

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/17



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	L2-4166
Naslov projekta	Sinteza dendroniziranih polipeptidov za uporabo v biomedicini
Vodja projekta	12318 Ema Žagar
Tip projekta	L Aplikativni projekt
Obseg raziskovalnih ur	7560
Cenovni razred	
Trajanje projekta	07.2011 - 06.2014
Nosilna raziskovalna organizacija	104 Kemijski inštitut
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	258 Lek farmacevtska družba d.d. 795 Univerza v Mariboru, Fakulteta za strojništvo
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	2 TEHNIKA 2.04 Materiali 2.04.03 Polimerni materiali
Družbeno-ekonomski cilj	07. Zdravje
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	2 Tehniške in tehnološke vede 2.05 Materiali

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta¹

SLO

Na področju dostave visoko-molekularnih zdravilnih učinkovin (biofarmacevtikov) smo se usmerili v sintezo hibridnih polimerov na osnovi polipeptidov in derivatov hitosana. Nadalje smo sintetizirane polimere uporabili za pripravo dostavnih sistemov biofarmacevtikov v obliki nanodelcev, z namenom peroralne dostave. V ta namen smo pripravili več serij različnih kopolimerov z glavno verigo na osnovi

sintetičnih polipeptidov oziroma polisaharidov s poudarkom na hitosanu ter njunih kombinacij. V okviru projekta smo tako uspešno sintetizirali kopolimere različne kemijske sestave in arhitektur: (i) kopolimere s pripajanjem (hitosan-*graft*-poliglutamat), (ii) glikoziliran hitosan, (iii) dendronizirane polipeptide, (iv) glikoziliran polipeptid in (v) hidrofobno modificirane polipeptide. Kopolimere s pripajanjem, to je hitosan-*graft*-poli(L-glutamatne) kopolimere z različno dolgimi peptidnimi grafti, kot tudi poli(L-glutamat), modificiran do različne stopnje s hidrofobnimi skupinami, smo skupaj z *N,N,N*-trimetilhitosanom uspešno uporabili za pripravo nanodelcev, v katere smo vgradili visok delež proteinske zdravilne učinkovine, to je granulocitne kolonije stimulirajočega faktorja (GCSF). Raziskali smo vpliv kemijske sestave polimernih nosilcev, delež dodanega biofarmaceutika in vpliv količine dodanega *N,N,N*-trimetilhitosana na lastnosti nanodelcev. Tako pripravljene nanodelci na osnovi hitosan-*graft*-poli(L-glutamata) z vgrajeno zdravilno učinkovino so imeli povprečni premer med 240 in 320 nm, in ozko porazdelitev velikosti. Pokazali smo, da so nanodelci temperaturno in časovno stabilni, saj se njihova velikost ni bistveno spreminjala. Pri proučevanju pH stabilnosti nanodelcev smo ugotovili, da so nanodelci nestabilni pri pH vrednostih nad izoelektrično točko biofarmaceutika, kar je želeno in v skladu s pričakovanji za zasnovani sistem nanodelcev. V primeru poli(L-glutamata), modificiranega do različne stopnje s hidrofobnimi skupinami, smo ugotovili, da hidrofobna narava stranskih alkilnih skupin, poleg elektrostaskih interakcij, bistveno pripomore k večji učinkovitosti asociacije z GCSF proteinom. Rezultate raziskav smo zaščitili z mednarodno patentno prijavo, objavili v več znanstvenih publikacijah in predstavili širši javnosti v obliki predavanj na domačih in mednarodnih konferencah.

ANG

In the field of delivery of high molecular-weight active pharmaceutical ingredients (biopharmaceuticals) we have focused on the synthesis of polymer carriers, i.e. hybrid polymers based on polypeptides and chitosan derivatives. Further, the synthesized polymers were applied for preparation of drug delivery systems of biopharmaceuticals in the form of nanoparticles for oral delivery purposes. For this aim the series of different copolymers with the main chain based on synthetic polypeptides or polysaccharides with emphasis on chitosan as well as the combinations thereof, were prepared. Thus, in the scope of this project we successfully synthesized the copolymers of different chemical composition and architecture: (i) graft copolymers of hitosan and polyglutamate, (ii) glycosylated chitosan, (iii) dendronized polypeptides, (iv) glycosylated polypeptide and (v) hydrophobically modified polypeptides. The graft copolymers, i.e. chitosan-*graft*-polyglutamates with varying length of polypeptide grafts, as well as the polyglutamates modified to a different degree with hydrophobic groups were, in combination with the *N,N,N*-trimethyl chitosan, successfully applied for preparation of nanoparticles in which a high portion of protein drug (i.e. granulocyte-colony stimulating factor, GCSF) was incorporated. We have studied the effect of chemical composition of the polymer carrier, the amount of added biopharmaceutical as well as the amount of added *N,N,N*-trimethyl chitosan on the properties of the formed nanoparticles. Nanoparticles of GCSF based on hitosan-*graft*-polyglutamate copolymers showed diameters in the range of 240 - 320 nm and narrow size distribution. These nanoparticles were temperature and time-stable as indicated insignificant change in their size over time at different temperatures. Nanoparticles showed the pH-dependent stability since they became unstable at pH higher than the isoelectric point of nanoparticles, which was expected and desired for the designed system. In the case of polyglutamates modified to a different degree with hydrophobic groups, the study revealed the importance of hydrophobic side groups on polyglutamate main chain since they, besides the electrostatic interactions, considerably contribute to association efficiency with the GCSF biopharmaceuticals. The results of this research were protected with an international patent application, published in several scientific publications and presented to broader scientific community in the form of invited/oral lectures at domestic and international conferences.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

V praksi so dostavni sistemi, kjer zdravilno učinkovino vežemo na polimerni nosilec že pokazali izboljšano terapevtsko učinkovitost, hkrati pa zmanjšali negativne stranske učinke zdravljenja. V te namene so do sedaj večinoma uporabljali naravne in sintetične linearne (ko)polimere, katerih pomanjkljivost je, da imajo omejeno število funkcionalnih skupin ali v mnogih primerih kažejo preširoko porazdelitev molske mase. Iz omenjenega razloga so raziskave na področju biomedicine in farmacije usmerjene v razvoj novih, učinkovitejših dostavnih sistemov pri katerih z natančnim moduliranjem kemijske sestave, arhitekture in molske mase prilagodimo lastnosti polimernega nosilca želenim. Namen razvoja novih dostavnih sistemov zdravilnih učinkovin, je izboljšati učinkovitost zdravljenja v primerjavi z obstoječimi farmacevtskimi oblikami ali pripraviti učinkovite nove dostavne sisteme. V ta namen so preizkusili že široko paleto materialov, od naravnih in sintetičnih polimerov, lipidov, površinsko aktivnih snovi, dendritskih polimerov itd.

Cilj projekta je bila priprava novih t.i. inteligentnih polimerov, ki imajo sposobnost spontanega asociiranja s proteinsko učinkovino v ustrezni dostavni sistem. Fokus večine raziskav je usmerjen k nanometerskim sistemom predvsem zaradi specifičnih lastnosti, ki izvirajo iz njihove majhnosti in nudijo izboljšane in nove možnosti terapij. Ker se proteinske učinkovine po svoji velikosti, strukturi, stabilnosti idr. bistveno razlikujejo od klasičnih nizkomolekularnih zdravilnih učinkovin, je njihovo oblikovanje v dostavne sisteme drugačno od klasičnih metod enkapsuliranja. Zaradi svoje občutljive tridimenzionalne strukture, zahtevajo proteini blage pogoje rokovanja (odsotnost ostrih pogojev mešanja, segrevanja, nevodnih medijev idr.), kar zelo omeji izbiro metode izdelave dostavnega sistema. Ena pomembnejših metod je spontana asociacija ali polielektrolitska kompleksacija vodotopnih polimerov in proteinske zdravilne učinkovine. Izdelava tovrstnih nano-asociatov tehnološko ni zahtevna (vključuje postopno združevanje posameznih komponent), vendar pa je njihova tvorba oz. asociiranje ključno pogojena s kemijsko sestavo in arhitekturo posameznih komponent (polimer, protein). Polimeri, ki jih pogosto uporabljajo za takšno asociiranje s proteinskimi učinkovinami so naravni polielektroliti (npr. polisaharidi). Ti se povečini preko nespecifičnih elektrostatskih interakcij kompleksirajo v asociate oziroma nanodelce. Vendar pa je v praksi zelo malo kombinacij polianionov in polikationov, ki vodijo do primerno stabilnih nanosistemov.

