

54. KRKINE NAGRADE

54th KRKA PRIZES

34. SIMPOZIJ

34th SYMPOSIUM

ZBORNIK POVZETKOV

BOOK OF ABSTRACTS

Poslanstvo

*Mlade raziskovalce spodbujamo
k ustvarjalnosti, raziskovanju in razvoju.*

Vizija

*Spodbujamo mladostno zagnanost in
stremljenje k odličnosti v raziskovalnem delu.
Tlakujemo pot novim spoznanjem,
ki bodo prispevala k novim izdelkom
prihajajočih generacij.*

Mission

*Encouraging the creativity, research and
development of young researchers.*

Vision

*Encouraging the youthful spirit and excellence
in research work. Paving the way for new
discoveries that will result in new products of
generations to come.*



KRKINE NAGRADE
ZNANOST POVEZUJE

54. KRKINE NAGRADE | Zbornik povzetkov

Novo mesto, 18. oktober 2024

Izdajatelj

Krka, d. d., Novo mesto
Šmarješka cesta 6
8501 Novo mesto

Predstavitev nagrajencev

Elvira Medved

Jezikovni pregled (slovenski jezik)

Marta Anžlovar, Mateja Slavec, Tina Vehovec

Prevod in jezikovni pregled (angleški jezik)

Mojca Ceferin, Katarina Tomc, Iva Ogorelec

Oblikovanje

Renata Burnik

Produkcija

Tanja Balantič, Klaudija Sečen

Fotografije

Andrej Križ

Tisk

PEAKPRINT d.o.o., natisnjeno v nakladi 600 izvodov

www.krkinenagrade.si

Častni odbor 54. Krkinih nagrad

Jože Colarič, predsednik uprave in generalni direktor Krke
akad. prof. dr. **Peter Štih**, predsednik Slovenske akademije znanosti in umetnosti
prof. dr. **Gregor Majdič**, rektor Univerze v Ljubljani
prof. dr. **Zdravko Kačič**, rektor Univerze v Mariboru
prof. dr. **Marko Anderluh**, predsednik Slovenskega farmacevtskega društva
dr. **Peter Venturini**, predsednik Slovenskega kemijskega društva
prof. dr. **Radko Komadina**, predsednik Slovenskega zdravniškega društva

Svet Sklada Krkinih nagrad

dr. **Aleš Rotar**, predsednik
prof. dr. **Mihael Japelj**, častni predsednik

Znanstveni odbor

dr. Klemen Korasa
dr. Jure Bezenšek
dr. Matjaž Deželak
dr. Eva Pušavec Kirar
Gordan Sladič
dr. Vida Škrabanja
dr. Joanna Anna Trykowska Konc
dr. Luka Žnideršič

Člani

dr. Žiga Hodnik
Jernej Hvala
Ina Kosmač
Elvira Medved
dr. Janja Mirtič
Tanja Sluga Kobe
mag. Simona Torkar Flajnik

Glavni in odgovorni urednik

dr. Miha Plevnik

VSEBINA

CONTENT

Recenzenti

Maja Ajdišek, Dita Aplinc, Grega Bajc, Breda Barbič Žagar, dr. Primož Benkič, Marko Benković, dr. Ana Bergant Simončič, dr. Tadeja Bevec, dr. Jure Bezenšek, Marko Bjelošević, Matic Bilban, dr. Marko Bitenc, Tanja Blatnik, Kaja Blažič, dr. Jernej Bobnar, Klemen Bogovič, dr. Sergeja Bombek, dr. Mari Božič, Petra Brlogar, Ilija Buzar, Branka Cizerle, dr. Irena Čarman, dr. Katarina Černelič, dr. Katja Čerpnjak, mag. Angela Čuk, mag. Alen Čatović, Ines Dakskobler Savšek, dr. Matjaž Deželak, dr. Katarina Dobrovoljc, mag. Tina Dular Meglič, dr. Aleša Dular Vovko, dr. Mateja Gabrijel Blatnik, dr. Aleš Gasparič, Jaka Glavač, dr. Ivan Gobec, Matej Godec, Aljoša Gradišek, mag. Anica Grandovec, dr. Alenka Grošel, dr. Jasna Grželj, Mojca Hiti, Tina Hočevar, Blaž Hodnik, dr. Žiga Hodnik, Bor Hodžič, Patrik Horžen, Marjeta Hostnik, Žan Hribar, Nina Hrvatič, dr. Grega Hudovornik, Jernej Hvala, Tina Hvala, dr. Gregor Ilc, Helena Jakše, dr. Špelca Jenko, Jernej Jerman, Špela Ješe, Urh Jevšovar, Aleš Judež, Sendi Kersnič, Ksenija Kikelj, dr. Maja Kincl Skube, Borut Kirar, dr. Dejan Klement, dr. Slavko Klobčar, mag. Aleš Knoll, Tjaž Kobal, Tanja Kohek, Ivanka Kolenc, dr. Tanja Koleša, Tanja Konda, Nejc Koračin, dr. Klemen Korasa, Jernej Kos, Ina Kosmač, mag. Berta Kotar Jordan, mag. Helena Kotnik, dr. Borut Kovačič, Irena Krajačič, dr. David Kralj, dr. Andrejka Kramar, Nataša Kranjčević, dr. Vesna Krošelj, dr. Barbara Kunič, dr. Jernej Kužner, dr. Brigita Lapornik, dr. Roman Lenaršič, dr. Gregor Lorbek, dr. Nina Lukač, Eva Majhenič, Matej Makše, mag. Simon Makuc, dr. Bronja Manček, Špela Medic, Boštjan Meglič, dr. Primož Meh, Maja Mejač, Marija Meleh, Tomaž Meško, Aleksander Miložič, Miha Mrzlikar, Jože Mužerlin, Rok Oberč, Duša Oblak, Jurij Oblak, mag. Irena Orel, dr. Renata Osolnik, mag. Vesna Pahor, Matjaž Pajk, Gregor Parkelj, dr. Anica Pečavar, Mitja Pelko, dr. Lidija Pezdirc, Boštjan Piltaver, Katja Pisanec, Anja Planinc, dr. Andreja Plaper, dr. Miha Plevnik, dr. Primož Podbregar, dr. Mitja Pohlen, dr. Gašper Poklukar, Aleš Polovič, Tina Požun, Maja Preskar, Teja Prijatelj, Jože Primc, Aleša Primožič, dr. Anja Pucer Janež, Urh Pucihar, mag. Aleša Punčuh Kolar, dr. Gašper Pustovrh, dr. Katarina Rade, mag. Ivan Radež, dr. Andreja Radman Kastelic, Radivoje Rašković, dr. Mateja Rebernik, Žiga Rebernik, dr. Nataša Rebolj, Vojko Rebolj, dr. Tadej Recelj, dr. Sara Redenšek Trampuž, Aleksander Rekič, dr. Urška Ribič, Urša Rojec, dr. Aleš Rotar, dr. Saša Rožman, Miloš Ružič, Robert Sekereš, Tanja Seničar, dr. Zvone Simončič, dr. Igor Simonič, Gordan Sladič, Marko Slana, Janika Slanc Vovk, Domen Smodiš, dr. Janez Smodiš, dr. Tina Smolič, dr. Matej Smrkolj, Matej Stergar, dr. Gregor Strle, dr. Žiga Strmšek, Tadej Stropnik, Sandi Svetič, dr. Leon Ščuka, dr. Luka Šenica, Alenka Šenk Erpič, Tina Šilc, Roman Šiler, dr. Ervin Šinkovec, dr. Vida Škrabanja, dr. Natalija Škrbina Zajc, dr. Katja Škrlec, Vanja Škufca, mag. Katja Štajdohar, Urška Štangelj, dr. Mojca Štaudohar Kozjan, Davor Štefanič, dr. Marko Štefanič, dr. Anton Štimac, Nika Terlep, dr. Jaroslav Tihi, Andreja Toplišek, Tilen Tori, dr. Tanja Trafela, dr. Elizabeta Tratar Pirc, dr. Joanna Anna Trykowska Konc, mag. Robert Ucman, Nataša Uranič, dr. Manca Urh, dr. Darko Uršič, dr. Ana Vidmar, dr. Dejan Vražič, dr. Miha Vrbinc, Tomaž Vrbinc, mag. Julija Vrbovšek, dr. Franc Vrečer, dr. Mateja Vrečer, Timotej Zaletel, dr. Silvo Zupančič, Slavko Zupančič, Saša Žikič, dr. Luka Žnidersič, dr. Simon Žurga, Zala Žužek Vidic

