

SIMPOZIJ O KATALIZI U
FARMACEUTSKOJ INDUSTRIJI

KNJIGA SAŽETAKA

završna konferencija
CAT PHARMA projekta

17. travanj 2023.

<https://catpharma.irb.hr/2023/>



Institut Ruđer Bošković, Zagreb

Simpozij o katalizi u farmaceutskoj industriji: završna konferencija CAT PHARMA projekta

Zagreb, 17. travanj 2023. godine

**Projekt: Inovativna rješenja u katalitičkim proizvodnim procesima za
potrebe farmaceutske industrije (CAT PHARMA)**

Nositelj projekta: Institut Ruđer Bošković

Partner: Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

Oznaka: KK.01.1.1.04.0013



Izrada ove publikacije financirana je sredstvima Europske unije iz Europskih strukturnih I investicijskih fondova.

- 10:15 – 10:30 **Projekt CAT Pharma**
Srećko Kirin, Institut Ruđer Bošković (IRB)
- 10:30 – 11:00 **Harmin i partneri u zajedničkom pothvatu: kako ubiti plazmodij i tumorsku stanicu?**
Zrinka Rajić, Farmaceutsko-biokemijski fakultet (FBF)
- 11:00 – 11:15 **Trifenilfosfinski kompleksi rutenija kao fluorescentni senzori albumina i njihovo antitumorsko djelovanje**
Saša Opačak, Institut Ruđer Bošković (IRB)
- 11:15 – 11:30 **Metalni kompleksi N-heterocikla - sinteza, strukturna karakterizacija i biološka aktivnost**
Silvio Jakopec, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije (FKIT)
- 11:30 – 12:30 **Pauza za ručak**
- 12:30 – 13:00 **Kristalno inženjerstvo metaloorganskih kokristala temeljenih na halogenskim vezama**
Dominik Cinčić, Prirodoslovno-matematički fakultet (PMF)
- 13:00 – 13:15 **Utjecaj deuteriranja na afinitet antagonista adenozijskih A_{2A} receptora**
Lucija Hok, Institut Ruđer Bošković (IRB)
- 13:15 – 13:30 **Dearomatizacijska dvokomponentna kaskadna reakcija za pripremu [3,4-b] indolnih derivata**
Ines Bašić, Institut Ruđer Bošković (IRB)
- 13:30 – 14:00 **Pauza za kavu**
- 14:00 – 14:15 **Enzimski sinteza kiralnih građevnih blokova upotrebom halogenhidrin-dehalogenaza**
Emina Mehić, Pliva d.o.o.
- 14:15 – 14:30 **Optimizacija biokatalitičke sinteze (R)-3-hidroksi- γ -butirolaktona pomoću matematičkog modela procesa**
Ivana Čevič, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije (FKIT)
- 14:30 – 15:00 **Nanoformulations towards more efficient and safer drugs: case studies of doxorubicin and L-DOPA**
Ivana Vinković Vrček, Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada (IMI)

Harmin i partneri u zajedničkom pothvatu: kako ubiti plazmodij i tumorsku stanicu?

Zrinka Rajić

Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu

Malarija, infektivna bolest uzrokovana protozom rodu *Plasmodium*, i rak, zloćudna bolest koju karakterizira nekontrolirana dioba stanica i njihovo širenje u okolno tkivo, predstavljaju globalne zdravstvene prijetnje. Iako etiološki potpuno različite bolesti, zanimljivo je da se različiti antimalarici koriste kao dio terapije brojnih karcinoma, dok su neki citostatici pokazali antimalarijsko djelovanje i predstavljaju vrijedne spojeve uzore za razvoj novih antimalarika. Slična je situacija i s prirodnim produktom harminom, alkaloidom β -karbolinskog tipa, aktivnom sastavnicom ekstrakta biljke *Peganum harmala*, koji se koristi u tradicionalnoj kineskoj medicini za terapiju upravo malarije i raka [1].

Mi smo odlučili udružiti harmin s molekulama koje također pokazuju dvojno djelovanje, odnosno primjenom molekulske hibridizacije kovalentno povezati dvije biološki aktivne tvari u potrazi za novim djelatnim tvarima u polju antimalarika i citostatika. Prednosti hibridnih spojeva uključuju pojačavanje biološkog djelovanja i selektivnosti, otpornost prema razvoju rezistencije, kao i poboljšanje fizičko-kemijskih i farmakokinetičkih svojstava [2].