Cilj raziskovalnega projekta je bil tako pripraviti nove netoksične, biorazgradljive in biokompatibilne polimerne nosilce, ki bi bili potencialno uporabni za peroralno dostavo visoko-molekularnih proteinskih/peptidnih učinkovin (biofarmacevtikov). V predlogu raziskovalnega projekta smo predlagali različne sintezne poti za pripravo hibridnih kopolimerov na osnovi polipeptidne ali polisaharidne glavne verige, ki se razlikujejo v kemijski sestavi in funkcionalnosti glede na vrsto proteina in namembnost uporabe. V okviru projekta smo tako načrtali nove sintezne poti in jih nato uporabili za pripravo novih polimerov različnih arhitektur. V ta namen smo uspešno pripravili niz treh kopolimerov s pripajanjem, to je hitosan-*graft*-poli(L-glutamat) (Chi-*g*-PGlu) kopolimere z različno dolgimi peptidnimi grafi. Sinteza je vključevala pripravo makroiniciatorja – organosulfonske soli hitosana, ki je topna v polarnem organskem topilu DMSO. Sledila je polimerizacija z odpiranjem obroča monomera *N*-karboksianhidrida γ -benzil L-glutamata (BGlu NCA) in nato odščita tako pripravljenih benzil- zaščitenih *graft* kopolimerov z različnimi postopki. Najučinkovitejši postopek odščite, pri katerem hitosan najmanj razpade, je uporaba vodne raztopine tetrabutylamonijevega hidroksida. Sintetiziranim *graft* kopolimerom smo strukturo in molsko maso podrobno opredelili z uporabo različnih tehnik karakterizacije (NMR, SEC-MALS, FTIR). Chi-*g*-PGlu kopolimere smo nato skupaj s N,N,N-trimetilhitosanom (TMC) uspešno uporabili za pripravo nanodelcev, v katere smo vgradili proteinsko zdravilno učinkovino - granulocitne kolonije stimulirajoč faktor (GCSF). Pripravili smo nanodelce z visokim deležem vgrajene zdravilne učinkovine (do 45 %). Nanodelci so imeli povprečni premer med 240 in 320 nm, polidisperznost delcev, določena s tehniko DLS, pa je znašala med 0,15 in 0,26. Raziskali smo vpliv dolžine *graft*iranih peptidnih verig, delež dodanega GCSF proteina in vpliv količine dodanega TMC na lastnosti nanodelcev. Pokazali smo, da so nanodelci temperaturno (v območju med 25 in 39°C) in časovno obstojni, saj se njihova velikost ni bistveno spreminjala. Pri

proučevanju pH stabilnosti nanodelcev smo ugotovili, da so nestabilni pri pH vrednostih nad izoelektrično točko GCSF proteina (6,1), kar je želeno in v skladu s pričakovanji za zasnovani sistem nanodelcev. Delo je bilo objavljeno v reviji Cellulose in patentno zaščiteno.

Hitosan smo N-funkcionalizirali tudi z bis-O-glikoziliranimi derivati 2,2-bit(metilol) propionske kisline. Najprej smo sintetizirali glikozilirane derivate 2,2-bis(metilol) propionske kisline (bis-MPA), ki so vsestranski glikodendritski gradniki. Pripravili smo jih z direktno O-glikozilacijo benzilno zaščitene bis-MPA z d-glukoza pentaacetatom. Ko smo odstranili benzilno skupino s hidrogenacijo, smo bis-O-glikozilirano bis-MPA s prosto karboksilno skupino pripeli na tritilno zaščiten hitosan. Tritilne skupine smo nato odstranili pod kislimi pogoji, da smo dobili acetilno zaščiten glikozilirani hitosan, ki tvori gel v vodi. Acetilne skupine smo nato odstranili pod bazičnimi pogoji. Dobljeni glikozilirani hitosan je vodotopen pri fizioloških pogojih, kar je prednost pred samim hitosanom, in je primeren za nadaljnjo uporabo kot potencialni nosilec v dostavni sistemih zdravilnih učinkovin. Sintezno pot za pripravo N-funkcionaliziranega hitosana z bis-O-glikoziliranimi derivati 2,2-bit(metilol)propionske kisline smo objavili v reviji Cellulose.

Vzporedno smo sintetizirali tudi serijo negativno nabitih, vodo-topnih, hidrofobno modificiranih poli(natrijevih glutamatov) z različnimi deleži alkilnih grafov z namenom, da bi ugotovili vpliv hidrofobnih alkilnih skupin na učinkovitost asociiranja z GCSF biofarmaceutikom. Sintezna pot je obsegala pripravo poli(γ -benzil-L-glutamata) s polimerizacijo z odpiranjem obroča ustreznega N-karboksianhidrida. Nato smo benzilne esterske skupine delno aminolizirali z oktilaminom. Delež aminolize smo kontrolirali s spreminjanjem molskega razmerja med oktilaminom in benzilglutamatnimi ponavljajočimi skupinami. Degradacijo polipeptida smo preprečili z dodatkom 2-hidroksipiridina. Stopnjo alkiliranja smo določili z ^1H NMR spektroskopijo in molekularno strukturo z MALDI-TOF MS. Po odstranitvi benzilnih zaščitnih skupin, smo dobili alkilno serijo modificiranih poli(natrijevih glutamatov) (P(Glu-*oa*)), ki smo jih skupaj z nasprotno nabitim N,N,N-trimetil hitosanom (TMC) uporabili za pripravo nanodelcev z rekombinantnim granulocitnim rastnim dejavnikom (GCSF) z metodo polielektrolitske kompleksacije. Opazili smo, da poleg elektrostatskih interakcij, hidrofobni grafi na poli(natrijevem glutamatu) bistveno pripomorejo k bolj učinkoviti asociaciji z GCSF proteinom. Z dodatkom raztopine N,N,N-trimetil hitosana k disperziji GCSF/P(Glu-*oa*) kompleksov smo dobili veliko bolj definirane nanodelce z visoko stopnjo asociacije in visokim končnim polnjenjem proteina. Delo smo objavili v reviji Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry.

Pripravili smo glikozilirani polipeptid in sicer smo v prvi stopnji sintetizirali homopolipeptid poli(L-glutamat) (PGlu) in nato njegove stranske karboksilne skupine pod zelo blagimi pogoji v vodnem mediju kontrolirano glikozilirali z uporabo reagenta 4-(4,6-dimetoksi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinijev klorid (DMTMM). Reakcijske produkte smo analizirali z 1D in 2D NMR tehnikami ter s SEC-MALS in MALDI-TOF MS ter tako opredelili vrsto in delež stranskih produktov, stopnjo glikozilacije in molsko maso sintetiziranih produktov. Produkt je v fazi testiranja za pripravo dostavnih sistemov, sintezno pot priprave glikoziliranega polipeptida pa smo objavili v reviji Molecules.

Zasnovali, sintetizirali in opredelili smo še modelni predstavnik dendroniziranega poliglutamata, P(Glu-D), kjer je stopnja polimerizacije (DP_n) znašala 46, delež dendroniziranih ponavljajočih enot 43 %, dendroniziran pa je bil z dendronom druge generacije. Ugotovili smo odlično ujemanje predlagane strukture P(Glu-D) z eksperimentalno določenimi (NMR, SEC-MALS in MALDI-TOF MS). Sinteza je potekala tako, da smo z DMTMM na PGlu preko amidnih vezi vezali bifunkcionalni gradnik ($\text{N}_3\text{-Pr-NH}_2$). Poliamidni dendron druge generacije smo sintetizirali po večstopenjski sintezni poti, kjer smo na karboksilno skupino aminokisline L-lizin preko amidne vezi najprej vezali propargilamin, na amski skupini aminokisline pa smo nato vezali zaščiteno 2,2-bis(metilol)propanojsko kislino (bis-MPA). Hidroksilne skupine nastalega dendrona druge generacije smo kvantitativno odščitili pod blago kislimi pogoji. Na azidne skupine modificiranega linearnega kopolipeptida, P(Glu- N_3) smo nato, s tvorbo 1,4-disubstituiranega triazola, vezali dendron z acetilensko fokalno skupino pod pogoji z Cu (I) katalizirane azid-alkin cikloadicije. Vezava dendrona na linearni kopolimer P(Glu- N_3) je potekla kvantitativno v 48 urah v vodnem mediju, kar smo potrdili z ^1H NMR in s FTIR.