54. KRKINE NAGRADE

- 12 | Aleš Rotar, predsednik Sveta Sklada Krkinih nagrad
- 14 | Krkini nagrajenci 2024

34. SIMPOZIJ
ZBORNİK POVZETKOV

- 24 | Klemen Korasa, Znanstveni odbor Sveta Sklada Krkinih nagrad

VELIKE KRKINE NAGRADE
PREDSTAVITEV NAGRAJENCEV

- 28 | Živa Zajec, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Načrtovanje, sinteza in biološko vrednotenje novih alosteričnih zaviralcev Hsp90 s protitumornim delovanjem
- 34 | Ana Oberlintner, Mednarodna podiplomska šola Jožefa Stefana
Površinske modifikacije celuloznih nanomaterialov: mehanizmi, kinetika in njihove aplikacije
- 40 | Maša Sterle, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Načrtovanje, sinteza in vrednotenje neplanarnih benzotiazolnih zaviralcev bakterijskih topoizomeraz z razširjenim spektrom delovanja
- 46 | David Majer, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru
Razvoj metod za določanje organskih molekul z uporabo modificiranih in nemodificiranih sitotiskanih ogljikovih elektrod
- 52 | Črt Dragar, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Razvoj nanovlaken z magnetnimi nanodelci za uporabo v biomedicini

54. KRKINE NAGRADE POVZETKI

- 62 | **Aleša Bricelj**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Načrtovanje, sinteza in vrednotenje himernih molekul za inducirano razgradnjo proteinov, vpletenih v patogenezo malignih obolenj
- 63 | **Andrej Grobin**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Vrednotenje obremenitve slovenskih vod s hormoni in izbranimi motilci endokrinega sistema
- 64 | **Maja Kokot**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Strukturno podprto načrtovanje in optimizacija selektivne toksičnosti novih zaviralcev bakterijske topoizomeraze tipa II
- 65 | **Mila Kovačević**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Razvoj na lipidih in talinah osnovanih sistemov polnjenih v mezoporozne nosilce za izboljšanje topnosti karvedilola
- 66 | **Luka Šturm**, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Priprava vodotopnega propolisa in proučevanje mehanizmov njegovega delovanja v modelnih vodnih in lipidnih sistemih
- 67 | **Lea Gazvoda**, Mednarodna podiplomska šola Jožefa Stefana
Piezoelektrični polimerni filmi iz polimlečne kisline za biomedicinsko uporabo
- 68 | **Blaž Kamenik**, Fakulteta za strojništvo, Univerza v Mariboru
Geometrijsko in fizikalno sklopljen numerični model sublimacijskega sušenja v liofilizatorju
- 69 | **Damjan Avsec**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Vloga proteasoma, imunoproteasoma in avtofagije v terapiji kronične limfocitne levkemije
- 70 | **Katja Balantič**, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Elektrokemijske reakcije, sproščanje kovinskih ionov in lipidna oksidacija pri elektroporaciji
- 71 | **Ema Gričar**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Razvoj in uporaba elektrokemijskih senzorjev na osnovi grafenskih derivatov
- 72 | **Maria Scuderi**, Fakulteta za elektrotehniko, Univerza v Ljubljani
Identifikacija in opis mehanizmov molekularnega transporta preko celične membrane pri elektroporaciji
- 73 | **Erik Rihtar**, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Načrtovanje dimerizacijskih sistemov odvisnih od malih molekul za nadzor celičnih procesov
- 74 | **Urša Šuštar**, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Opredelitev genetskih vzrokov hiperholesterolemije ter ugotavljanje povezav s kliničnimi značilnostmi pri otrocih in mladostnikih
- 75 | **Kris Antolinc**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Fotoredoks arilacije 4-okso-4H-piridino[1,2-a]pirimidin-3-diazonijevega tetrafluoroborata
- 76 | **Katja Krajšek**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Raziskovanje kemijskega prostora indazolnih dvojnih zaviralcev z mitogenom aktivirane protein kinaze p38 α in butirilholin esteraze
- 77 | **David Ribar**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Raziskava temeljnega retencijskega mehanizma reverzno-fazne tekočinske kromatografije
- 78 | **Luka Tacer**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Imobilizacija encimov na magnetne mikrodrelce za izvedbo kontinuirne transaminacije v mikoreaktorju z uporabo evtektičnih topil
- 79 | **Jan Šegina**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Sinteza prekurzorjev N-heterocikličnih karbenov na osnovi kafe
- 80 | **Tjaša Skarlovnik**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru
Meritve osmolarnosti izotoničnih napitkov za hidracijo telesa pri športni aktivnosti
- 81 | **Anja Kvartuh**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Sinteza in protimikrobno vrednotenje kemijske knjižnice, pripravljene z bakrom(II) katalizirano azid-alkin 1,3-dipolarno cikloadicijo
- 82 | **Jernej Cingl**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Diastereoselektivno Friedel-Craftsovo alkiliranje v asimetrični sintezi analogov palidola in karafenola C
- 83 | **Laura Medved**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Uporaba procesno analiznih tehnik pri spremljanju izdelave trdnih disperzij amlodipinijevega maleata
- 84 | **Tim Ravnjak**, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Določanje citotoksičnega in genotoksičnega delovanja kompleksnih mešanic bisfenola A in njegovih analogov v in vitro hepatičnem 3D celičnem modelu
- 85 | **Gašper Tomšič**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Eksperimentalno in računsko ovrednotenje vpliva povezovalnih heteroatomov v 4,6-substituiranih 1,3,5-triazin-2(1H)-onih na zaviranje človeške DNA topoizomeraze IIa
- 86 | **Tjaša Čukajne**, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Transformacija bakterij *Campylobacter jejuni* z genom za luciferozo in priprava sevov mutant z izbitimi geni vključenimi v tvorbo biofilma
- 87 | **Ema Kurent**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Razvoj kromatografskega pristopa za vrednotenje vsebnosti kolagena v prehranskih dopolnilih
- 88 | **Rok Oberč**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Sinteza in vrednotenje protirakavega delovanja 4,5,6,7-tetrahidrobenzotiazolnih zaviralcev C-končne domene proteina toplotnega šoka 90
- 89 | **Jaka Vrevc Žlajpah**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Analiza farmakogenetskih dejavnikov pri pediatričnih bolnikih z akutno limfoblastno levkemijo na terapiji s tiopurini