Kao partnere harminu odabrali smo 1) derivate cimetine kiseline, 2) 4-aminokinolinske antimalarike klorokin i meflokin, 3) 8-aminokinolinski antimalarik primakin, 4) kumarin, 5) ferocen i 6) artemizinin te su nastali redom harmicini, harmikini, harmiprimi, harmirini, harmiceni i harmizinini. Svim navedenim spojevima ispitano je antimalarijsko djelovanje na eritrocitni i hepatocitni stadij životnog ciklusa plazmodija i citostatsko djelovanje na više humanih tumorskih staničnih linija. Tako opsežno ispitivanje rezultiralo je identifikacijom novih „hit“ molekula u oba polja, odnosno utvrđeno je koje kombinacije molekula imaju bolji antimalarijski, a koje bolji citostatski učinak.

Potencijalni mehanizam njihovog antimalarijskog djelovanja je inhibicija proteina toplinskog šoka 90 *P. falciparum* i/ili inhibicija polimerizacije hemozoina, dok je za utvrđivanje mehanizma citostatskog djelovanja potrebno provesti dodatna istraživanja.

[1] G. Poje, et al., Int. J. Mol. Sci. 23 (2022) 9315; doi: 10.3390/ijms23169315.

[2] G. Poje, et al., Eur. J. Med. Chem. 238 (2022) 114408; doi: 10.1016/j.ejmech.2022.114408.

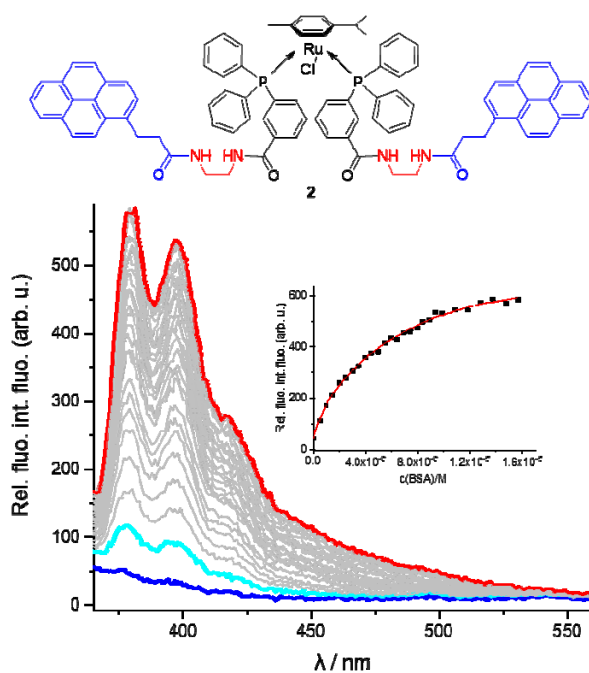
Rad je financiran sredstvima uspostavnog istraživačkog projekta Derivati harmina kao potencijalni antimalarici (UIP-2017-05-5160) Hrvatske zaklade za znanost.

Trifenilfosfinski kompleksi rutenija kao fluorescentni senzori albumina i njihovo antitumorsko djelovanje

Saša Opačak, Margareta Pernar Kovač, Anamaria Brozović, Ivo Piantanida, Srećko I. Kirin

Institut Ruđer Bošković, Zagreb

Goveđi serumski albumin (BSA) se često koristi kao model proteina za ljudski serumski albumin koji ima važnu ulogu u metabolizmu te postoji značajan interes prema razvoju metoda za njegovu detekciju. Fluorescencija je atraktivna metoda za senzorsku primjenu jer je brza, praktična, vrlo osjetljiva i selektivna. U ovoj publikaciji priredili smo fluorescentne komplekse rutenija čija je fluorescencija ugašena u vodenom mediju, a obnavlja se vezanjem na BSA. Navedeno svojstvo omogućuje korištenje priređenih spojeva kao "Turn-on" fluorescentnih senzora za BSA. Isti spojevi su također i bio-aktivni te pokazuju povećanje svoje toksičnosti prilikom osvjetljavanja, što ih čini potencijalnim kandidatima za fotodinamičku terapiju.



