razvoju rezistencije što predstavlja veliki problem u Europi, ali i svijetu te je potrebno njihovo racionalnije propisivanje [2].

Svrha kampanje u sklopu Svjetskog tjedna svjesnosti o antibioticima bila je istražiti upoznatost javnosti s njihovom pravilnom primjenom i podići svijest o globalnom razvoju rezistencije. Jedan od glavnih ciljeva bio je razumijevanje antimikrobne rezistencije kroz djelotvornu komunikaciju, edukaciju i istovremenu provjeru znanja šire javnosti o antibioticima.

Ispitanici su bili pacijenti koji su se odazvali na sudjelovanje, a posjetili su ljekarne u kojima se provodila kampanja na području Mostara i Sarajevau vremenskom intervalu od 8h do 17h. Sudjelovalo je ukupno 269 ispitanika, od toga 175 muškaraca i 124 žene. Anketa se sastojala od 11 pitanja u tiskanom obliku te im je ona uručena prilikom posjeta ljekarni. Nakon ispunjene ankete pacijenti su upućeni o dobrobiti antibiotika kao i o njihovom ispravnom korištenju te sprječavanju rizika. Najviše pacijenata, njih 60% bilo je u dobnoj skupini od 18 do 40 godina.

Rezultati istraživanja pokazali su kako su gotovo svi ispitanici upoznati sa antibioticima (95%) te ih je koristilo 6,4% ispitanika, no kako su muškarci starije životne dobi manje skloni njihovom konzumiranju u odnosu na žene. Porazni su rezultati kako je polovica ispitanika svake dobne skupine i oba spola uvjerenja kako su antibiotici „univerzalni lijekovi“ neovisno o uzroku, pa tako tu tvrdnju zastupa 56,7% muškaraca i 51,3% žena od 18 do 40 godina no istovremeno 72% ispitanika tvrdi kako je upoznato sa antibiotikom rezistencijom. Muškarci su skloniji korištenju antibiotika za liječenje virusnih infekcija u odnosu na žene.

Zaključujemo kako su žene generalno više upoznate s važnošću pravilne upotrebe antibiotika i njihove potencijalne opasnosti. Smatramo kako je broj pacijenata koji nije upućen u pravilno korištenje antibiotika te indikacije za njihovu primjenu vrlo velik te kako su ovakve kampanje kao i ostale slične mjere od vrlo velike važnosti kako bismo educirali širu javnost.

[1] B.S. Levy. N Engl J Med. 1998; 338: 1376-8.

[2] J.E. Hoppe. Pharmacoeconomics. 1996; 10: 552-74.

**KLJUČNE RIJEČI:** *antibiotici, rezistencija, posljednja linija obrane, Svjetska zdravstvena organizacija*

**KEYWORDS:** *antibiotics, microbial resistance, last line of defense, World Health Organization*





Radionice



## R1 Radionice

### Prezentacijske vještine Presentation Skills

Bruno Rački

*Udruga studenata farmacije i medicinske biokemije Hrvatske (CPSA)*

Sigurno ste gledajući prezentacije Stevea Jobsa pomislili “Wow, kakva prezentacija”, “Odličan je govornik”, “Želim kupiti taj Appleov proizvod” i slično. Tajna njegovih uspješnih prezentacija ne leži samo u različitim psihološkim trikovima i pomno biranim riječima, već i o tome kakav nastup ima, što na sebi nosi te kako se ponaša na pozornici. Prezentacijske su vještine prijeko potrebne kako u profesionalnom, tako i u privatnom životu – iako se najčešće pomisli na puko prezentiranje ili prodaju, one podrazumijevaju puno više od toga. Svakodnevna komunikacija s drugima, način na koji se predstavljamo i način na koji govorimo jako utječu na

uspješnost prezentacije ili prijenosa poruke. U ovoj ćemo se radionici dotaknuti tehnika, zlatnih savjeta za prezentiranje, najčešćih pogreški i kako ih se riješiti te pokušati savladati jednu od najvažnijih prezentacijskih vještina – improvizaciju. Također, polaznici će imati prilike okušati se u prezentiranju pred drugima te tako u maloj i sigurnoj zoni riješiti se straha od prezentiranja.