Produkt je v fazi testiranja za pripravo dostavnih sistemov, članek pa v pripravi.

4. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev³

Raziskave so potekale po planu in zastavljeni cilji raziskovalnega projekta so v celoti doseženi. V okviru projekta smo uspešno pripravili kopolimere različne kemijske sestave in arhitektur: (i) kopolimere s pripajanjem (hitosan-graft-poliglutamat), (ii) glikozilirani hitosan, (iii) dendronizirane polipeptide, (iv) glikozilirani polipeptid in (v) hidrofobno modificirane polipeptide. Kopolimere s pripajanjem, to je hitosan-graft-poliglutamat, in hidrofobno modificirane polipeptide smo uporabili za pripravo nanodelcev in dosegli izjemno visoko vgradnjo proteinske zdravilne učinkovine. Raziskali smo tudi lastnosti pripravljenih nanosistemov.

5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁴

Vsebina in cilji projekta L2-4166 se v času trajanja niso spreminjali. Prav tako se v času trajanja projekta ni spremenila sestava projektne skupine.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	5522714	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Sinteza hitosan-graft-poli(natrijevega-L-glutamata) za pripravo nanodelcev z vgrajeno proteinsko zdravilno učinkovino
		ANG	Synthesis of chitosan-graft-poly(sodium-L-glutamate) for preparation of protein nanoparticles
	Opis	SLO	Zasnovali smo sintezno pot in pripravili niz kopolimerov hitosan-graft-poli (natrijev-L-glutamat), z različnimi dolžinami poli(L-glutamatnih) verig. Kot iniciator za polimerizacijo N-karboksianhidrida γ -benzil-L-glutamata smo pripravili sol hitosana in organske sulfonske soli, ki je topna v DMSO. Tako pripravljene kopolimere hitosan-graft-poli(γ -benzil-L-glutamat) smo nato odščitili z uporabo tetrabutilamonijevega hidroksida. Povprečja in porazdelitev molskih mas ter kemijsko sestavo kopolimerov z različnimi dolžinami polipeptidnih verig smo določili s SEC-MALS, FTIR in z vrsto NMR eksperimentov. Sintetizirane kopolimere smo uporabili skupaj s trimetil hitosanom za pripravo nanodelcev z vgrajenim proteinom granulocitne kolonije stimulirajočim faktorjem (GCSF). Pripravili smo suspenzije nanodelcev s tipičnim povprečnim premerom 200–300 nm in indeksom polidisperznosti pod 0,26. Dosegli smo do 95 % učinkovitost vgradnje in izjemno visok delež vgrajenega GCSF proteina v nanodelce, ki je znašal do 45% celotne mase nanodelcev. Preučili smo časovno, temperaturno in pH stabilnost pripravljenih nanodelcev.

		<p>salt, soluble in DMSO, was prepared in order to effectively initiate ring-opening polymerization of γ-benzyl-L-glutamate N-carboxyanhydride. The chitosan-graft-poly(γ-benzyl-L-glutamate) copolymers were fully deprotected by applying tetrabutylammonium hydroxide. The molar mass characteristics and the chemical composition of graft copolymers with various lengths of polypeptide grafts were determined by SEC-MALS, FT-IR and various NMR spectroscopic techniques. The synthesized copolymers were further used in combination with trimethyl chitosan for the preparation of nanoparticles (NPs) of a recombinant granulocyte colony-stimulating factor (GCSF). The suspensions of NPs with typical average diameter of 200–300 nm were obtained with polydispersity index values below 0.26. The achieved loading efficiency was up to 95% and the final loading of GCSF protein in NPs was up to 45%. The time, temperature and pH stability of NPs was also studied.</p>
	Objavljeno v	Chapman & Hall; Kluwer Academic Publishers; Cellulose; 2014; Vol. 21, iss. 5; str. 3469-3485; Impact Factor: 3.033; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 0.853; A'': 1; A': 1; WoS: PJ, QJ, UY; Avtorji / Authors: Perdih Peter, Pahovnik David, Cegnar Mateja, Miklavžin Ana, Kerč Janez, Žagar Ema
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
2.	COBISS ID	5555226 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<p><i>SLO</i> N-funkcionalizacija hitosana z bis-O-glikoziliranimi derivati 2,2-bit(metilol) propionske kisline</p> <p><i>ANG</i> N-functionalization of chitosan with bis-O-glycosylated derivative of 2,2-bis(methylol)propionic acid</p>
	Opis	<p><i>SLO</i> Sintetizirali smo glikozilirane derivate 2,2-bis(metilol)propionske kisline (bis-MPA), ki so vsestranski glikodendritski gradniki. Pripravili smo jih z direktno O-glikozilacijo benzilno zaščitene bis-MPA z d-glukozo pentaacetatom. Ko smo odstranili benzilno skupino s hidrogenacijo, smo bis-O-glikozilirano bis-MPA s prosto karboksilno skupino pripeli na tritilno zaščiten hitosan. Tritilne skupine smo nato odstranili pod kislimi pogoji, da smo dobili acetilno zaščiten glikozilirani hitosan, ki tvori gel v vodi. Acetilne skupine smo nato odstranili pod bazičnimi pogoji. Dobljeni glikozilirani hitosan je vodotopen pri fizioloških pogojih in je primeren za nadaljnjo uporabo kot potencialni nosilec v dostavni sistemih zdravilnih učinkovin.</p> <p><i>ANG</i> A glycosylated 2,2-bis(methylol)propionic acid (bis-MPA) derivative as a versatile glycodendritic building block was synthesized by direct O-glycosylation of benzyl protected bis-MPA with d-glucose pentaacetate. After removal of the benzyl protection group by hydrogenation, the obtained bis-O-glycosylated bis-MPA unit with free carboxyl group was applied for modification of trityl protected chitosan by amidation. The removal of the 6-O-trityl protection group on chitosan backbone under acidic conditions yields acetyl protected glycosylated chitosan that forms gel in water. The acetyl protection group of d-glucose was removed under alkaline conditions to form glycosylated chitosan which is water-soluble at physiological conditions and, thus, it is suitable for further investigation as a potential carrier in drug delivery systems.</p>
	Objavljeno v	Chapman & Hall; Kluwer Academic Publishers; Cellulose; 2014; Vol. 21, iss. 6; str. 4145-4156; Impact Factor: 3.033; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 0.853; A'': 1; A': 1; WoS: PJ, QJ, UY; Avtorji / Authors: Ješelnik Marjan, Žagar Ema
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
3.	COBISS ID	5609754 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Popolimerizacijska modifikacija poli(L-glutaminske kisline) z D-(+)-