Slika 1 Obnavljanje fluorescencije spoja 2 prilikom vezanja na BSA.

Metalni kompleksi *N*-heterocikla – sinteza, strukturna karakterizacija i biološka aktivnost

Silvio Jakopec¹, Srećko I. Kirin², Silvana Raić Malić¹

¹ Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, ² Institut Ruđer Bošković

U okviru istraživanja proučavani su *N*-heterociklički ligandi i njihovi metalni kompleksi. Provedena je sinteza heterocikličkih spojeva, poput derivata piridina, 2,2'-dipiridilamina, benzimidazola i benzotiazola, te njihovih koordinacijskih kompleksa s prijelaznim metalima. Pripravljene derivati podijeljeni su u šest klasa te im je ispitano biološko djelovanje. Heterobimetalni kompleks konjugata ferocena i 2,2'-dipiridilamina s bakrom(II) [Cu(**A8c**)₂](CF₃SO₃)₂ pokazao je selektivno inhibitorno djelovanje na stanice HeLa, MES-OV, A549 i MDA-MB-231 uz povećanje stanične populacije u fazama staničnog ciklusa S i G2/M. Aktivnost 2,2'-dipiridilaminskih kompleksa poboljšana je koordinacijom s Re(I), pri čemu je, najizraženiju aktivnost pokazao kompleks [Re(**B4a**)(CO)₃]Cl. Kompleks bis(2,2'-pikolil)aminskog liganda i Ni(II), [Ni(**C1**)₂](NO₃)₂, pokazao je istaknuto antiproliferativno djelovanje ometajući replikaciju DNK i smanjujući ekspresiju antiapoptotskog markera Bcl-2. Rutenijevi(II) polusendvič kompleksi konjugata 2-arilbenzotiazola i 2-pikolila imali su antiproliferativno djelovanje u submikromolarnom području sa selektivnošću prema PANC1 stanicama. Konjugati acil-tiourea i benzotiazola te njihovi Ru(II) kompleksi imali su inhibitorno djelovanje u niskom mikromolarnom i nanomolarnom području na stanice H460, MCF-7, SW 620 i HepG2, s izraženim djelovanjem na staničnoj liniji raka dojke (MCF-7). Ligand **E5c** i kompleksi **D4a**_{Ru}, **E4c**_{Ru} i **E5c**_{Ru} odabrani su za daljnja testiranja mehanizma biološkog djelovanja.

Kristalno inženjerstvo metaloorganskih kokristala temeljenih na halogenskim vezama

Dominik Cinčić

Kemijski odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu

e-mail: dominik@chem.pmf.hr

Halogenska veza intenzivno se proučava već nekoliko desetljeća u svim područjima kemije a ponajviše u kristalnom inženjerstvu.^[1] U posljednjih dvadesetak godina bilježi se konstantan porast interesa za metaloorganske materijale koji se temelje na halogenskim vezama te su objavljeni brojni znanstveni i pregledi radovi koji se bave izučavanjem halogenskih veza u metaloorganskim jednodimenzionalnim kristalima i solima.^[2] Suprotno tome, mnogo je manje istražen dizajn višekomponentnih kristala koji uključuju neutralne koordinacijske spojeve i/ili neutralne donore halogenskih veza. Takvi materijali privlačan su cilj kristalnog inženjerstva, zbog mogućnosti pripreme materijala čija su magnetska, optička, električna i katalitička svojstva različita od svojstava organskih supramolekulskih materijala.^[3] Za razliku od jednostavnih organskih spojeva, koordinacijski spojevi kao građevne jedinice pružaju širok raspon različitih prostornih građa molekula čime se mogu ostvariti različite supramolekulske arhitekture. Naša grupa usredotočena je na halogenske veze kao alat u kristalnom inženjerstvu višekomponentnih kristala uporabom novih akceptora i donora a posebice na ugradnju metala u supramolekulske strukture. Ovo predavanje dat će pregled strategija za dizajn i pripremu metaloorganskih kokristala te nedavno objavljenih rezultata istraživanja. Prikazat će se potencijal kelatnih i anionskih liganada koordinacijskih spojeva kao akceptora halogenske veze te iznalaženje načina sastavljanja metaloorganskih supramolekulskih arhitektura temeljenih na halogenskim vezama.^[3]

[1] Cavallo, G; Metrangolo, P.; Milani, R.; Pilati, T.; Priimagi, A.; Resnati, G.; Terraneo, G., *Chem. Rev.*, **2016**, *116*, 2478–2601.