Kako je rečeno u knjizi The McKinsey Mind: “Prezentiranje je ubojita vještina koju nosimo sa sobom u pravi svijet. Skoro pa je nepoštena prednost.”



## Solgar savjetovanje i mjerenje vitaminsko-mineralnog statusa

### Solgar Recommendations on and Measuring of the Vitamins and Mineral Status

R2

Maja Salajster

*Salvus d.o.o.*

Kasnih 40-ih godina prošloga stoljeća njemački liječnik i inženjer dr. Reinhard Voll, počeo je istraživanje i dokazivanje inovativnog načina testiranja koji se kroz literaturu može naći pod različitim nazivima, kao EAV (Elektro-akupunktura prema Voll-u), EDS (Elektro-dermalni screening) ili MSP-a (Meridian Stress procjena). Ova metoda je dokumentirana i dokazana u više od deset godina bolničkih studija u Njemačkoj, a danas se MSP-om u cijeloj Europi koristi više od 25.000 liječnika. U SAD-u, upotreba MSP-a trenutno je u velikom porastu među liječnicima alternativnih medicina. Sama metoda se zasniva na činjenici da se određeni vitamini i minerali više koncentriraju na određenim točkama na koži koje su najčešće i akupunkturne točke. Ove točke imaju znatno niži električni otpor, to jest one "provode više struje" nego okolna koža. Upravo mjerenjem tog otpora moguće je individualno odrediti status vitamina, minerala, enzima, antioksidanta i omega masnih kiselina.

Sva istraživanja su provedena su uz odobrenje FDA-e, a rađena je i studija korelacije kožnih analiza s dijagnostičkim analizama, kliničkom i laboratorijskom. U studiji je sudjelovalo 100 bolesnika, u prosjeku 30-ogodišnjaka. Korelacija između mjerenih EDA vrijednosti, koristeći standardne uvjete devijacija kod pacijenta sa stanjem kronične polineuropatije statistički je vrlo značajna sa 99,5%,  $P < 0,005$ . Tako je dokazano da, ukoliko se EDA tehnika pravilno koristi, može biti odličan alat za analizu i definiranje upalne polineuropatije.

U našem, Solgarovom, VMS timu svaki novi član prolazi teorijsku i praktičnu edukaciju. Teorijska edukacija o djelovanju vitamina, minerala, amino kiselina te biljnih hranjiva u organizmu. Također, prolazi edukaciju o Solgarovoj liniji dodatka prehrani koja se u samom sastavu i djelovanju uvelike razlikuje od drugih linija koje susrećemo na našem tržištu. Nakon testa provjere znanja prolazi se i praktični dio edukacije u ljekarnama ili specijaliziranim prodavaonicama lijekova, na kojima se usvaja sama tehnika mjerenja. Nakon usvajanja i provjere teorijskih i praktičnih znanja kreće se sa samostalnim radom. Na samom mjerenju, odnosno savjetovanju, kroz razgovor je potrebno prikupiti što više informacija o pacijentu: od kojih bolesti boluje, koje terapije uzima, da li ima alergije, eventualnim operativnim zahvatima te koje dodatke prehrani trenutno koristi. Poželjno je uzeti u obzir način prehrane, tjelesnu težinu, stanje probave te ostale tegobe kod pacijenta. Kod žena, preporuča se provjeriti je li ciklus redovit, je li osoba trudnica ili dojilja. Uz pomoć aparata mogu se odrediti: vitaminima B skupine, C, E i A vitamini, omega, cink, selen, kalcij, magnezij i koenzim Q10. Na temelju rezultata mjerenja i prikupljenih podataka, određuje se ciljana suplementacija da bi se postigla ravnoteža vitamina i minerala u organizmu u cilju općeg poboljšanja zdravlja.