		glukozaminom
	ANG	Post-polymerization modification of poly(L-glutamic acid) with D-(+)-glucosamine
Opis	SLO	Na karboksilne skupine poli(L-glutaminske kisline) (Pglu) smo z amidacijo pripeli D-(+)-glukozamin (GlcN), pri čemer smo uporabili 4-(4,6-dimetoksi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinijev klorid (DMTMM) kot reagent za spajanje. Modifikacijo smo izvedli v vodnem mediju brez zaščite hidroksilnih skupin GlcN. Poli(L-glutaminsko kislino) in GlcN funkcionalizirane poliglutamate (P(Glu-GlcN)) smo celostno okarakterizirali z 1D in 2D NMR spektroskopijo in SEC-MALS. Rezultati so razkrili uspešno funkcionalizacijo poli(L-glutaminske kisline) z GlcN preko amidne vezi in manjši delež tudi preko estrskih vezi na položaju 1 GlcN. Poleg tega smo določili tudi razmerje med α - and β -obliko vezanega GlcN in deleže preostalih dimetoski triazinil aktiviranih esterov v vzorcih.
	ANG	Carboxyl functional groups of poly(L-glutamic acid) (PGLu) were modified with a D-(+)-glucosamine (GlcN) by amidation using 4-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholinium chloride (DMTMM) as a coupling reagent. The coupling reaction was performed in aqueous medium without protection of hydroxyl functional groups of D-(+)-glucosamine. Poly(L-glutamic acid) and GlcN functionalized polyglutamates (P(Glu-GlcN)) were thoroughly characterized by 1D and 2D NMR spectroscopy and SEC-MALS to gain detailed information on their structure, composition and molar mass characteristics. The results reveal successful functionalization with GlcN through the amide bond and also to a minor extent through ester bond formation in position 1 of GlcN. In addition, a ratio between the α - and β -form of glucosamine substituent coupled to polyglutamate repeating units as well as the content of residual dimethoxy triazinyl active ester moiety in the samples were evaluated.
Objavljeno v		Springer;Molecular Diversity Preservation International; Molecules; 2014; Vol. 19, iss. 12; str. 19751-19768; Impact Factor: 2.095;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.55; WoS: EE; Avtorji / Authors: Perdih Peter, Čebašek Sašo, Možir Alenka, Žagar Ema
Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
4.	COBISS ID	5530906 Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Sinteza alkilno-modificiranih poli(natrijevih glutamatov) za pripravo polimer-proteinskih nanodelcev v kombinaciji z N,N,N-trimetil hitosanom
	ANG	Synthesis of alkyl-modified poly(sodium glutamate)s for preparation of polymer-protein nanoparticles in combination with N,N,N-trimethyl chitosan
Opis	SLO	Sintetizirali smo serijo negativno nabitih, vodo-topnih, hidrofobno modificiranih poli(natrijevih glutamatov) z različnimi deleži alkilnih graftov. Najprej smo pripravili poli(γ -benzil-L-glutamat) s polimerizacijo z odpiranjem obroča ustreznega N-karboksianhidrida, ki smo ga nato aminolizirali z oktilaminom. Po odstranitvi benzilnih zaščitnih skupin smo dobili alkilno modificirane poli(natrijeve glutamate) (P(Glu-oa)), ki smo jih skupaj z nasprotno nabitim N,N,N-trimetil hitosanom (TMC) uporabili za pripravo naodelcev z rekombinantnim granulocitnim rastnim dejavnikom (GCSF) z metodo polielektrolitske kompleksacije. Opazili smo, da poleg elektrostaskih interakcij, hidrofobni grafti na poli(natrijevem glutamatu) bistveno pripomorejo k višji učinkovitosti asociacije z GCSF proteinom. Z dodatkom TMC raztopine k disperziji GCSF/P(Glu-oa) kompleksov smo dobili veliko boljše definirane nanodelce z visoko učinkovitostjo asociacije in končnim polnjenjem proteina.
		The negatively charged, water-soluble, hydrophobically modified poly(sodium glutamate)s containing different amounts of alkyl grafts were synthesized. First, poly(γ -benzyl-L-glutamate) was prepared by ring-

		opening polymerization of the corresponding N-carboxyanhydride, which was in the next step aminolysed with octylamine. After removal of the remaining benzyl protective groups, the alkyl-modified poly(sodium glutamate)s [P(Glu- <i>oa</i>)] were obtained and, together with the oppositely charged N,N,N-trimethyl chitosan (TMC), used for the preparation of nanoparticles (NPs) of a recombinant granulocyte colony-stimulating factor (GCSF) protein by polyelectrolyte complexation method. It is observed that, beside electrostatic interaction, the hydrophobic grafts on poly(sodium glutamate)s significantly contribute to association efficiency (AE) with GCSF protein. The addition of TMC solution to the dispersion of GCSF/P(Glu- <i>oa</i>) complexes results in formation of much more defined NPs with high AE and final protein loading.
	Objavljeno v	Wiley; Journal of polymer science. Part A, Polymer chemistry; 2014; Vol. 52, iss. 20; str. 2976-2985; Impact Factor: 3.245; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.242; A': 1; WoS: UY; Avtorji / Authors: Pahovnik David, Grujić Milijana, Cegnar Mateja, Kerč Janez, Žagar Ema
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
5.	COBISS ID	5548826 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Sinteza poli(ester-amidnih) dendrimerov na osnovi 2,2-bis(hidroksimetil) propanojske kisline in glicina
		<i>ANG</i> Synthesis of poly(ester-amide) dendrimers based on 2,2-Bis(hydroxymethyl) propanoic acid and glycine
	Opis	<i>SLO</i> Sintetizirali smo vodo-topne, biodegradabilne in biokompatibilne poli(ester-amidne) dendrimere s hidroksilnimi funkcionalnim skupinami. Pripravili smo jih iz predhodno pripravljenih AB ₂ aduktov 2,2-bis(hidroksimetil) propanojske kisline (bis-MPA) in glicina kot ponavljajoče enote. Študirali smo dva različna esterifikacijska postopka z različnima kombinacijama dehidracijskega regenta/katalizatorja (DCC/DPTS in EDC/DMAP). Pri tem smo primerjali njuno učinkovitost, enostavnost čiščenja vmesnih produktov in kvaliteto končnih produktov. Izkazalo se je, da imata oba postopka svoje prednosti in slabosti v odvisnosti of generacije dendrimera. Sintetizirane poli(ester-amidne) dendrimere smo poleg komercialnih bis-MPA denrimerov, poli(ester-amidnih) visoko-razvejanih polimerov in polivinil alkohola uporabili za pripravo trdnih disperzij antidiabetične sulfonilureatne zdravilne učinkovine glimepirida, da smo izboljšali njegovo slabo vodo-topnost. In-vitro študije raztapljanja so pokazale znatno izboljšanje topnosti glimepirida v obliki trdnih disperzij z dendritskimi polimeri v primerjavi s topnostjo samega glimerpirida v kristaliničnem ali amorfem stanju oziroma topnostjo glimepirida v trdni disperziji s polivinil alkoholom. Izkazalo se je, da se delež kompleksiranega glimperida povečuje z večanjem generacije dendrimera.
		<i>ANG</i> Water-soluble, biodegradable, and biocompatible poly(ester-amide) dendrimers with hydroxyl functional groups are synthesized from previously prepared AB ₂ adduct of 2,2-bis(hydroxymethyl) propanoic acid (bis-MPA) and glycine as a repeating unit. Two esterification procedures using different coupling reagent/catalyst systems (DCC/DPTS or EDC/DMAP) are studied with respect to efficiency, ease of products purification, and quality of the final products. Both procedures have their own benefits and drawbacks, depending on dendrimer generation. The synthesized poly(ester-amide) dendrimers as well as commercially available bis-MPA dendrimers, poly(ester-amide) hyperbranched polymer, and poly(vinyl alcohol) are used for preparation of solid dispersions of sulfonylurea antidiabetic drug glimepiride to improve its poor water-solubility. In vitro dissolution studies show in comparison with pure glimepiride in crystalline or amorphous form, to the same extent improved glimepiride solubility for solid dispersions based on dendritic polymers, but not for poly(vinyl

		alcohol). The amount of glimepiride complexed with both dendrimer types increases with dendrimer generation.
Objavljeno v		Wiley; Journal of polymer science. Part A, Polymer chemistry; 2014; Vol. 52, iss. 22; str. 3292-3301; Impact Factor: 3.245; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.242; A': 1; WoS: UY; Avtorji / Authors: Pahovnik David, Čusak Anja, Reven Sebastjan, Žagar Ema
Tipologija	1.01	Izvirni znanstveni članek