- 90 | Tjaš Žvar, Lan Vukolić, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mikro RNA v zunajceličnih veziklih kot biološki označevalec za neinvazivno odkrivanje zavrnitve presajene ledvice
- 91 | Nika Atelšek Hozjan, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Razvoj materialov z aktivnim kisikom za hitrejšje celjenje ran
- 92 | Vladimir Smrkolj, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Uporaba kvantno-kemijskih metod za napovedovanje farmakokinetičnih lastnosti metformina in modeliranje njegove difuzije skozi biološke membrane
- 93 | Klemen Kirbus, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Vgrajevanje ibuprofena v magnetne nanodelce in pretvorba njihove disperzije v suho obliko
- 94 | Urša Zevnik, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Optimizacija protokola za določanje biooznačevalcev cirkadianega ritma melatonina in kortizola
- 95 | Matic Mohorko, II. gimnazija Maribor
Interakcije metil galata s Fe(II) in Al(III) ioni
- 96 | Maša Bratkovič, Zoja Jesih, Gimnazija Vič
Razvoj inovativnih biosenzorjev za detekcijo virusne aktivnosti z uporabo orodij sintezne biologije
- 97 | Ana Iršič, Srednja šola Slovenska Bistrica
Nanomedicina: Dostavni sistemi za zdravila na osnovi telesu lastnih sestavin
- 98 | Zorica Jović, Zala Pia Biček, Nejc Skumavec, Jaka Brlogar, Biotehniški center Naklo
Antibiotično delovanje rastlinskih ekstraktov na zobne bakterije v ustni votlini psov
- 99 | Maks Lah, Maj Horvat, Gimnazija Jožeta Plečnika Ljubljana
Lasersko strukturiranje površine aluminijeve zlitine za pripravo superhidrofobnih površin
- 100 | Lúcia Halász, David Svetec, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Vrednotenje alternativ laktozi kot pomožni snovi v zdravilih za zmanjšanje vpliva na bolnike z laktozno intoleranco
- 101 | Anđela Malinić, Primož Dornik, Sofija Povše, Gimnazija Jožeta Plečnika Ljubljana
Mikro in nanoplastika v naših ustih?
- 102 | Martina Kogovšek, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola
Produkcija zelene mikroalge *Chlorella vulgaris* na polifluoroetilenpropilenskem (FEP) nosilcu kot potencialnem onesnaževalcu vodnih ekosistemov
- 103 | Eva Urankar, Pia Olga Šepec, Gimnazija Novo mesto
Črni česen
- 104 | Karin Forte, Anaisa Sterle Laignel, Gimnazija Ledina
Oblikovanje kovinsko-organskih poroznih materialov s pomočjo biokompatibilnih veziv za zajem CO₂
- 105 | Zoja Rugelj, Gimnazija Bežigrad
Kloniranje proteina TDP-43 s heksahistidinsko oznako na N-koncu
- 106 | Zala Smeh, Eva Lubej, II. gimnazija Maribor
Vpliv tekočin za elektronske cigarete na neparenhimske jetrne celice
- 107 | Zarja Huber, Nastja Karas, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Mikroplastika v kapsulah za pranje perila in vpliv temperature na njihovo raztapljanje
- 108 | Patricija Zupan, Gimnazija Kranj
Mikrokinetika delovanja lokalnih anestetikov z aplikacijo na kokainu
- 109 | Mija, Kapun, Gimnazija Jožeta Plečnika
Površinska zaščita magnezijeve zlitine za aplikacije v biomedicini
- 110 | Tevž Rus, Gimnazija Jožeta Plečnika
Optimiziranje lastnosti biološkega zdravila Ansuvimab z uporabo pristopov računske kemije
- 111 | Dara Bavdek, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola
Vpliv (mikro) plastike na kaljivost semen bele gorjušice (*Sinapis alba* L.)
- 112 | Jona Novak, Rozalija Lia Muršec, II. gimnazija Maribor
Vpliv frakcij ekstraktov konoplje (*Canabis sativa*) na celice melanoma
- 113 | Marsela Supé Vide, Gimnazija Novo mesto
Protimikrobno delovanje nekaterih manj preiskanih eteričnih olj na rast bakterije *Escherichia coli*
- 114 | Filip Zemljič, Anže Sitar, Brina Vita Mauhar, Gimnazija in srednja šola Rudolfa Maistra Kamnik
Vpliv endokrinih motilcev na rast in razvoj mokaerjev *Tenebrio molitor* (Insecta: Coleoptera)
- 115 | Adam Žížek, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Prehranjevalne navade bobra (*Castor fiber*) in nutrije (*Myocastor coypus*) na pridelovalnih površinah ob reki Ščavnici in Gajševskem jezeru
- 116 | Živa Kovačič, II. gimnazija Maribor
Hitrost razgradnje cinkovega piritona pod vplivom UVB in toksičnost fotolitskih produktov
- 117 | Tim Šinko, Špela Polutnik, II. gimnazija Maribor
Vpliv različnih koncentracij ionov Ca²⁺ v zunajcelični raztopini na delovanje celic beta v otočkih trebušne slinavke
- 118 | Brina Zver, Klara Grantaša, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Učinkovitost in škodljivost beljenja zob
- 119 | Lucija Rangus, Neža Rangus, Nina Pečnik, Gimnazija Novo mesto
Analiza polhove masti
- 120 | Petra Ouček, Lani Habjanič, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Sinteza nanodelcev silicijevega dioksida z vgrajenimi fluorescenčnimi barvili



Spoštovane nagrajenke in nagrajenci!

Znanost povezuje, smo zapisali kot glavno sporočilo Krkinih nagrad. V naši panogi, v farmaciji, je povezovanje ključno, saj vse rešitve raziskovalnih in razvojnih problemov temeljijo na multidisciplinarnem pristopu. Tako je že desetletja, v zadnjem času pa se je pomen povezovanja pokazal še v novi luči. Znanstvene panoge prodirajo v globine svoje specifične materije, poti do spoznanj velikokrat vodijo iz realnega sveta v virtualnega in nazaj. Povezovanje med nami je zato še pomembnejše. Dobro, kaj dobro, odlično se moramo razumeti, da globine naših raziskav povežemo v celovite rešitve. Samo take bodo prinesle pravi napredek na področju zdravja in polnega, kakovostnega življenja.

Prepričan sem, da so raziskave, ki ste jih opravili Krkini nagrajenci, vsaka posebej in vse skupaj, morda majhen, a pomemben korak na tej poti.

Dr. Aleš Rotar
predsednik Sveta Sklada Krkinih nagrad

Dear Prize winners,

The central message of Krka Prizes is that science connects us. In the pharmaceutical industry, fostering connections is essential as solving research and development challenges always requires a multidisciplinary approach. It has been true for decades and is now more evident than ever. Scientific disciplines delve deeply into their subjects, often exploring both the real and the virtual worlds on their path to scientific discoveries. Therefore, fostering connections has become even more essential. Effective collaboration is indispensable for integrating our research into comprehensive solutions, which can bring real progress in health and the quality of life.

I am convinced that the research carried out by Krka Prizes winners, each individually and all of them together, is a significant contribution along that path.