[2] Groom, C. R.; Bruno, I. J.; Lightfoot, M. P.; Ward, S. C., *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci., Cryst. Eng. Mater.*, **2016**, *72*, 171–179.

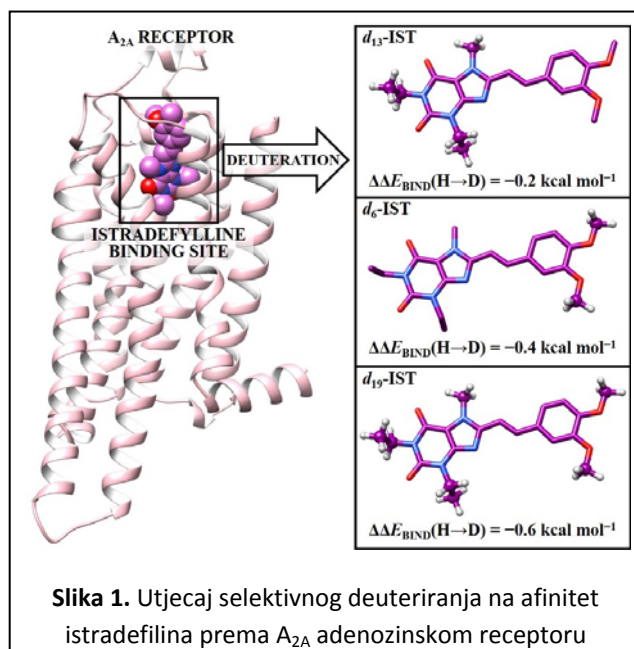
[3] Nemeč, V.; Lisac, K.; Bedeković, N.; Fotović, L.; Stilinović, V.; Cinčić, D., *CrystEngComm*, **2021**, *23*, 3063–3083.

Utjecaj deuteriranja na afinitet antagonista adenzinskih A_{2A} receptora

Lucija Hok, Robert Vianello

Laboratorij za računalni dizajn i sintezu funkcionalnih materijala, Institut Ruđer Bošković

e-mail: Lucija.Hok@irb.hr



Slika 1. Utjecaj selektivnog deuteriranja na afinitet istradefilina prema A_{2A} adenzinskom receptoru

Upotreba deuterija u farmaceutskoj kemiji doživljava nagli rast u posljednjih nekoliko godina, što je posebno potaknuto odobrenjima FDA agencije za stavljanje na tržište dvaju deuteriranih lijekova, Austeda 2017. i Sotykta 2022. godine. Pozitivni učinci selektivnog deuteriranja nadilaze osnovnu primjenu u poboljšanju farmakokinetičkih svojstava nedeuteriranih spojeva jer pružaju mogućnost efikasnog rješavanja problema toksičnosti posredovane metabolizmom, interakcije lijekova, niske bioaktivacije, pa čak i šire, deuteriranje može biti učinkovit alat za povećanje afiniteta liganada bez uvođenja značajnih strukturnih promjena.[1]

U ovom istraživanju korišten je niz računalnih

tehnika kako bi se procijenio efekt selektivnog C–H deuteriranja na afinitet antagonista istradefilina prema adenzinskom A_{2A} receptoru, i to paralelno s kafeinom, dobro poznatim i najčešće korištenim stimulansom koji svoje učinke ostvaruje upravo putem A_{2A}R antagonizma. Dobiveni rezultati ukazuju na veću pozicijsku fleksibilnost manjeg kafeina unutar ortosteričkog mjesta, dok dodatak C8-stirilnog fragmenta u istradefilinu „zaključava“ ligand u uniforman položaj, što mu omogućava formiranje stabilnijih i jačih interakcija s receptorom te veći afinitet u odnosu na kafein. Nadalje, uočeno je da aromatski supstituent na C8-položaju pokazuje veću osjetljivost prema deuteriranju od ksantinskog dijela jer izotopna H–D supstitucija dvaju –OCH₃ skupina rezultira povećanjem afiniteta za –0,4 kcal mol⁻¹ u odnosu na nedeuterirani ishodni spoj, što nadilazi povećanje afiniteta od –0,3 kcal mol⁻¹, postignuto u perdeuteriranom kafeinu. Ipak, puni potencijal ostvaren je deuteriranjem svih alkilnih položaja istradefilina čime je afinitet poboljšán za –0,6 kcal mol⁻¹, što odgovara povećanju potentnosti lijeka za 2,8 puta (Slika 1). Ova saznanja podupiru primjenu deuterija u razvoju novih lijekova, a činjenica da se trenutno više od 20 označenih kandidata nalazi u kliničkim ispitivanjima daje naslutiti svijetlu budućnost ove modifikacijske strategije u godinama koje dolaze.[2]