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

Družbeno-ekonomski dosežek			
1.	COBISS ID	5523994	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Pretočni sistem z asimetričnim prečnim pretokom in velikostna izključitvena kromatografija za karakterizacijo polimerprotein konjugatov
		ANG	Asymmetric flow field-flow fractionation and size-exclusion chromatography for characterization of polymer-protein conjugates
	Opis	SLO	Vabljen predavanje na 10. mednarodni konferenci »International Symposium on Polymer Therapeutics, From laboratory to clinical practice«, 19-21 May 2014, Centro de Investigación Príncipe Felipe, Valencia, Spain.
		ANG	Invited lecture at the 10th International Symposium on Polymer Therapeutics, From laboratory to clinical practice, 19th-21th May 2014, Centro de Investigación Príncipe Felipe, Valencia, Spain.
	Šifra	B.04 Vabljen predavanje	
	Objavljeno v	[s. n.]; From laboratory to clinical practice; 2014; Str. 19; Avtorji / Authors: Žagar Ema, Rebolj Katja, Pahovnik David	
	Tipologija	1.10 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci (vabljen predavanje)	
2.	COBISS ID	276099584	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Sinteza kopolimerov različnih arhitektur na osnovi polipeptidov in hitosana
		ANG	The synthesis of copolymers of different architectures based on polypeptides and chitosan
	Opis	SLO	Doktorsko delo Petra Perdiha je obsegalo načrtovanje sinteznih poti, ki jih je nato uporabil za pripravo novih polimerov različnih arhitektur z namenom uporabe kot potencialnih, inovativnih nosilcev zdravilnih učinkovin s poudarkom na visoko-molekularnih proteinskih/peptidnih zdravilnih učinkovinah, t.i. biofarmaceutikah. Kopolimere s pripajanjem, to je hitosan-graft-poli(L-glutamatne) kopolimere, z različno dolgimi peptidnimi grafti je skupaj s trimetilhitosanom uspešno uporabil za pripravo nanodelcev, v katere je vgradil visok delež proteinske zdravilne učinkovine, to je granulocitne kolonije stimulirajočega faktorja. Raziskal je vpliv dolžine graftiranih peptidnih verig, delež dodanega biofarmaceutika in vpliv količine dodanega trimetilhitosana na lastnosti nanodelcev. Tako pripravljene nanodelci z vgrajeno zdravilno učinkovino so imeli povprečni premer med 240 in 320 nm, in ozko porazdelitev velikosti. Pokazal je, da so nanodelci temperaturno in časovno stabilni, saj se njihova velikost ni bistveno spreminjala. Pri proučevanju pH stabilnosti nanodelcev je ugotovil, da so nanodelci nestabilni pri pH vrednostih nad izoelektrično točko biofarmaceutika, kar je želeno in v skladu s pričakovanji za zasnovani sistem nanodelcev. Opisane raziskave je Peter Perdiha objavil v dveh izvirnih znanstvenih člankih (Cellulose in Molecules) in je soavtor evropske patentne prijave.

		<p>PhD thesis of Peter Perdih encompassed the design of new synthetic pathways for preparation of novel polymers with various architectures as potential carriers for drug delivery with focus on high-molecular weight protein/peptide drugs, i.e. biopharmaceuticals. Synthesized graft copolymers of chitosan-graft-poly(L-glutamate) with varying length of peptide grafts, were, in combination with trimethylchitosan, successfully used for preparation of nanoparticles with high association efficiency and final loading of a granulocyte-colony stimulating factor protein drug. The effect of the grafted peptide length, the ratio of the protein drug and the amount of added trimethylchitosan were studied. Synthesized nanoparticles show narrow distribution of size with average diameter of 240-320 nm. Nanoparticles were thermally stable over longer period of time. On the other hand, pH stability studies show that nanoparticles are unstable at pH values above the isoelectric point of the protein drug which was desired for this type of drug delivery system. The results obtained during his PhD were published in two scientific papers (Cellulose and Molecules) and he is also a coauthor of an European patent application.</p>
	Šifra	D.09 Mentorstvo doktorandom
	Objavljeno v	[P. Perdih]; 2014; 165 str.; Avtorji / Authors: Perdih Peter
	Tipologija	2.08 Doktorska disertacija
3.	COBISS ID	5595418 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<p><i>SLO</i> Sinteza in uporaba novih polimernih nosilcev za dostavo aktivnih zdravilnih učinkovin</p> <p><i>ANG</i> Synthesis and application of novel polymer carriers for delivery of active pharmaceutical ingredients</p>
	Opis	<p><i>SLO</i> Na vabljenem predavanju sem predstavila naše delo na sintezi, karakterizaciji in uporabi netoksičnih, biorazgradljivih in biokompatibilnih polimernih nosilcev za dostavo zdravilnih učinkovin z različnimi arhitekturami na osnovi hitosana, sintetičnih polipeptidov in dendritskih polimerov kot so poli(ester-amidni) dendrimeri, sintetizirani iz AB2 adukta 2,2-bis(hidroksimetil)propanojske kisline in glicina, alkilno modificirani poli (natrijevi glutamati), pripravljene s polimerizacijo z odpiranjem obroča N-karboksianhidridov in hidrofobno post-polimerizacijsko modifikacijo, ter hitosan-graft-poli(natrijev glutmat), pripravljene z uporabo hitosana kot makroiniciatorja za polimerizacijo N-karboksianhidridov. Naš cilj je bil pripraviti dostavne sisteme za zdravilne učinkovine, ki bodo imele izboljšane lastnosti za dostavo slabo-vodotopnih nizko-molekularnih učinkovin v obliki trdnih disperzij ali za dostavo visoko molekularnih proteinskih/peptidnih zdravilnih učinkovin (biofarmaceutikov) v obliki nanodelcev, pripravljenih z metodo polielektrolitske kompleksacije.</p> <p><i>ANG</i> In this presentation the synthesis, characterization and application of novel non-toxic, biodegradable and biocompatible polymer drug carriers of different architecture based on various combinations of chitosan, synthetic polypeptides and dendritic polymers will be presented, i.e. poly(ester-amide) dendrimers synthesized from AB2 adduct of 2,2-bis(hydroxymethyl) propanoic acid and glycine, alkyl-modified poly(sodium glutamates) synthesized by ring-opening polymerization of N-carboxyanhydrides and subsequent hydrophobic post-polymerization modification and chitosan-graft-poly(sodium-L-glutamate), prepared by grafting polypeptide grafts from chitosan backbone. Our goal was to prepare drug delivery systems with improved properties for delivery of poorly water-soluble low molecular-weight active pharmaceutical ingredients in the form of solid dispersions or for oral delivery of high molecular-weight protein/peptide drugs (biopharmaceuticals) in the form of nanoparticles, prepared by polyelectrolyte complexation method.</p>

	Šifra	B.04 Vabljen predavanje	
	Objavljeno v	Inštitut za kovinske materiale in tehnologije; Program in knjiga povzetkov; 2014; Str. 258; Avtorji / Authors: Pahovnik David, Perdih Peter, Žagar Ema	
	Tipologija	1.10 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci (vabljen predavanje)	
4.	COBISS ID	5465882	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Izbor polimerov za pripravo nanodelcev z visokim polnjenjem proteinske učinkovine
		ANG	Polymer selection for preparation of nanoparticles with high protein loading
	Opis	SLO	Izum se nanaša na razvoj novih polimerov, ki v visoki stopnji asociirajo s proteinsko zdravilno učinkovino in omogočajo pripravo nanodelcev z visokim polnjenjem.
		ANG	The invention relates to novel polymers, which exhibit improved association with protein drugs and enable the formation of nanoparticles with high protein loading.
	Šifra	F.08 Razvoj in izdelava prototipa	
	Objavljeno v	World Intellectual Property Organization, International Bureau; 2013; 26 str., 6 str. pril.; Avtorji / Authors: Cegnar Mateja, Kerč Janez, Miklavžin Ana, Pahovnik David, Žagar Ema, Perdih Peter	
	Tipologija	2.23 Patentna prijava	
5.	COBISS ID	5596442	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Sinteza in karakterizacija alkilno-modificiranih poli(natrijevih glutamatov) za biomedicinske aplikacije
		ANG	Synthesis and characterization of alkyl-modified poly(sodium glutamate)s for biomedical applications
	Opis	SLO	Sintetizirali smo serijo negativno nabitih, vodo-topnih, hidrofobno modificiranih poli(natrijevih glutamatov) z različnimi deleži alkilnih grafov. Najprej smo pripravili poli(γ -benzil-L-glutamat) s polimerizacijo z odpiranjem obroča ustreznega N-karboksianhidrida. Nato smo benzilne esterske skupine delno aminolizirali z oktilaminom. Delež aminolize smo kontrolirali s spreminjanjem molskega razmerja med oktilaminom in benzilglutamatnimi ponavljajočimi skupinami. Degradacijo polipeptida smo preprečili z dodatkom 2-hidroksipiridina. Stopnjo alkiliranja smo določili z ^1H NMR spektroskopijo in molekularno strukturo z MALDI-TOF MS. Po odstranitvi benzilnih zaščitnih skupin, smo dobili alkilno modificirane poli(natrijeve glutamate) (P(Glu- <i>oa</i>)), ki smo jih skupaj z nasprotno nabitim N,N,N-trimetil hitosanom (TMC) uporabili za pripravo naodelcev z rekombinantnim granulocitnim rastnim dejavnikom (GCSF) z metodo polielektrolitske kompleksacije. Opazili smo, da poleg elektrostaskih interakcij, hidrofobni grafti na poli(natrijevem glutamatu) bistveno pripomorejo k bolj učinkoviti asociaciji z GCSF proteinom. Z dodatkom TMC raztopine k disperziji GCSF/P(Glu- <i>oa</i>) kompleksov smo dobili dobro definirane nanodelce z visoko stopnjo asociacije in visokim končnim polnjenjem proteina.