Radionicu ćemo završiti demonstracijom mjerenja te praktičnim vježbama za studente.





It is all about simplicity!

## Power Link

Link together immunochemistry, clinical chemistry and laboratory safety to form an unique automated workcell



AU 680

Power Link

UniCel Dxl 600 or 800

BUKUREŠT 149€

HELSINKI 199€

OSLO 199€

STOCKHOLM 199€



Stockholm - skandinavská prijestolnica, od 19. 5. 2017.

Helsinki - grad suvremene arhitekture i dizajna, od 21. 5. 2017.

Oslo - vikinški grad na fjordovima, otocima i jezerima, od 21. 5. 2017.

Bukurešt - grad parkova, avenija i zelenih trgova, od 19. 5. 2017.

**Posebna pogodnost - svi putnici na novim linijama ostvaruju duple milje u Miles & More programu ako se registriraju na: [www.miles-and-more.com](http://www.miles-and-more.com)**

Cijene se odnose na aviokarte za izravne povratne letove Croatia Airlinesa iz Zagreba. Aviokarte za putovanja iz Dubrovnika, Pule, Splita i Zadra, preko Zagreba, mogu se kupiti po cijeni od 229 EUR za Helsinki, Oslo i Stockholm, te po cijeni od 179 EUR za Bukurešt. U cijenu su uključene pristojbe zračnih luka i naknada za izdavanje zrakoplovne karte (TSC) za kupnju na [www.croatiaairlines.hr](http://www.croatiaairlines.hr) i [m.croatiaairlines.hr](http://m.croatiaairlines.hr). Broj mjesta po promotivnoj cijeni na svakom je letu ograničen.



072 500 505, +385 1 6676 555

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

A STAR ALLIANCE MEMBER

CROATIA AIRLINES  
Moja aviokompanija.





**Galenski laboratorij**  
**Analitički laboratorij**

### **38 ljekarničkih jedinica**

Ravnateljstvo  
Služba za centralnu nabavu lijekova  
Služba za farmakoanalizu i obradu recepata  
Služba za informatiku  
Služba za opće, pravne i kadrovske poslove  
Služba za računovodstvo i financije  
Služba za razvoj, kvalitetu i marketing  
Služba za zaštitu na radu



**Gradiska Ljekarna**  
**Zagreb**

Kralja Držislava 6, Zagreb | [www.gljz.hr](http://www.gljz.hr)



## Gradska Ljekarna Zagreb

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

Gradska Ljekarna Zagreb  
Kralja Držislava 6  
10 000 Zagreb

Ravnateljstvo  
telefon: +385 (0)1 4555-033  
e-mail adresa:  
ravnateljstvo@gljz.hr