[1] (a) L. Hok, J. Mavri, R. Vianello, *Molecules* **25** (2020) 6017; (b) M. Kržan, J. Keuschler, J. Mavri, R. Vianello, *Biomolecules* **10** (2020) 196.

[2] T. Pirali, M. Serafini, S. Cargnin, A. A. Genazzani, *J. Med. Chem.* **62** (2019) 5276–5297.

Dearomative two-component cascade for the preparation of pyrrolo [3,4-*b*] indole derivatives

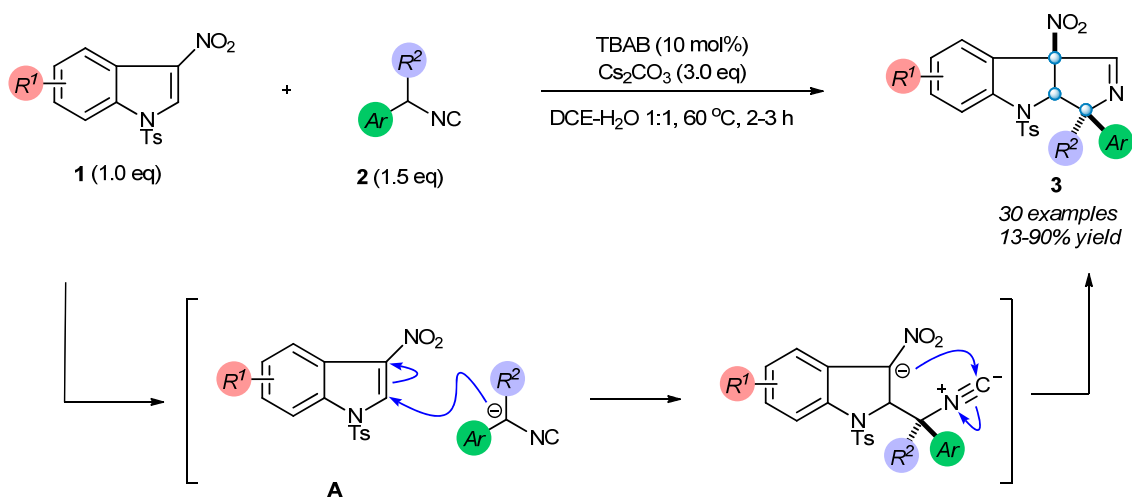
Ines Bašić, Ana Mikleušević, Matija Gredičak

Ruđer Bošković Institute, Zagreb, Croatia

e-mail: ibasic@irb.hr

According to retail sales in 2021, among the top 200 drugs 71 of them possess a polycyclic structure, therefore polycyclic structure is convenient for developing multiple mechanism drugs. It can both serve as a moiety that may be added to improve the pharmacokinetic properties of drugs currently used in clinic trials, drug candidates under development, or as a scaffold for the drug proper.¹ Direct transformation of aromatic compounds as initial raw materials into polycyclic molecules with complex three-dimensional skeletons through the development of structurally diverse oriented synthetic methodologies would be of great importance for the pharmaceutical industry.² Development of novel dearomatization reactions of aromatic compounds with highly reactive nucleophiles/electrophiles and the ability to suppress possible rearomatization of the products by creating new quaternary carbon centers is the general strategy of the project.