	ANG	alkylation was determined by ¹ H NMR and the molecular structure by MALDI-TOF MS. After removal of the remaining benzyl groups, the alkyl modified poly(sodium glutamate)s (P(Glu- <i>oa</i>)) were obtained and, together with the oppositely charged N,N,N-trimethyl chitosan, used for the preparation of nanoparticles of recombinant granulocyte colony-stimulating factor (GCSF) protein by polyelectrolyte complexation method. It was observed that, beside electrostatic interaction, the hydrophobic grafts on poly(sodium glutamate)s significantly contribute to the association efficiency with GCSF protein. The addition of N,N,N-trimethyl chitosan solution to the dispersion of GCSF/P(Glu- <i>oa</i>) complexes resulted in formation of well-defined nanoparticles with high association efficiency and high final protein loading.
Šifra	B.06	Drugo
Objavljeno v	Inštitut za kovinske materiale in tehnologije; Program in knjiga povzetkov; 2014; Str. 175; Avtorji / Authors: Pahovnik David, Grujić Milijana, Žagar Ema	
Tipologija	1.12	Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine²

Projektna skupina je v letu 2014 objavila še en članek iz področja dostavnih sistemov in sicer na področju sinteze poli(ester-amidnih) dendrimerov na osnovi 2,2-bis(hidroksimetil)propanojske kisline in glicina. V tem članku smo opisali sintezno pot za pripravo vodo-topnih, biorazgradljivih in biokompatibilnih poli(ester-amidnih) dendrimerov s hidroksilnimi funkcionalnimi skupinami. Dendrimeri smo pripravili iz predhodno sintetiziranega AB₂ adukta 2,2-bis(hidroksimetil)propanojske kisline (bis-MPA) in glicina kot ponavljajoče enote. Študirali smo dva različna esterifikacijska postopka z različnima kombinacijama dehidracijskega reagenta/katalizatorja (DCC/DPTS in EDC/DMAP). Pri tem smo primerjali njuno učinkovitost, enostavnost čiščenja vmesnih produktov in kvaliteto končnih produktov. Izkazalo se je, da imata oba postopka svoje prednosti in slabosti v odvisnosti of generacije dendrimera. Sintetizirane poli(ester-amidne) dendrimeri smo poleg komercialnih bis-MPA dendrimerov, poli(ester-amidnih) visoko-razvejenih polimerov in polivinil alkohola uporabili za pripravo trdnih disperzij antidiabetične sulfonilureatne zdravilne učinkovine glimepirida, da smo izboljšali njegovo slabo vodo-topnost. In-vitro študije raztapljanja so pokazale znatno izboljšanje topnosti glimepirida v obliki trdnih disperzij z dendritskimi polimeri v primerjavi s topnostjo samega glimepirida v kristaliničnem ali amornem stanju oziroma topnostjo glimepirida v trdni disperziji s polivinil alkoholom. Izkazalo se je, da se delež kompleksiranega glimepirida povečuje z večanjem generacije dendrimera.

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

Proteinske zdravilne učinkovine ali biofarmacevtiki postajajo ključne učinkovine prihodnosti. Zaradi pomanjkljivosti proteinov, ki izvirajo iz njihove labilne strukture, jih je potrebno oblikovati v ustrezen dostavni sistem. Pristop oblikovanja dostavnih sistemov v obliki nanodelcev, pripravljenih s spontano kompleksacijo proteina s primernim polimernim nosilcem, ima velik potencial, saj proteinu ne škoduje, prav tako pa tehnološko ni zelo zahteven. Ključna je izbira ustreznih inteligentnih polimerov, ki omogočajo učinkovito tvorbo kompleksov in hkratno odzivanje na dejavnike iz okolja. Polimeri, ki smo jih sintetizirali v okviru projekta so povsem novi in izkazujejo zelo učinkovito asociiranje z izbranim proteinom in tvorbo stabilnih nano-sistemov. Rezultati vgrajevanja proteina celo presegajo vrednosti, ki jih do sedaj navaja literatura. Dokazali smo tudi, da lahko z ustrezno načrtovanimi polimernimi modifikacijami prilagajamo končne lastnosti nano-sistema. Ugotovljene prednosti novih polimernih nosilcev za specifični protein smo zato zaščitili v vloženi mednarodni patentni prijavi z naslovom "Polymer

selection for preparation of nanoparticles with high protein loading" in objavili v več znanstvenih člankih. Pridobljeno znanje na projektu tako omogoča boljše razumevanje mehanizmov interakcij med polimerom in proteinom, kar nudi dobro osnovo za nadaljnje načrtovanje dostavnih sistemov. Raziskovalni projekt je tako pomemben za razvoj temeljnih in aplikativnih spoznanj na izjemno zanimivem in hitro se razvijajočem področju razvoja modernih biomedicinskih in farmacevtskih aplikacij ter na področju znanosti o polimerih materialih.

Tematika sinteze polimernih nosilcev zdravilnih učinkovin je tudi v skladu z razvojno politiko države, saj je področje "Zdravje in znanost o življenju" ena od prioritarnih tematik. Produkti raziskav so zanimivi in uporabni na področju biomedicine, pridobljeno znanje pa aktualno v znanstveni sferi v svetovnem merilu, saj je tematika razvoja nosilcev zdravilnih učinkovin ena najbolj vročih tem biomedicine. Z nosilci primernih lastnosti namreč lahko dosežemo večji učinek zdravljenja ob hkratnem zmanjšanju pogostosti uživanja zdravil in neželenih stranskih učinkov zdravljenja ter istočasno ciljano dostavo zdravila na določeno mesto v telesu oziroma organ.

ANG

Protein drugs or biopharmaceuticals are becoming the key drugs of the future. Their major drawback is their labile structure, which can be solved by employing suitable delivery system. One of interesting and technologically the simplest approaches to overcome this issue is the preparation of nanoparticles formed by spontaneous complexation of the protein and the polymer carrier. Since no organic solvents are used in this procedure, there is no fear of losing protein activity due to denaturation. The most important part is to select an appropriate "smart" polymer designed for a specific protein, which enables efficient complexation and, in addition, is responsive to external stimuli. We synthesized novel polymers which proved to be highly efficient for association with selected protein and resulted in formation of stable nanoparticle systems. The protein loading in nanoparticles was high and even exceeded the values reported so far in the literature. The results were protected in international patent application: »Polymer selection for preparation of nanoparticles with high protein loading«, and published in several articles.

The topic of polymer carrier development for active pharmaceutical ingredients is state of the art and in accordance with the development policy of the country, since the scope: "Health and life sciences" is one of the priority topics. The products of research project are beneficial for the development of basic and applied knowledge in extremely attractive and rapidly developing field of modern biomedicine and pharmacy as well as in the area of polymer material science. Namely, the application of properly designed drug delivery systems results in improved drug bioavailability, enhanced therapeutic efficiency with simultaneously reduced unwanted side effects of drug treatment, a reduced number of doses and, at the same time, targeted drug delivery to the specific cells or organs in the body.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Vsebina in cilji projekta so bili v skladu s svetovnimi smernicami v znanosti in so tudi tesno povezani s slovensko farmacevtsko industrijo, ki ustvarja pomemben del nacionalnega prihodka. Raziskave so potekale v skladu z interesi slovenskega farmacevtskega podjetja na tematiki izboljšanja učinkovitosti in varnosti zdravljenja z biofarmacevtiki. Rezultati raziskav imajo tako velik aplikativni potencial za razvoj tehnološko obetavnih, novih dostavnih sistemov, kar je ključnega pomena za farmacevtsko industrijo, ki je pomemben finančni element v Sloveniji, že vključen v razvoj biofarmacevtikov in se odlikuje po velikem številu izdelkov z visoko dodano vrednostjo.