Galenski laboratorij  
telefon: +385 (0)1 6586-451

Analitički laboratorij  
telefon: +385 (0)1 6626-152

Ljekarna	radno vrijeme	telefon
Vidrićeva 38a	07-20 h	2312-165
Trg žrtava fašizma 8	07-20 h	4611-141
Draškovićeva 13	07-20 h	4612-287
Vlaška 84	07-20 h	4617-428
Ilica 43	07-20 h	4848-450
Medveščak 111	07-20 h	4667-870
Zrinjevac 20	07-20 h	4873-873
Trg k. Tomislava 13	07-20 h	4572-122
Svačićev trg 17	07-20 h	4856-545
Masarykova 2	07-20 h	4872-850
Kamenita 9	08-16 h	4852-109
Savska 10	07-20 h	4836-277
Ozaljska 132	08-16 h	3631-579
<b>SIGET Av. V. Holjevca 22</b>	<b>00-24 h</b>	<b>6525-425</b>
<b>Ozaljska 1</b>	<b>00-24 h</b>	<b>3097-586</b>
Marohničeva 3	07-20 h	6190-639
Ilica 79	07-20 h	3771-651
<b>Ilica 301</b>	<b>00-24 h</b>	<b>3750-321</b>
PODSUSED Podsusedska aleja 79	07-20 h	3490-448
<b>Centralna, Trg bana J. Jelačića 3</b>	<b>00-24 h</b>	<b>4816-198</b>
ŠESTINE Šestinska cesta 1	07-20 h	4637-568
SESVETE Bjelovarska 2	07-20 h	2001-411
Mirogojska 11	07-20 h	3836-274
KLANJEC Trg mira 6	07-15 h	049-550-171
Runjaninova 4	07-20 h	4897-643
Kosorova 17	07-20 h	2316-124
Gruška 22	07-20h	6157-617
<b>Grižanska 4</b>	<b>00-24 h</b>	<b>2992-350</b>
Maksimirska 14	07-20 h	2311-090
Maksimirska 81	07-20 h	2319-234
RAVNICE Šeferova 1	07-20 h	2312-895
UTRINE Hrastin prilaz 3	07-20 h	6673-583
GAJNICE Hrvatskih iseljenika 1	07-20 h	3454-064
RETKOVEC Al. lipa 2a	07-20 h	2851-201
PREČKO Slavenskog 12	07-20 h	3882-852
GAJEVO H. Macanovića 2a	07-20 h	3691-337
BOROVJE Zdeslava Turića 1	07-20 h	6137-711
TRNJE Strojarska 16	07-20 h	6152-905