Dr Aleš Rotar
President of the Krka Prizes Council

KRKINI NAGRAJENCI 2024

KRKA PRIZE WINNERS 2024

VELIKE KRKINE NAGRADE
NAGRAJENCI

Nagrajenec	Naziv	Mentor, somentor	Številka
Živa Zajec	doktorica znanosti s področja farmacije	Tihomir Tomašič Martina Gobec	3111
Ana Oberlintner	doktorica znanosti s področja kemije	Uroš Novak Blaž Likozar	3112
Maša Sterle	doktorica znanosti s področja farmacije	Anamarija Zega Andrej Emanuel Cotman	3113
David Majer	doktor znanosti s področja kemije	Matjaž Finšgar	3114
Črt Dragar	doktor znanosti s področja farmacije	Petra Kocbek Slavko Kralj	3115

KRKINE NAGRADE
NAGRAJENCI

Nagrajenec	Naziv	Mentor, somentor	Številka
Aleša Bricelj	doktorica znanosti s področja farmacije	Izidor Sosič Marko Anderluh	3116
Andrej Grobin	doktor znanosti s področja farmacije	Jurij Trontelj Robert Roškar	3117
Maja Kokot	doktorica znanosti s področja farmacije	Nikola Minovski Martina Hrast Rambaher	3118
Mila Kovačević	doktorica znanosti s področja farmacije	Alenka Zvonar Pobirk Ilija German Ilić	3119
Luka Šturm	doktor znanosti s področja biokemije in molekularne biologije	Nataša Poklar Ulrih	3120

Nagrajenec	Naziv	Mentor, somentor	Številka
Lea Gazvoda	doktorica znanosti s področja kemije	Marija Vukomanović	3121
Blaž Kamenik	doktor znanosti s področja strojništva	Matej Zadavec Matjaž Hriberšek	3122
Damjan Avsec	doktor znanosti s področja farmacije	Irena Mlinarič-Raščan Helena Podgornik	3123
Katja Balantič	doktorica znanosti s področja medicinskih ved	Peter Kramar	3124
Ema Gričar	doktorica znanosti s področja kemije	Mitja Kolar Boštjan Genorio	3125
Maria Scuderi	doktorica znanosti s področja elektrotehnike	Lea Rems Janja Dermol-Černe	3126
Erik Rihtar	doktor znanosti s področja biokemije in molekularne biologije	Roman Jerala	3127
Urša Šuštar	doktorica znanosti s področja medicinskih ved	Urh Grošelj	3128
Kris Antolinc	magister kemije	Jurij Svete	3129
Katja Krajšek	magistrica farmacije	Aleš Obreza Svit Ferjančič Benetik	3130
David Ribar	magister kemije	Irena Kralj Cigić Miha Lukšič	3131
Luka Tacer	magister inženir kemijskega inženirstva	Polona Žnidaršič Plazl	3132
Jan Šegina	magister kemije	Uroš Grošelj	3133
Tjaša Skarlovnik	magistrica kemije	Urban Bren Gregor Hostnik Andraž Lamut	3134
Anja Kvartuh	magistrica farmacije	Stane Pajk Martina Hrast Rambaher	3135
Jernej Cingl	magister farmacije	Tihomir Tomašič Andrej Emanuel Cotman	3136
Laura Medved	magistrica farmacije	Franc Vrečer Klemen Korasa	3137
Tim Ravnjak	magister molekulske in funkcionalne biologije	Bojana Žegura Martina Štampar	3138



Nagrajenec	Naziv	Mentor, somentor	Številka
Gašper Tomšič	magister farmacije	Izidor Sosič Andrej Perdih	3139
Tjaša Čukajne	magistrica biotehnologije	Anja Klančnik Aleš Berlec	3140
Ema Kurent	magistrica farmacije	Robert Roškar Nika Kržišnik	3141
Rok Oberč	magister farmacije	Tihomir Tomašič Jaka Dernovšek	3142
Jaka Vrevc Žlajpah	magister laboratorijske biomedicine	Nataša Karas Kuželički Alenka Šmid	3143
Tjaš Žvar	študent	Miha Arnol	3144
Lan Vukolić	študent	Metka Lenassi	3145
Nika Atelšek Hozjan	magistrica kemije	Zoran Novak Gabrijela Horvat	3146
Vladimir Smrkolj	študent	Nejc Umek	3147
Klemen Kirbus	magister farmacije	Petra Kocbek Črt Dragar	3148
Urša Zevnik	univerzitetna diplomirana biokemičarka	Damjana Rozman	3149
Matic Mohorko	dijak	Anita Mustać Urban Bren Gregor Hostnik Franjo Frešer	3150
Maša Bratkovič	dijakinja	Alenka Mozer	3151
Zoja Jesih	dijakinja	Taja Železnik Ramuta	3152
Ana Iršič	dijakinja	Damijana Gregorič Nina Kostevšek	3153
Zorica Jović	dijakinja	Marjetka Kastelic Švab	3154
Zala Pia Biček	dijakinja		3155
Nejc Skumavec	dijak		3156
Jaka Brlogar	dijak		3157
Maks Lah	dijak	Grega Celcar	3158
Maj Horvat	dijak	Peter Rodič Matic Može	3159
Lúcia Halász	dijakinja	Mateja Godec	3160
David Svetec	dijak	Iztok Dovnik Blaž Grilc	3161

Nagrajenec	Status	Mentor, somentor	Številka
Anđela Malinić	dijakinja	Darja Silan	3162
Primož Dornik	dijak	Lara Vertačnik	3163
Sofija Povše	dijakinja	Andrej Kržan	3164
Martina Kogovšek	dijakinja	Marko Jeran Maja Ponikvar-Svet Lidija Zavasnik	3165
Eva Urankar	dijakinja	Branka Klemenčič	3166
Pia Olga Šepec	dijakinja	Aleš Gasparič	3167
Karin Forte	dijakinja	Darko Košič	3168
Anaisa Sterle Laignel	dijakinja	Aljaž Škrjanc	3169
Zoja Rugelj	dijakinja	Gregor Križ Klementina Polanec Boris Rogelj	3170
Zala Smeh	dijakinja	Katja Holnthaner Zorec	3171
Eva Lubej	dijakinja	Eneko Jose Madorran Esteiro	3172
Zarja Huber	dijakinja	Nina Žuman	3173
Nastja Karas	dijakinja		3174
Patricija Zupan	dijakinja	Petra Košir Janez Mavri	3175
Mija Kapun	dijakinja	Grega Celcar Peter Rodič	3176
Tevž Rus	dijak	Lara Vertačnik Sebastjan Kralj Marko Jukič	3177
Dara Bavdek	dijakinja	Špela Železnikar Metod Kovačič Nina Kacjan-Maršič	3178
Jona Novak	dijakinja	Katja Holnthaner Zorec	3179
Rozalija Lia Muršec	dijakinja	Jan Rožanc	3180
Marsela Supé Vide	dijakinja	Jure Kuhar Borut Štrukelj	3181
Filip Zemljič	dijak	Cirila Jeras	3182
Anže Sitar	dijak	Andraž Dolar	3183
Brina Vita Mauhar	dijakinja		3184
Adam Žižek	dijak	Marija Meznarič Martina Vida	3185

Nagrajenec	Status	Mentor, somentor	Številka
Živa Kovačič	dijakinja	Sanja Cvar	3186
Tim Šinko	dijak	Katja Holnthaner Zorec	3187
Špela Polutnik	dijakinja	Polona Kovačič Jan Kopecky	3188
Brina Zver	dijakinja	Mateja Godec	3189
Klara Grantaša	dijakinja		3190
Lucija Rangus	dijakinja	Janja Pust	3191
Neža Rangus	dijakinja	Ema Gričar	3192
Nina Pečnik	dijakinja		3193
Petra Ouček	dijakinja	Mateja Godec	3194
Lani Habjanič	dijakinja	Sebastjan Nemec	3195

KRKINA PRIZNANJA S POSEBNO POHVALO PREJEMNIKI

Prejemnik	Naziv	Mentor, somentor
Elena Maria Loi	doktorica znanosti s področja farmacije	Marko Anderluh Roland J. Pieters
Luka Predojevič	doktor znanosti s področja znanosti o celici	Marjanca Starčič Erjavec Mateja Erdani Kreft
Cene Skubic	doktor znanosti s področja biokemije in molekularne biologije	Damjana Rozman
David Vogrinc	doktor znanosti s področja biokemije in molekularne biologije	Katja Goričar
Dominika Peskar	doktorica znanosti s področja medicinskih ved	Andreja Erman
Lana Mušič	magistrica mikrobiologije	Ines Mandić Mulec Katarina Šimunović
Marcel Žafran	magister kemije	Matjaž Finšgar Gregor Žerjav
Nika Breznik	magistrica laboratorijske biomedicine	Katarina Trebušak Podkrajšek Magdalena Avbelj Stefanija
Špela Tavčar	magistrica laboratorijske biomedicine	Mojca Kerec Kos Andreja Erman