The aim of this work is the development of cascade dearomatization of electron-deficient indoles for the construction of pyrrolo [3,4-*b*] indole derivatives containing three consecutive stereogenic centers. Our strategy is based on the interrupted formal Barton-Zard reaction (Scheme 1). In a base catalyzed reaction, isocyanide **2** is deprotonated, and the Michael-type addition occurs at the C2 position of the indole derivative **1**. Resulting indole anion intermediate **A** then undergoes diastereoselective 5-*endo-dig* cyclization onto the isocyanide. Optimal reaction conditions include indole derivative **1** (1.0 eq), isocyanide **2** (1.5 eq), Cs₂CO₃ (3 eq) as base, TBAB (10 mol%) as a phase-transfer catalyst in dichloroethane-water 1:1 at 60 °C. The reaction is tolerant on a range of various indoles and isocyanides, and products **3** are obtained in high yields.³



Scheme 1. The concept of the proposed dearomatization reaction.

[1] C. J. Van der Schyf, W. J. Geldenhuys, *Neurotherapeutics* **6** (2009) 175.

[2] Q. Ding, X. Zhou, R. Fan, *Org. Biomol. Chem.* **12** (2014) 4807.

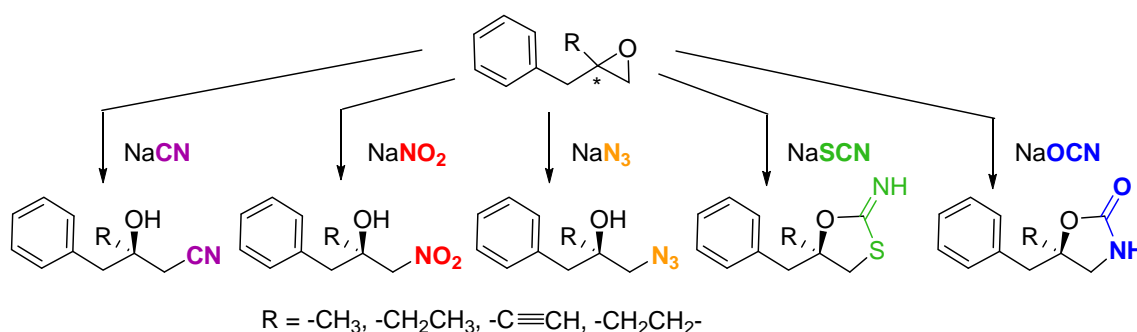
[3] I. Bašić, A. Mikleušević, M. Gredičak, *manuscript under preparation*

Enzimska sinteza kiralnih građevnih blokova upotrebom halogenhidrin-dehalogenaza

Emina Mehić^{1,2}, Lucija Hok¹, Zvezdana Findrik Blažević³, Robert Vianello¹, Maja Majerić Elenkov¹

¹Institut Ruđer Bošković ²Pliva d.o.o. ³Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

Halogenhidrin-dehalogenaze (HHDH) su enzimi koji imaju sposobnost uvođenja novih funkcionalnih skupina u molekulu, kataliziranjem reakcije otvaranja epoksida s različitim nukleofilima. Aktivno mjesto enzima može primiti više različitih neprirodnih nukleofila poput azida, cijanida i nitrita, zbog čega su ovi enzimi privukli pažnju sintetske organske kemije. Njihova enantioselektivnost ovisna je o strukturi supstrata, te često nije dovoljno visoka za sintetsku primjenu. Enzim HheB2 iz grupe B u prethodnim istraživanjima testiran je na relativno malom broju supstrata gdje je pokazao nisku enantioselektivnost, te je dugi niz godina ostao zanemaren u biokatalitičkim istraživanjima. U okviru ovog rada provedeno je opsežno ispitivanje dva divlja tipa HHDH iz skupine B (HheB iz *Croynebacterium* sp. soj N-1074 i HheB2 iz *Mycobacterium* sp. soj GP1) na nizu strukturno različitih supstrata i nukleofila. Otkriveno je nekoliko visoko enantioselektivnih reakcija ($E > 200$), gdje je HheB pokazao bolju enantioselektivnost i aktivnost prema većem broju supstrata u usporedbi s HheB2. Ova dva enzima dijele visoku homologiju sekvence i razlikuju se u samo četiri aminokiseline (F36I, T120A, C124Y i H125Q). Ispitivanjem mutanata HheB2 s modificiranim pojedinačnim aminokiselinama utvrđene su aminokiseline ključne za veću enantioselektivnost HheB u odnosu na HheB2. Kombinacijom niza računalnih pristupa interpretirani su dobiveni eksperimentalni rezultati te je pokazano da su kinetički i termodinamički parametri reakcija ključni za uspješnu enantioselektivnost enzimске reakcije. Nadalje, otkriveno je da većina testiranih nukleofila uzrokuje inhibiciju enzima pri višim koncentracijama. Koristeći enzime HheB i HheB2 uspješno je provedena sinteza nekoliko β -supstituiranih alkohola i oksazolidinona s kvaternim stereocentrom u iskorištenju 37-44% i enantiomerne čistoće 94-99% ee (Shema 1) [1].