Poleg neposrednega učinka, ki ga ima projekt za sodelujočo gospodarsko družbo, predstavljajo rezultati projekta tudi širšo pridobitev, saj odpirajo nova spoznanja v razvoju nove generacije zdravil preko poznavanja vloge vpliva arhitekture in kemijske sestave polimernih nosilcev na zmožnost tvorbe dostavnih sistemov v obliki nanodelcev.

Novo pridobljeno znanje na zelo konkurenčnem področju biomedicinskih aplikacij bo omogočalo nadaljnje korake v razvoju visoko tehnoloških produktov. Pridobljeno poznavanje vloge polimernih nosilcev pri izdelavi dostavnih sistemov je bilo posredovano celotni skupini sodelujočih strokovnjakov in še posebej do- in podiplomskih študentov, ki so na ta način

pridobili pomembna praktična in teoretska znanja, ki jih bodo pri svojem nadaljnjem delu lahko prenašali na bodoča mesta zaposlitve. S tem ima projekt multiplikacijske učinke tudi skozi daljše obdobje.

ANG

The content and goals of the project were in line with the global scientific directions and are closely connected to Slovenian pharmaceutical industry, which creates a substantial part of the national income. Research was conducted in accordance with the interests of the Slovenian pharmaceutical company on the issue of improving the efficacy and safety of treatment with biopharmaceuticals. Thus, the results of the research have a great applicative potential for the development of technologically promising, new delivery systems, which are important for the pharmaceutical industry that represents an important financial element in Slovenia, is already involved in the development of biopharmaceuticals and is characterized by a large number of products with high added value.

In addition to the direct impact of the project results on the pharmaceutical company that was involved in this applicative project, the successful realization of the project aims represents broader benefits through new scientific achievements on the development of new generation of drugs by gaining a detailed knowledge of the impact of the architecture and chemical composition of polymeric carriers on the ability of formation of drug delivery systems in the form of nanoparticles. The newly acquired knowledge in a very competitive field of biomedical applications will enable further steps in the development of high-tech products. The acquired knowledge on the role of polymer carriers in preparation of drug delivery systems in the form of nanoparticles was spread among participating researchers of the project team, especially among the involved students and young researchers who will be able to use the important practical and theoretical experiences in their future employments. By this means, the project has multiplied effect over a longer period.

10. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!

Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni

Cilj		
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin	
	Zastavljen cilj	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	Delno
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE

	Rezultat	Dosežen <input type="checkbox"/>
	Uporaba rezultatov	Delno <input type="checkbox"/>
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	Dosežen <input type="checkbox"/>
	Uporaba rezultatov	Delno <input type="checkbox"/>
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="checkbox"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="checkbox"/>
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	Dosežen <input type="checkbox"/>
	Uporaba rezultatov	Delno <input type="checkbox"/>
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="checkbox"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="checkbox"/>
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	Dosežen <input type="checkbox"/>
	Uporaba rezultatov	Delno <input type="checkbox"/>
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="checkbox"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="checkbox"/>
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="checkbox"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="checkbox"/>
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="checkbox"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="checkbox"/>
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="checkbox"/>

	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value="Dosežen"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value="V celoti"/>
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>

F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanju naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	Dosežen bo v naslednjih 3 letih <input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	Uporabljen bo v naslednjih 3 letih <input type="text"/>
F.33	Patent v Sloveniji	

	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value="Dosežen"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value="V celoti"/>
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>

Komentar

--

11. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!
Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo: <input type="text" value=""/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo: <input type="text" value=""/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	
	Tehnološko prestrukturiranje					

G.03.02.	dejavnosti	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01.	Dvig kvalitete življenja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete					
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj					
G.07	Razvoj družbene infrastrukture					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva					
G.09.	Drugo:					

Komentar

--

12.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹¹

	Sofinancer			
1.	Naziv	Lek farmacevtska družba d.d.		
	Naslov	Verovškova 57, 1526 Ljubljana		
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:	95.511	EUR	
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:	25	%	
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja			Šifra
	1.	Polymer selection for preparation of NPs with high protein loading. EPO patentna prijava 13183614.0, 9.9.2013	F.32	
	2.	Synthesis of chitosan-graft-poly(sodium-L-glutamate) for preparation of protein nanoparticles, Cellulose 2014; 21:3469-3485.	A.01	
	Synthesis of alkyl-modified Poly(sodium glutamate)s for preparation of polymer-protein nanoparticles in			

	3.	combination with N,N,N-trimethyl chitosan, J Polymer Sci Part A: Polymer Chem 2014; 52:2976-2985.	A.01
	4.		
	5.		
Komentar		<p>Cilj projekta je priprava novih polimerov, ki imajo sposobnost spontanega asociiranja s proteinsko učinkovino v ustrezni dostavni sistem. Fokus večine raziskav je usmerjen k nanometrskim sistemom predvsem zaradi specifičnih lastnosti, ki izvirajo iz njihove majhnosti in nudijo izboljšane in nove možnosti terapije. Ker se proteinske učinkovine po svoji velikosti, strukturi, stabilnosti bistveno razlikujejo od klasičnih nizkomolekularnih učinkovin, je njihovo oblikovanje v dostavne sisteme drugačno od klasičnih metod enkapsuliranja s sintezniimi polimeri. Zaradi svoje občutljive tridimenzionalne strukture zahtevajo proteini blage pogoje rokovanja (odsotnost ostrih pogojev mešanja, segrevanja, nevodnih medijev idr.), kar omeji izbiro metod izdelave dostavnih sistemov. Ena pomembnejših je metoda spontanega asociiranja ali polielektrolitnega kompleksiranja vodotopnih polimerov in proteinske učinkovine. Izdelava tovrstnih nano-asociatov tehnološko ni zahtevna (vključuje postopno združevanje posameznih komponent), vendar pa je njihova tvorba oz. asociiranje ključno pogojeno s kemizmom in arhitekturo posameznih komponent (polimer, protein). Polimeri, ki jih pogosto uporabljajo za takšno asociiranje s proteinskimi učinkovinami, so naravni polielektroliti (polisaharidi). Ti se povečini preko nespecifičnih elektrostatskih interakcij kompleksirajo v asociate, nanodelce. Malo kombinacij polianionov in polikationov daje ustrezne in stabilne nanosisteme, prav tako so ti zelo občutljivi na zunanje okolje.</p> <p>Področje raziskav novih t.i. smart polimerov je eno aktualno pri oblikovanju dostavnih sistemov za proteinske učinkovine. Tovrstni polimeri imajo dobro definirano strukturo, velikost in funkcionalne skupine, kar jim omogoča specifične in hierarhične interakcije z določenim proteinom. V primerjavi s klasičnimi polielektroliti, novi polimeri povečajo tvorbo in stabilnost nanosistema ter učinkovitost asociiranja proteina v nastali sistem. Z vidika farmacevtske uporabnosti morajo takšni polimeri izkazovati še biokompatibilnost in biorazgradljivost.</p> <p>V okviru projektne dela smo načrtali in pripravili različne polimere in njihove modifikacije, ki vključujejo polipeptidno komponento. Izmed številnih testiranih polimerov smo najustreznejše dostavne sisteme dobili s polimeri, kjer osnovno verigo predstavlja poliglutamat na katerega smo prekoaminske skupine vezali hidrofobne oktilne skupine ter polimeri, kjer osnovna veriga sestoji iz hitosana, na katerega smo vezali poliglutamat. Ugotovili smo, da različen delež vezave ali molekulska masa substituenta vplivata na tvorbo nanodelcev, njihove lastnosti in stopnjo asociiranja v nastali sistem.</p> <p>Modifikacijo polimerov smo nadaljevali z namenom spremembe površinskih lastnosti dobljenega sistema. Te namreč bistveno vplivajo na njegovo obnašanje v biološkem okolju. Izvedli smo pegiliranje novih polimerov. Za pegilirane sisteme namreč poročajo večjo stabilnost, daljši razpolovni čas ter boljšo prehodnost skozi mukozne bariere.</p>	
		<p>Proteinske učinkovine ali biofarmacevtiki postajajo ene ključnih učinkovin v prihodnosti. Zaradi pomanjkljivosti proteinov, ki izvirajo iz njihove labilne strukture, jih je potrebno oblikovati v ustrezen dostavni sistem. Pristop oblikovanja dostavnih sistemov, ki ga opisujemo, nosi velik potencial, saj proteinu ne škoduje, prav tako pa tehnološko ni zelo zahteven. Ključna je izbira ustreznih inteligentnih polimerov s sposobnostjo odzivanja na dejavnike iz okolja. Tovrstnih polimerov je relativno malo in le nekaj raziskovalnih skupin raziskuje njihovo</p>	