Prejemnik	Naziv	Mentor, somentor
Barbara Jaklič	magistrica biokemije	Anna Coll
Nina Gradišek	magistrica farmacije	Tihomir Tomašič Jaka Dernovšek
Tinkara Kreft	magistrica biotehnologije	Tea Lanišnik Rižner
Anita Jurič	magistrica farmacije	Martina Hrast Rambaher
Anamarija Agnič	magistrica biokemije	Gregor Anderluh Gregor Gunčar
Lara Keber	magistrica industrijske farmacije	Nace Zidar Peter Peršolja
Manca Lunder	magistrica sanitarnega inženirstva	Rok Fink Sebastian Dahle
Lara Mikuž	magistrica farmacije	Mirjam Gosenca Matjaž Mercedes Vitek
Tjaša Šentjunc	magistrica molekulske in funkcionalne biologije	Bojana Žegura Alja Štern
Mojca Cviki	magistrica farmacije	Petra Kocbek Tanja Potrč
Katja Malenšek	magistrica biokemije	Iztok Turel
Petra Bergles	magistrica farmacije	Aleš Obreza Svit Ferjančič Benetik
Manca Osolin	magistrica biokemije	Barbara Breznik
Tilen Čuš	magister farmacije	Nina Kočever Glavač Katja Schoss
Tina Kolenc Milavec	magistrica biokemije	Barbara Breznik
Romi Lea Kovačič	magistrica farmacije	Izidor Sosič Nika Strašek Benedik
Aleksander Saša Markovič	magister kemije	Jernej Iskra Peter Krajnc
Julia Fijavž	magistrica fizioterapije	Renata Vauhnik Maja Frangež
Ana Marolt	magistrica industrijske farmacije	Nina Kočever Glavač Katja Schoss

Prejemnik	Naziv	Mentor, somentor
Natalija Trunkelj	magistrica farmacije	Tihomir Tomašič Dunja Urbančič
Žiga Rebernik	magister farmacije	Špela Zupančič
Blaž Kociper	študent	Sergej Pirkmajer Katarina Miš
Miha Berk Bevc	univerzitetni diplomirani kemik	Zoran Novak Milica Pantić
Sanja Toplak	diplomirana inženirka kemijskega inženirstva	Maša Knez Marevci Taja Žitek Makoter
Neža Peternel Ela Kovač	univerzitetna diplomirana biokemičarka univerzitetna diplomirana biokemičarka	Ksenija Kogej Veronika Kralj-Iglič
Nataša Bartol	univerzitetna diplomirana kemičarka	Marta Počkaj

KRKINA PRIZNANJA PREJEMNIKI

Prejemnik	Naziv	Mentor, somentor
Urša Kešar	doktorica znanosti s področja medicinskih ved	Primož Strojan
Ula Savšek	doktorica znanosti s področja farmacije	Dagmar Fischer
Simona Miceska	doktorica znanosti s področja medicinskih ved	Veronika Kloboves Prevodnik Erik Škof
Nika Rihar	doktorica znanosti s področja biokemije in molekularne biologije	Peter Dovč Nadja Kokalj Vokač
Vesna Sočan	doktorica znanosti s področja farmacije	Mojca Kržan Maruša Debeljak
Nika Gornik	magistrica farmacije	Odon Planinšek Ana Baumgartner
Nina Grajzar	magistrica farmacije	Petra Kocbek Črt Dragar
Ana Perpar	magistrica inženirka kemijskega inženirstva	Sebastijan Kovačič Gregor Žerjav
Vid Bačar	magister inženir kemijskega inženirstva	Blaž Likozar Matej Žula

Prejemnik	Naziv	Mentor, somentor
Maja Filipič	študentka	Barbka Repič Lampret Urh Grošelj
Lara Meglen	magistrica farmacije	Urban Švajger
Miha Fermišek	magister inženir kemijskega inženirstva	Urban Bren Sara Štumpf
Manca Jenko	magistrica farmacije	Anja Pišlar Slena Horvat
Tina Karun	magistrica laboratorijske biomedicine	Katarina Trebušak Podkrajšek Miran Šebeštjen
Sebastijan Rajšter	magister inženir kemijskega inženirstva	Igor Plazl
Tjaša Stopar	univerzitetna diplomirana kemičarka	Nataša Gros
Sara Karlovšek	magistrica inženirka kemijskega inženirstva	Maša Knez Marevci Taja Žitek Makoter
Lana Kolenc	magistrica farmacije	Petra Kocbek Črt Dragar
Manca Knez Domen Korošec	doktorica medicine doktor medicine	Barbara Gnidovec Stražišar
Ana Trobec	magistrica molekulske in funkcionalne biologije	Tadeja Režen
Žan Garvas	doktor dentalne medicine	Petra Hudler Pia Pužar Dominkuš Tadej Peter Dovšak
Natalija Pavlinjek	magistrica molekulske in funkcionalne biologije	Anja Klančnik Jerica Sabotič
Tine Bračko	magister farmacije	Tihomir Tomašič
Nejc Brunček	magister inženir kemijskega inženirstva	Maša Knez Marevci Milica Pantić Andrej Golle
Nika Požun	magistrica molekulske in funkcionalne biologije	Mateja Erdani Kreft
Samuel Žvanut	magister molekulske in funkcionalne biologije	Metka Lenassi
Anđela Dragović	magistrica farmacije	Irena Mlinarič-Raščan Damjan Avsec
Eva Smrekar	magistrica biotehnologije	Iva Hafner Bratkovič

Prejemnik	Naziv	Mentor, somentor
Dragan Gostimirović	magister inženir računalništva in informatike	Matjaž Gams
Špela Strnad	magistrica sanitarnega inženirstva	Mojca Jevšnik Podlesnik Urška Jamnikar Ciglencečki
Borut Mohorko Lana Podlesnik Manca Ravnak Mirjam Grebenc	študent študentka študentka študentka	Jan Rožanc Uroš Maver
Vanja Koroša	magistrica inženirka prehrane	Anja Klančnik Manca Kovač Viršek
Mineja Leban	študentka	Barbara Faganel Kotnik Marko Kavčič
Aljaž Frelih	magister farmacije	Lovro Žiberna Uroš Kovačič
Zala Golčer	magistrica farmacije	Mojca Kerec Kos Danila Hriberšek
Blaž Videčnik	magister farmacije	Tomaž Bratkovič Taja Železnik Ramuta
Andreja Fišer	magistrica inženirka kemijskega inženirstva	Petra Kotnik Maša Knez Marevci
Sara Zavec	magistrica laboratorijske biomedicine	Borut Božič
Tjaša Rifelj	magistrica biologije in ekologije z naravovarstvom	Saška Lipovšek Barbara Dariš Biljana Dušič
Vanja Angjelovikj	univerzitetna diplomirana inženirka materialov	Tomaž Rodič Andraž Kocjan
Tinkara Butara	univerzitetna diplomirana biokemičarka	Marko Novinec
Klara Razboršek	univerzitetna diplomirana biokemičarka	Boris Rogelj Jerneja Nimac
Jan Kogovšek	univerzitetni diplomirani biokemik	Drago Kočar
Maj Priveršek	univerzitetni diplomirani biokemik	Janez Košmrlj
Armina Rahmanović	univerzitetna diplomirana inženirka kemijske tehnologije	Maša Knez Marevci Taja Žitek Makoter
Tom Horvat	dijak	Marko Jeran