Shema 1. Enantioselektivno otvaranje epoksida katalizirano HHDH-enzimima.

[1] E. Mehić, L. Hok, Q. Wang, I. Dokli, M. Svetec Miklenić, Z. Findrik Blažević, L. Tang, R. Vianello, M. Majerić Elenkov, *Adv. Synth. Catal.* 364 (2022) 2576-2588.

Optimizacija biokatalitičke sinteze (*R*)-3-hidroksi- γ -butirolaktona pomoću matematičkog modela procesa

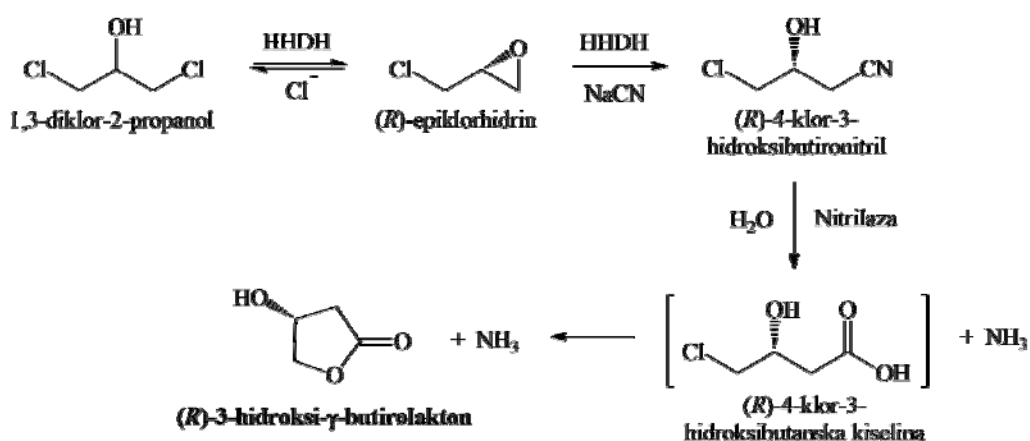
Ivana Čevič¹, Nevena Milčić¹, Maja Majerić Elenkov², Zvezdana Findrik Blažević¹

¹Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, ²Institut Ruđer Bošković

e-mail: icevid@fkit.hr

U posljednjih nekoliko desetljeća, biokatalitički procesi su se pokazali kao odlična nadopuna, a u nekim slučajevima i zamjena, za konvencionalnu kemijsku sintezu. Potencijal biokatalize se nalazi u nenadmašnoj stereo, regio i kemo-selektivnosti te visokim iskorištenjima reakcija.[1] Proizvodnja enantiomerno čistih građevnih blokova i prekursora od iznimne je važnosti prvenstveno za farmaceutsku industriju. Biokatalitički procesi mogu se koristiti za sintezu kiralnih spojeva na ekološki održiv i ekonomičan način.[2] (*R*)-3-hidroksi- γ -butirolakton (HBL) je svestrani kiralni građevni spoj koji se primjenjuje u sintezi raznih otapala, polimera te kiralnih farmaceutika i nutraceutika (poput HIV inhibitora, statina i L-karnitina).[3] Postoje brojni kemijski i kemo-enzimski putevi za sintezu HBL-a, ali su ograničeni s nedostacima poput skupih i toksičnih reaktanata, zahtjevnih procesnih uvjeta, niskog iskorištenja i selektivnosti. Nasuprot tome, biološki procesi koriste blage uvjete, omogućuju visoku selektivnost i stoga mogu ponuditi ekonomski isplativ put za sintezu ove vrijedne kemikalije.[4]