	Ocena	<p>uporabnost.</p> <p>Polimeri, ki jih predstavljamo, so povsem novi in izkazujejo zelo učinkovito asociiranje z izbranim proteinom in tvorbo stabilnega nanosistema. Rezultati vgrajevanja proteina v nastali nanosistem celo presegajo vrednosti, ki jih poročajo v objavljenih literarnih virih. Dokazali smo tudi, da lahko z ustrezno načrtovanimi polimernimi modifikacijami prilagajamo končne lastnosti nastalega sistema. Ugotovljene prednosti novih polimerov želimo zaščititi v vloženi patentni prijavi z naslovom "Polymer selection for preparation of nanoparticles with high protein loading", v pripravi pa je tudi več raziskovalnih člankov s tega področja. Pridobljeno znanje na projektu omogoča boljše razumevanje mehanizmov interakcij med polimerom in proteinom, kar nudi osnovo za nadaljnje načrtovanje novih polimerov in dostavnih sistemov.</p>
--	-------	--

13. Izjemni dosežek v letu 2014¹²

13.1. Izjemni znanstveni dosežek

--

13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

V dostavnem sistemu je zdravilna učinkovina kovalentno ali nekovalentno vezana na polimerni nosilec z namenom, da izboljšamo kvaliteto zdravljenja. Dostavni sistemi nano-dimenzij postajajo vedno bolj zanimivi za dostavo proteinskih zdravilnih učinkovin, ker kažejo potencial za vnos v telo po neinvazivni, peroralni poti. Pri oblikovanju dostavnih sistemov smo zaradi labilnosti proteinov omejeni na blage pogoje priprave, zato je metoda polielektrolitske kompleksacije izredno primerna. V ta namen smo pripravili nove vodotopne polimere s takšno kemijsko sestavo in strukturnimi lastnostmi (hitosan-graft-poli(natrijev glutamat) in hidrofobno modificirane poli(glutamate), ki so omogočile spontano kompleksacijo polimera in proteina (rekombinantni granulocitni rastni dejavnik, GCSF) ter, ob dodatku trimetil hitosana, pripravo dobro definiranih nanodelcev.

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Kemijski inštitut

Ema Žagar

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana

13.3.2015

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/17

- ¹ Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)
- ² Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)
- ³ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)
- ⁴ V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)
- ⁵ Navedite znanstvene dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'. [Nazaj](#)
- ⁶ Navedite družbeno-ekonomske dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'.
- Družbeno-ekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.
- Povzetek družbeno-ekonomskega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni enoznačen, izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. prehod mlajših sodelavcev v gospodarstvo na pomembnih raziskovalnih nalogah, ali ustanovitev podjetja kot rezultat projekta ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)
- ⁷ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ni voden v sistemu COBISS). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)
- ⁸ Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)
- ⁹ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)
- ¹⁰ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)
- ¹¹ Rubrike izpolnite / prepisite skladno z obrazcem "izjava sofinancerja" <http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>, ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)
- ¹² Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2014 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2015 v1.00a
CB-38-10-F6-FD-22-79-8D-B9-C1-4F-1B-9A-4C-F4-E1-B0-87-50-CC

Priloga 1

TEHNIKA

Področje: 2.04 Materiali

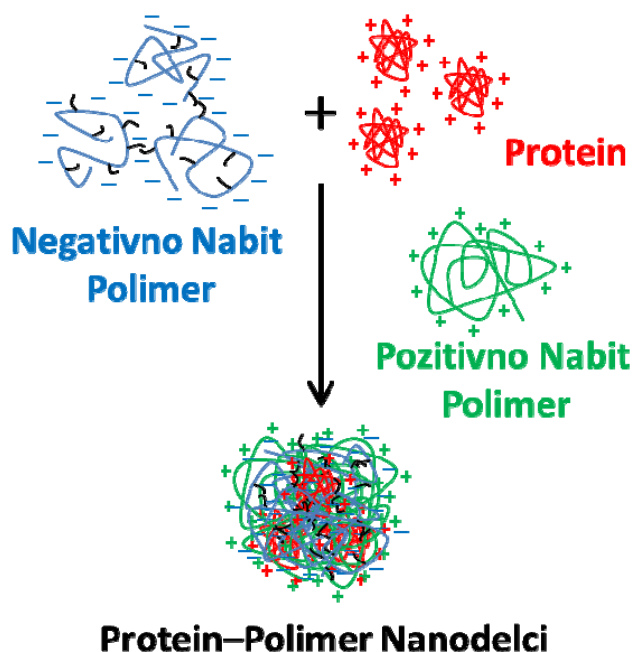
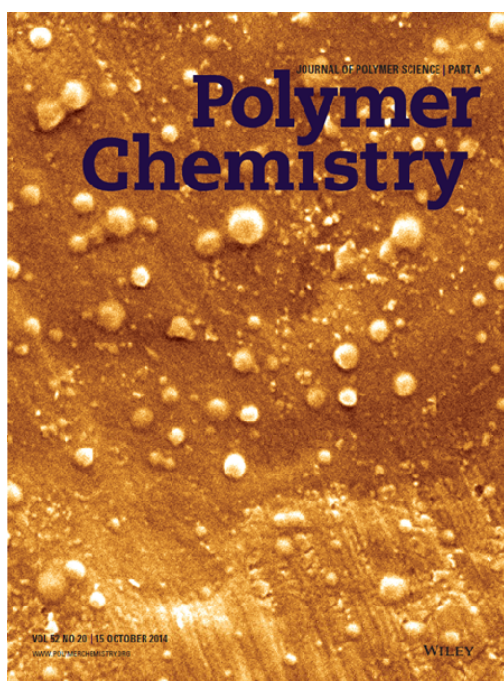
Dosežek: **Sinteza novih polimerov za pripravo dostavnih sistemov na osnovi protein-polimernih nanodelcev**, Viri: [1] P.

Perdih, D. Pahovnik, M. Cegnar, A. Miklavžin, J. Kerč, E. Žagar. *Cellulose* **2014**, 21,

3469-3485. [2] D. Pahovnik, M. Grujić, M. Cegnar, J. Kerč, E. Žagar. *J Polym Sci Part A: Polym Chem* **2014**, 52, 2976-2985. [3] M. Cegnar, J. Kerč, A. Miklavžin, D.

Pahovnik, E. Žagar, P. Perdih. Patentna prijava: EP13183614.0, 2013-09-09.

München: World Intellectual Property Organization, International Bureau, **2013**, 26s.



V dostavnem sistemu je zdravilna učinkovina kovalentno ali nekovalentno vezana na polimerni nosilec z namenom, da izboljšamo kvaliteto zdravljenja. Dostavni sistemi nano-dimenzij postajajo vedno bolj zanimivi za dostavo proteinskih zdravilnih učinkovin, ker kažejo potencial za vnos v telo po neinvazivni, peroralni poti. Pri oblikovanju dostavnih sistemov smo zaradi labilnosti proteinov omejeni na blage pogoje priprave, zato je metoda polielektrolitske kompleksacije izredno primerna. V ta namen smo pripravili nove vodotopne polimere s takšno kemijsko sestavo in strukturnimi lastnostmi (hitosan-*graft*-poli(natrijev glutamat) in hidrofobno modificirane poli(glutamate), ki so omogočile spontano kompleksacijo polimera in proteina (rekombinantni granulocitni rastni dejavnik, GCSF) ter, ob dodatku trimetil hitosana, pripravo dobro definiranih nanodelcev.

Razvili smo nove polimerne nosilce za uporabo v dostavnih sistemih proteinskih zdravilnih učinkovin, ki so se izkazali za izredno učinkovite pri pripravi protein-polimer nanodelcev z metodo polielektrolitske kompleksacije.