Prejemnik	Naziv	Mentor, somentor
Žan Plut Ažbe Drmota Luka Šantavec	dijak dijak dijak	Luka Irenej Pečan Lidija Zavasnik Marija Meznarič Primož Titan
Blaž Rakuša Neža Tikvič	dijak dijakinja	Nataša Horvatić Dolamič Marija Meznarič
Benjamin Gašperin	dijak	Rok Rudež
Neli Gošnjak Ana Čelan	dijakinja dijakinja	Katja Holnthaner Zorec Valerija Tkalec
Gaj Kosi Samo Boben	dijak dijak	Tomaž Žigon Miha Slapničar
Zara Bertalanič	dijakinja	Jasna Vogrinec
Primož Dornik Anna Klochenko	dijak dijakinja	Darja Silan Uroš Novak
Lana Lopert Sara Petrovčič	dijakinja dijakinja	Marko Jeran Tine Tesovnik Lidija Zavasnik
Erazem Svete Maks Svete Andraž Kočever Koprivec	dijak dijak dijak	Rok Demič Radmila Milačič
Eva Mivšek Naja Kandžič	dijakinja dijakinja	Omar Naneh Tjaša Klemen Miha Kosec
Jan Pavić	dijak	Marko Šafran
Ana Šarc Nik Bregar Aleksej Lazar	dijakinja dijak dijak	Uroš Ocepek Stana Kovač Hace Nika Cebin
Jana Celcar Anastasija Kecman	dijakinja dijakinja	Uroš Mikolič Urška Erker
Vesna Potočnik Neža Botica	dijakinja dijakinja	Katarina Rogelj Anan Karin Kozjek
Nino Klemenčič	dijak	Mateja Godec Matjaž Rantaša
Gregor Parazajda Bine Hrastovec Neža Šuštaršič	dijak dijak dijakinja	Renata Capuder Mermal Alojzij Vrankar Tjaša Pavčnik Robert Dominko

Prejemnik	Naziv	Mentor, somentor
Sara Meze Maks Ruparčič Jakob Rozman	dijakinja dijak dijak	Marjetka Kastelic Švab
Maja Mamič	dijakinja	Maria Chiara Magnano Silvana Štucin
Peter Sojer	dijak	Sonja Artač Nina Gunde-Cimerman Monika Novak Babič
Klemen Rožič Šoštar Luka Špiler Aljaž Jordan	dijak dijak dijak	Mojca Višček Ema Novinec
Matija Čelig Jaka Kop	dijak dijak	Katja Holnthaner Zorec
Aleksander Kalacun	dijak	Natalija Jančič
Lara Lipovšek	dijakinja	Mojca Plevnik Žnidarec
Kaja Berk Skok	dijakinja	Marjeta Vidmar
Tinkara Kranjc Lucija Pirc Neža Abram	dijakinja dijakinja dijakinja	Simona Kranjc Brezar Jana Goršin Fabjan
Baja Požar Lili Barborič	dijakinja dijakinja	Taja Jeseničnik Rok Demič
Luka Ekar	dijak	Martin Tine Perger
Lara Širovnik Petra Ouček	dijakinja dijakinja	Mateja Godec



Krkinge nagrade raziskovalce že več kot pol stoletja spodbujajo k iskanju novih idej, spoznanj in rešitev, ki prispevajo k stalnemu napredku farmacevtske znanosti in posledično k boljši kakovosti življenja širše družbe. V znak hvaležnosti za znanje, ki je pomemben del Krkinge uspešne zgodbe, je bilo doslej izjemnim raziskovalcem podeljenih že več kot 3100 Krkingih nagrad.

Na razpis za 54. Krkinge nagrade je prispelo več kot 170 srednješolskih in študentskih nalog in njihova vsebina potrjuje, da kakovost prijavljenih del iz leta v leto raste. Raziskave pokrivajo zelo široko znanstveno področje in se med drugim osredotočajo na največje izzive farmacevtske znanosti, kot so razvoj novih zdravil za težko ozdravljive bolezni, odpornost mikrobov proti zdravilom, iskanje novih načinov zdravljenja kroničnih bolezni ter načrtovanje sodobnih dostavnih sistemov. Mladi raziskovalci v svojih delih kažejo visoko okoljsko zavest in poudarjajo pomen trajnostnih rešitev. Odličnost prijavljenih nalog potrjuje dejstvo, da so številni izsledki objavljeni v najbolj priznanih znanstvenih publikacijah.

Ocenjevalci smo ob pregledovanju najboljših nalog uživali in bili hkrati ponosni na raven, ki jo dosega. Visoka kakovost raziskav pa je bila kriva, da je bila končna odločitev o nagrajencih izredno zahtevna, saj so bile razlike med nagrajenimi in nenagrajenimi nalogami pogosto majhne. Pomembno je poudariti, da tudi številne nenagrajene naloge kažejo visoko raven znanja in raziskovalne predanosti.

Rad bi se zahvalil vsem sodelujočim raziskovalcem in njihovim mentorjem ter čestital vsem prejemnikom Krkingih nagrad in priznanj. V imenu Znanstvenega odbora Sveta Sklada Krkingih nagrad vam želim, da bi se tudi v prihodnje uspešno soočili z raziskovalnimi izzivi. Prepričan sem, da vas bo narava še velikokrat prijetno presenetila.

Dr. Klemen Korasa

Znanstveni odbor Sveta Sklada Krkingih nagrad

For over fifty years, Krka Prizes have inspired researchers to explore new ideas, gain fresh insights, and develop solutions that continuously advance pharmaceutical science, thereby enhancing the quality of life in our society. Krka has awarded more than 3,100 Krka Prizes to show recognition to outstanding researchers for knowledge, which has been an important part of Krka's success story.