# vizols

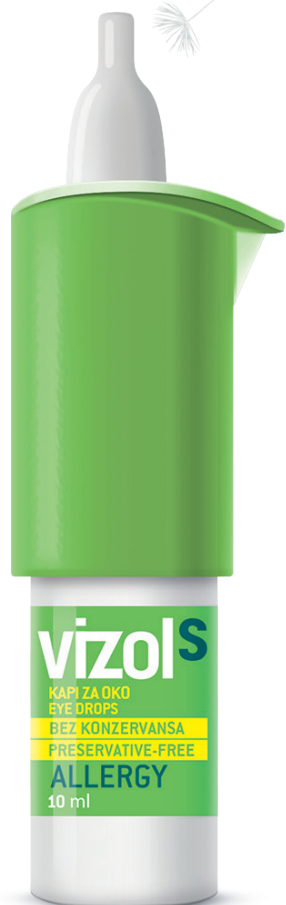
## Allergy

Kapi za oči  
sektoinom

# AQUA MARIS

4ALLERGY

Sprej za nos  
sektoinom



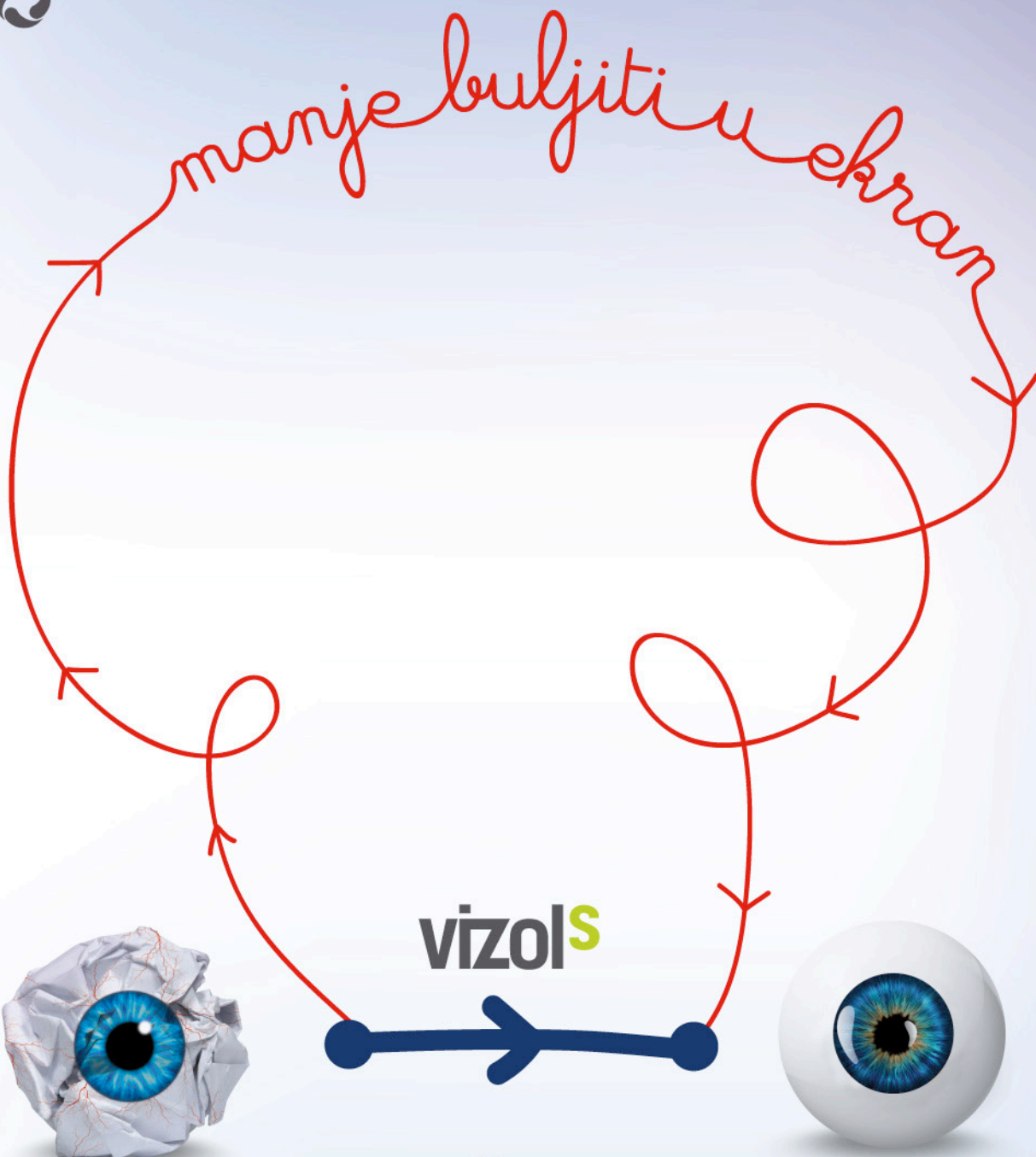
## VIDLJIVA POMOĆ

kod neugodnih simptoma alergije

Ektoin - potpuno prirodan način zaštite  
očiju i nosa od alergena i iritansa.

jgl  
Kao kap vode na dlanu





## Duži put ili kap do rješenja?

Vidno kraći put do trenutnog olakšanja od simptoma suhog oka. **Vizol S** kapi za oči djeluju brzo i sigurno – ovlažuju, njeguju i pružaju zaštitu oka.

BEZ KONZERVANSA

ROK TRAJANJA 6 MJESECI  
OD OTVARANJA







PONEDJELJAK

B.L.T.



UTORAK

SPICY ITALIAN



SRIJEDA

PILEĆA PRSA



ČETVRTAK

ŠUNKA

Svaki dan  
drugačiji  
okus!

SUB  
OF THE  
DAY™

15 kn

NAĐITE  
NAS U  
ARENA  
CENTAR



PETAK

VEGGIE DELITE®



SUBOTA

PILEĆA FAJITA



NEDJELJA

FALAFEL

SUBWAY  
eat fresh.®

Fotografije proizvoda su ilustrativne. Ponuda se odnosi samo na 15 cm dugi sendvič i ne može se kombinirati s drugom ponudom ili akcijom. Dodatni sastojci se mogu posebno naplaćivati. Akcija se odnosi samo na određene restorane. SUBWAY® registrirani je zaštitni znak tvrtke Subway IP Inc. © 2017 Subway IP Inc.



