

## Kratek opis usposabljanja mladega raziskovalca (*Short description of the Young Researcher's training*)

1. Raziskovalna organizacija (*Research organisation*):

Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta (University of Ljubljana, Veterinary Faculty)

2. Ime, priimek in elektronski naslov mentorja (*Mentor's name, surname and email*):

Robert Frangež, [robert.frangez@vf.uni-lj.si](mailto:robert.frangez@vf.uni-lj.si)

3. Šifra in naziv raziskovalnega področja (*Research field*):

4.04 Veterina

4. Kratek opis usposabljanja mladega raziskovalca (*Short description of the Young Researcher's training*):

Navedite tudi morebitne druge zahteve, vezane na usposabljanje mladega raziskovalca (npr. znanje angleškega jezika, izkušnje z laboratorijskim delom, potrebne licence za usposabljanje...).

slo:

Kot je že dolgo znano, so rutenijevi organski kompleksi zanimivi kot potencialna več-tarčna zdravila. Te spojine imajo več koristnih bioloških učinkov, npr. delujejo protibakterijsko, zavirajo rast in širjene tumorjev, inhibirajo holinesteraze in zavirajo agregacijo amiloida- $\beta$ . Pred kratkim smo pokazali, da nekateri novi sintetizirani rutenijevi kompleksi reverzibilno in kompetitivno zavirajo holinesteraze in glutation-S-transferazo (GST) in zato predstavljajo zanimive več-tarčne učinkovine. Te so potencialno uporabne za zdravljenje nekaterih osrednjih in perifernih nevroloških motenj (*miastenija gravis*, glavkom, nevrodegenerativni bolezni, kot je Alzheimerjeva bolezen) in nekaterih vrst raka. Glavni cilj raziskovalnega programa je proučevanje fizioloških, patofizioloških, farmakoloških in toksikoloških učinkov izbranih rutenijevih kompleksov, ki delujejo zaviralno na holinesterazi in inhibirajo GST, vse od celične ravni do celotnega organizma. Da bi ocenili njihov morebiten predklinični potencial in uporabnost za klinično testiranje ter uporabnost v veterinarski in humani medicini, bo poudarek naših raziskav na proučevanju učinkov teh spojin na obtočila in periferni živčno-mišični sistem *in vitro* in *in vivo*.

Da bi izbrali najbolj zanimivo spojino za *in vivo* predklinično preskušanje, bomo z uporabo testa inhibicije holinesteraz in GST živalskih in človeških virov izvedli predhodne poskuse *in vitro* in za testiranje izbrali najbolj aktivne snovi. Poskuse *in vitro* bomo opravili na izoliranih organih in vzdražnih tkivih. Na celični ravni bomo s konfokalno mikroskopijo proučevali učinke izbranih spojin na morfologijo ekscitabilnih celic (npr. nevronih, gladkih mišičnih celicah) in znotrajcelično aktivnost  $Ca^{2+}$ . S konvencionalno mikroelektrodno tehniko bomo proučili vpliv izbranih snovi na funkcijo AChE in nAChR, pomembni holinergični tarči, nujni za normalno funkcijo živčno-mišičnega stika (vpliv na membranski potencial, potenciale motorične ploščice, miniaturne potenciale motorične ploščice). Neposredne farmakološke učinke teh snovi bomo s konvencionalno mikroelektrodno metodo vpete napetosti (voltage clamp) proučili na modelu žabjih oocitov, mikrotransplantiranih z nAChR, izoliranih iz električnega skata (*Torpedo marmorata*). Morebitne neželene sistemske učinke potencialno najustreznejše spojine (snov z najmanjšimi vplivi na merjene parametre v odvisnosti od koncentracije) izbrane po *in vitro* testiranjih na funkcijo obtočil, periferne živčno-mišični sistem in biokemične parametre krvi, bomo proučili pri sesalcih *in vivo*.

Zaželeno je dobro znanje angleškega jezika in izkušnje z laboratorijskim delom.

eng:

Ruthenium organo-complexes are interesting as potential multitarget drugs for therapeutic use, as has been recognized for a long time. These compounds exert different biological effects, e.g. antibacterial, anticancer, antimetastatic and anticholinergic activity, and inhibition of amyloid- $\beta$  aggregation. We have recently showed that some newly synthetized ruthenium organo-complexes reversibly and competitively inhibit cholinesterases and glutathione-S-transferase (GST), and therefore represent interesting potential multitarget drugs for treatment of some central and peripheral neurological disorders (e.g. *myasthenia gravis*, glaucoma, neurodegenerative diseases like Alzheimer's), and cancer. The main aim of the research program is to study possible physiological, pathophysiological, pharmacological and toxicological effects of selected ruthenium organo-complexes possessing cholinesterase and GST inhibitory properties. These effects will be studied from cell to the organism level. The emphasis will be given to the effects of these compounds on cardiovascular and peripheral neuromuscular system *in vitro* and *in vivo*, in order to evaluate their preclinical potential, and their potential applicability for clinical testing and eventual use in veterinary and human medicine.

In order to select the most interesting compound(s) for detailed *in vivo* preclinical testing, first *in vitro* experiments using cholinesterases and GST from animal and human sources will be performed. Subsequently, *in vitro* experiments will be done on the excitable isolated organs. At the cellular level, effects of the selected compound(s) on excitable cells morphology and intracellular  $Ca^{2+}$  activity (eg. neurons, smooth muscle cells) will be studied using confocal microscopy. Eventual effects on cholinergic system in the peripheral neuromuscular system will be studied at the skeletal neuromuscular junction (effects on membrane potential, miniature endplate potentials endplate potentials, and action potential), using conventional intracellular micro-electrode techniques. The possible pharmacological effects of selected compounds will be also investigated on *Xenopus oocytes* transplanted with nAChR- rich *Torpedo marmorata* membranes, using the two electrode voltage clamp technique. Possible adverse effects of selected compound on cardiorespiratory system, peripheral neuromuscular function and biochemical blood parameters will be studied in mammals *in vivo*.

A good knowledge of English language and experience with laboratory work is desirable.