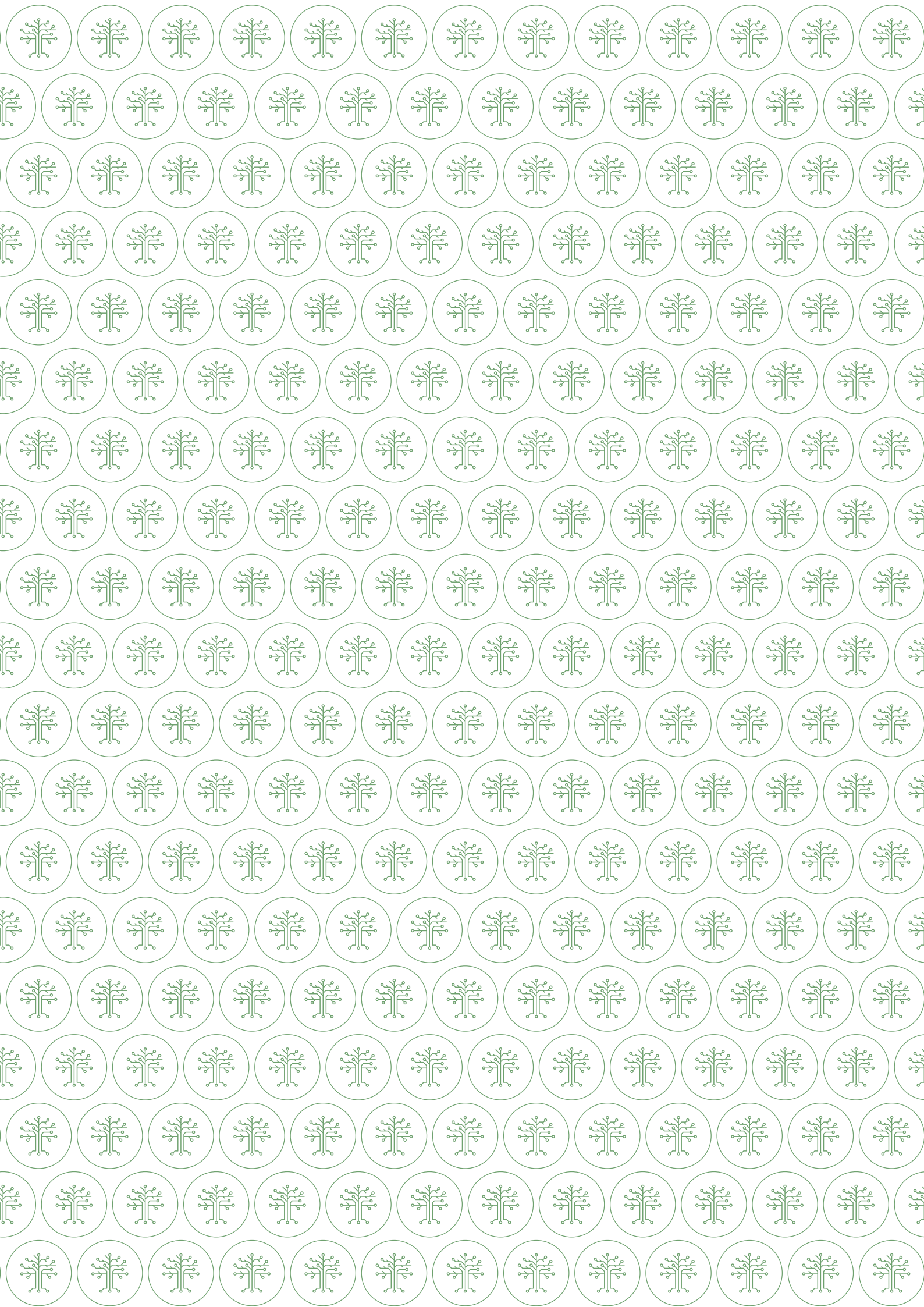
For the 54th Krka Prizes, secondary school pupils and students submitted more than 170 research papers. Their content confirms that the quality of submitted works is improving year by year. The research papers discuss very broad scientific subjects and, among other things, focus on the biggest challenges in pharmaceutical science, such as the development of new medicines for difficult-to-treat diseases, antimicrobial resistance, finding new ways to treat chronic diseases and design of modern delivery systems. Through their work, young researchers demonstrate a high level of environmental awareness, emphasising the importance of sustainable solutions. The excellence of their papers is evidenced by the publication of many findings in the most recognised scientific journals.

Reviewing the best papers was a gratifying assignment for us. We were impressed by the high quality of the research papers, which made the selection of Prize winners an extremely difficult task, especially as the differences between the winning and non-winning papers were often small. It is important to emphasise that many non-winning papers demonstrate a high level of knowledge and dedication as well.

I would like to congratulate all recipients of this year's Krka prizes and recognitions. I would also like to express my sincere thanks to all researchers who submitted their research papers and to their supervisors. On behalf of the Scientific Committee of the Krka Prizes Council, I wish you great success in overcoming future research challenges. I am convinced that nature will continue to amaze you.

Dr Klemen Korasa

Scientific Committee of the Krka Prizes Council



54. KRKINE NAGRADE
54th KRKA PRIZES

VELIKE KRKINE NAGRADE

KRKA GRAND PRIZES

PREDSTAVITEV NAGRAJENCEV
PRIZE WINNERS

DR. ŽIVA ZAJEC

Je raziskovalka, ki že vse od osnovne šole čuti strast do kemije in biologije. Čeprav je kot otrok sanjala o karieri baletke, je v življenju ubrala drugačno pot. Na Gimnaziji Poljane se je njeno zanimanje za kemijo, še posebno za organsko kemijo, dodatno okrepilo. Kot zlata maturantka se je nato vpisala na študij farmacije. Med magistrskim študijem je odkrila strast do znanstvenega raziskovanja. Po koncu študija se ji je ponudila priložnost, da se kot raziskovalka zaposli na Katedri za farmacevtsko kemijo, istega leta pa se je tudi vpisala na doktorski študij biomedicine. Danes je raziskovalka na Fakulteti za farmacijo, kjer se ukvarja s prelomnimi vprašanji farmacevtske kemije in biološkega vrednotenja.



Najboljše rešitve so dosežene s timskim delom in odprto komunikacijo

IZHODIŠČE ZA POTENCIALNO ODKRITJE NOVIH ZDRAVIL

Moje raziskovalno področje združuje farmacevtsko kemijo in biološko vrednotenje, pri čemer se osredotočam na analizo celic in proteinov. Že med študijem me je farmacevtska kemija navduševala zaradi interdisciplinarnega prepleta organske kemije in farmakologije. Ta strast me je vodila, da sem doktorsko nalogo opravila na tem področju, kjer sem se posvetila iskanju novih spojin za zdravljenje rakavih bolezni. Osredotočili smo se na protein toplotnega šoka 90 (Hsp90), ki je obetavna tarča za razvoj novih protitumornih zdravil.

Prednost zaviranja Hsp90 je, da z njim sočasno vplivamo na več onkoproteinov in tako posnemamo učinek kombiniranega zdravljenja. V naši raziskavi smo odkrili nove strukturne razrede zaviralcev Hsp90, kar je pomemben dosežek, saj na tem področju ni veliko strukturno raznovrstnih učinkovin. Nekateri naši zaviralci so pokazali učinkovito delovanje tudi na rakave celice, ki so sicer odporne proti zdravljenju. Ti rezultati so izhodišče za nadaljnji razvoj zaviralcev Hsp90 in potencialno odkritje novih zdravil za zdravljenje rakavih bolezni.

ODKRIVANJE NOVEGA IN NEPOZNANEGA

Ena največjih prednosti raziskovalnega dela se mi zdi odkrivanje novega in nepoznanega. Raziskovanje spodbuja radovednost in inovativnost, kar mi daje zagon na vsakem koraku. Navdihujoče je tudi sodelovanje s kolegi, saj se najboljše ideje pogosto rodijo med sproščenimi pogovori ob kavi, ko razpravljamo o raziskovalnih izzivih. Da na izzive pogledam tudi z drugega zornega kota in tako pridem do novih rešitev, pa mi omogočajo laični pogovori z družino ali prijatelji, ki vidijo stvari drugače.

RAZISKOVALNA SVOBODA JE REZULTAT STROKOVNEGA MENTORSTVA

Na začetku raziskovalne poti je vloga mentorja neprecenljiva. Z znanjem, izkušnjami in podporo usmerja mladega raziskovalca ter mu pomaga razvijati kritično mišljenje in samozavest, kar je zelo pomembno za nadaljnje samostojno raziskovanje. Moja mentorja prof. dr. Tihomir Tomašič in izr. prof. dr. Martina Gobec sta mi zagotavljala neizmerno podporo. Njuno strokovno vodenje mi je omogočilo raziskovalno svobodo, ki je ključna za moj razvoj in poglobitev ljubezni do raziskovanja.

DOLGOROČNA UČINKOVITOST

Čeprav znanstveno delo zahteva predanost in trdo delo, verjamem, da je ohranjanje ravnovesja med delom in zasebnim življenjem ključno za dolgoročno učinkovitost. V prostem času se ukvarjam s športom – pohodništvom, kolesarjenjem, plavanjem in potapljanjem – ter si ob vikendih vzamem čas za hobije, ki jih delim s partnerjem. Prepričana sem, da takšno ravnovesje omogoča večjo produktivnost in kreativnost tudi pri znanstvenem delu.