# HIDRADENITIS SUPPURATIVA

**HIDRADENITIS SUPPURATIVA** (HS, gnojni hidradenitis, *acne inversa*) je kronična, imunološki posredovana bolest kože karakterizirana upalnim lezijama uobičajeno smještenim u području pazuha i prepona, kao i ispod dojki, na stražnjici te na unutarnjoj strani bedara gdje se koža međusobno dodiruje. U upalnim područjima često se pojavljuju apscesi, upalni noduli te drenirajuće fistule i to najčešće na mjestima bogatim apokrinim žlijezdama. HS nije infektivna ili zarazna, već imunološki posredovana upalna bolest.<sup>1,2</sup>

**BOLEST SE ČESTO NE PREPOZNAJE,** a bolesnici koji žive s tom bolešću nerado govore o simptomima.<sup>2</sup>

## TEŠKI OBLICI HS-a:<sup>2,3,4</sup>

Višestruki međusobno povezani sinusni kanalići i apscesi iz kojih se drenira sadržaj vrlo neugodnog mirisa.

## HIDRADENITIS SUPPURATIVA

**MOŽE SE POJAVITI U BILO KOJOJ ŽIVOTNOJ DOBI**

obično se javlja u odraslih nakon 20. godine života<sup>2</sup>

**UČESTALOST HS-a**

se smanjuje nakon 50. godine života<sup>2</sup>

**ŽENE ČEŠĆE OBOLJEVAJU OD MUŠKARACA**

**2X DO 5X<sup>3,4</sup>**

**OTPRILIKE 1/3**

dijagnosticiranih bolesnika ima HS u obiteljskoj anamnezi<sup>2,3,4</sup>

**MEDIČINSKA ISTRAŽIVANJA pokazala su da postoji povezanost između HS-a i**

**PUŠENJA<sup>2,4</sup> PRETILOSTI**

Globalna stopa prevalencije HS-a procjenjuje se na oko

**1% OPĆE POPULACIJE.<sup>1</sup>**



**HS**  
HIDRADENITIS SUPPURATIVA  
ONLINE

[www.hsonline.com.hr](http://www.hsonline.com.hr)

Internetska stranica HS online namijenjena je zdravstvenim djelatnicima i HS bolesnicima u Republici Hrvatskoj.

### BLAGI OBLIK

Jedan ili nekoliko izoliranih furunkula bez sinusnih kanalića ili ožiljaka.

### UMJERENI OBLIK

Furunkuli koji se učestalo ponavljaju na jednom ili više različitih područja s ožiljcima i sinusnim kanalićima.

### TEŠKI OBLIK

Široko rasprostranjeni furunkuli s višestrukim, međusobno povezanim kanalićima uzduž zahvaćenog područja uz ožiljke i gnojni sadržaj neugodnog mirisa.

Dermatolozi obično procjenjuju znakove i simptome HS-a pomoću Hurley ljestvice, čije su kategorije razvijene na temelju kliničke ocjene težine bolesti.<sup>2,3,4</sup>

#### Literatura:

1. Mayo Clinic. Hidradenitis Suppurativa. Dostupno na: <http://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/hidradenitissuppurativa/basics/definition/con-20027334>. Pristup: prosinac, 2015.
2. Jemec GB. Clinical practice. Hidradenitis suppurativa. N Engl J Med 2012;366:158–164.
3. Collier F, Smith R, Morton C. Diagnosis and management of hidradenitis suppurativa. BMJ 2013;346:f2121.
4. Zouboulis CC, Tsatsou F. Disorders of the apocrine sweat glands. In: Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrist BA, Paller AS, Leffell DJ, Wolff K. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. 8th ed. New York, Chicago: McGraw Hill; 2012. p947–959.

BILJEŠKE

Dotted lines for notes.