U ovom radu proučavana je kaskadna reakcija koja se sastoji od četiri stupnja (slika 1). Prvi stupanj je konverzija supstrata 1,3-diklor-2-propanola u (*R*)-epiklorhidrin (EKH). Zatim slijedi drugi stupanj reakcije, otvaranje epoksidnog prstena u prisutnosti cijanida te konverzija EKH u (*R*)-4-klor-3-hidroksibutironitril (CNOH). Oba stupnja katalizirana su enzimom halogenhidrin-dehalogenazom (HHDH). Enzim nitrilaza koristio se u trećem stupnju za kataliziranje konverzije CNOH u (*R*)-4-klor-3-hidroksibutansku kiselinu. Nakon čega kiselina spontano ciklizira do HBL (četvrti stupanj). Cilj doktorskog rada je optimirati procesne uvjete višeenzimskog sustava pomoću matematičkog modeliranja.



Slika 1. Shema kaskadne reakcije.

- [1] J. Lima-Ramos et al., *Green Process. Synth.* **3** (2014) 195–213.
[2] R. N. Patel, *Food Technol. Biotechnol.* **42** (2004) 305–325.
[3] S.-H. Lee et al., *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **84** (2009) 817–828.
[4] H. Dhamankar et al., *Metab. Eng.* **25** (2014) 72–81.

Nanoformulations towards more efficient and safer drugs: case studies of doxorubicin and L-DOPA

Ivana Vinković Vrček

Institute for Medical Research and Occupational Health, Zagreb, Croatia

e-mail: ivinkovic@imi.hr

The application of nanoparticles (NPs) has enormous potential for increasing the efficiency of drug and gene delivery, while decreasing the unwanted toxic effects, especially in developing antitumor drugs [1,2]. Two case studies will be presented: safety profiling of nano-enabled doxorubicin and efficacy testing of nanoformulated L-DOPA.

One of the very effective agent against a wide range of malignancies is doxorubicin (DOX) that is also characterized by low selectivity leading to severe side effects, like cardiotoxicity that limit its long-term use and prevents optimal benefits for the patient [3]. Safety profile of innovative DOX nanoformulation was compared to conventional and liposomal formulations that are already in clinical use with regard to the metabolic alterations in liver, kidney and heart of animals.

The current gold standard for treatment of Parkinson disease is L-DOPA, a dopamine precursor that can easily cross the blood-brain barrier and serve as a source of dopamine. However, long-term treatment with L-DOPA or distribution of any anti-Parkinsonian drug in healthy tissues results in various side effects, such as psychiatric disturbances, dyskinesias nausea and vomiting, which represent key challenges in the therapy of the disease [4]. *In vivo* efficacy evaluation by behavioural assays showed improved recovery of animals treated by L-DOPA doped on the selenium nanoparticles compared to conventional L-DOPA formulation.

This work clearly indicate the value of nanotechnology to open up opportunities for the development of safe and efficient drug nanoformulations.

ACKNOWLEDGEMENTS: This study was financially supported by the EU H2020 project “PHOENIX – Pharmaceutical Open Innovation Test Bed for Enabling Nano-pharmaceutical Innovative Products” funded under grant agreement no. 953110 and by the “Research Cooperability” Program of the Croatian Science Foundation funded by the European Union from the European Social Fund under the Operational Programme Efficient Human Resources 2014-2020 (grant HRZZ-PZS-2019-02-4323) and by the European Regional Development and Croatian Ministry of Science fund under the Operational Programme “Competitiveness and Cohesion 2014 – 2020” (grant KK.01.1.1.02.0015.)

[1] Rahman, A. M., Yusuf, S. W. and Ewer, M. S., *Int. J. Nanomed.*, **2007**, 2(4), 567–583A.

[2] Brigger, I., Dubernet, C. and Couvreur, P., *Adv. Drug Delivery Rev.* **2002**, 54(5), 631–651.

[3] Llovet, J. M. *et al.*, *Lancet (London, England)*. **2002**, 359(9319), 1734–1739.

[4] Kaushik, A. C., Bharadwaj, S., Kumar, S. & Wei, D. Q. *Sci. Rep.* **2018**, 8, 1–8.