NENEHNA RAST IN UČENJE

Svoje raziskovalno delo še naprej opravljam na Fakulteti za farmacijo, kjer se osredotočam na raziskovanje mehanizmov kardiotoksičnosti, povzročene z zaviralci proteasoma, ki se uporabljajo za zdravljenje diseminiranega plazmocitoma. To področje, ki je nekoliko bolj klinično usmerjeno, je nov izziv, ki ga z veseljem sprejemam. Pri delu nenehno stremim k odličnosti ter iščem priložnosti za rast in učenje. Moje odločitve so vedno premišljene. Zaupam v svoje sposobnosti, vendar se zavedam pomena sodelovanja in trdno verjamem, da so najboljše rešitve dosežene s timskim delom in odprto komunikacijo.

KRKINE NAGRADE KOT MOST

Krkine nagrade vidim kot izjemno pobudo, ki že več desetletij krepí povezave med akademsko sfero in industrijo. Sodelovanje med znanostjo in gospodarstvom je ključno za napredek in prenašanje znanja v prakso. Krkine nagrade so tudi lep primer, kako industrija podpira znanstvene raziskave in prepoznava dosežke mladih raziskovalcev že na začetku njihove kariere. Vesela in počaščena sem, da sem bila izbrana za prejemnico velike Krkine nagrade, še posebno zaradi izjemne kakovosti raziskovalnih del.

NEUSPEL EKSPERIMENT JE PRILOŽNOST

Bodite vztrajni in radovedni. Neuspel eksperiment ni neuspeh, temveč priložnost, da nanj pogledate z drugega vidika.

NAJBOLJŠI NASVET

Pomembno je najti tisto, kar te osrečuje, in temu slediti ne glede na vse.

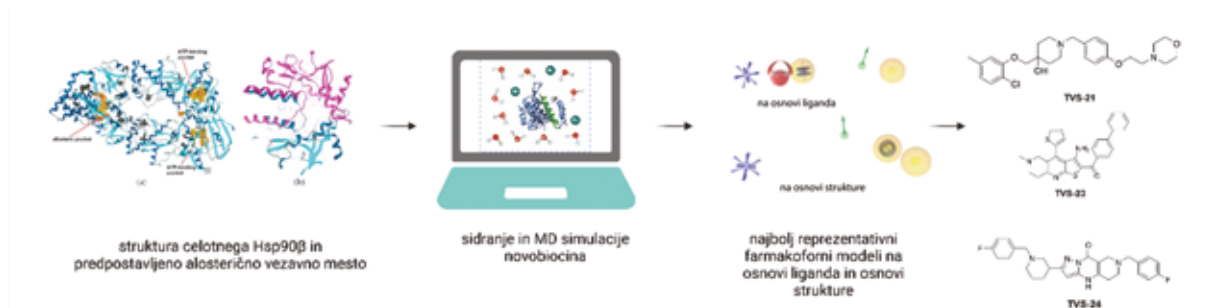
ŽIVLJENJSKO VODILO

Največje zmage izhajajo iz najtežjih izzivov.

Načrtovanje, sinteza in biološko vrednotenje novih alosteričnih zaviralcev Hsp90 s protitumornim delovanjem

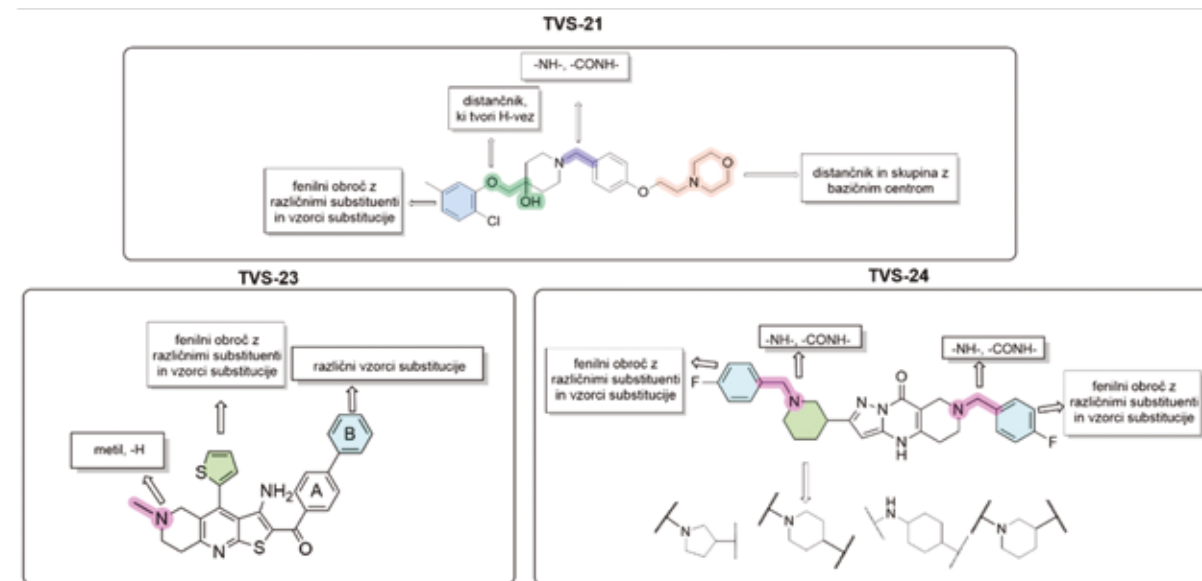
Šaperoni so proteini, ki vzdržujejo homeostazo proteinov (proteostazo), tako da nadzorujejo zvijanje proteinov v njihovo aktivno konformacijo, deagregacijo polipeptidov in razgradnjo proteinov. Protein toplotnega šoka 90 (Hsp90) je šaperon, odgovoren za proteostazo več kot 400 proteinov substratov, ki so vključeni v regulacijo celičnega cikla, prenos signalov, apoptozo in tarčno razgradnjo proteinov. Hsp90 je obetavna tarča za odkrivanje novih učinkovin za zdravljenje raka, saj so njegovi proteini substrati vključeni v številne mehanizme nastanka in razvoja te bolezni, kot so angiogeneza, izogibanje apoptozi, metastaziranje in samozadostnost pri proliferaciji. Večina do zdaj odkritih zaviralcev Hsp90 se veže na ATP-vezavno mesto na N-končni domeni. ATP-kompetitivni zaviralci Hsp90 v kliničnih študijah niso bili uspešni zaradi številnih neželenih učinkov. Njihova največja pomanjkljivost je indukcija odziva toplotnega šoka, katere posledica so preživetveni in antiapoptotični učinki. Zaradi teh pomanjkljivosti raziskujemo nove strategije zaviranja Hsp90, kot je vezava zaviralcev na alosterično vezavno mesto na C-končni domeni (CKD), ki ne sproža odziva toplotnega šoka. V odsotnosti kokristalne CKD-strukture in nekovalentnega zaviralca so možnosti strukturno podprtega načrtovanja omejene, kar se kaže v majhni strukturni raznolikosti do zdaj znanih zaviralcev CKD Hsp90.

V okviru doktorske disertacije smo se posvetili odkrivanju in optimizaciji alosteričnih zaviralcev Hsp90 z novimi strukturnimi skeleti. Razvili smo tri strukturno različne serije novih zaviralcev CKD Hsp90. Pri načrtovanju in odkrivanju novih spojin smo si pomagali z metodami *in silico*. Razvili smo nov pristop za odkrivanje alosteričnih zaviralcev Hsp90, ki vključuje sidranje v predpostavljeno vezavno mesto na CKD, simulacije molekulske dinamike (MD), iskanje najbolj reprezentativnega farmakofornega modela v MD-trajektoriji in virtualno reševanje (slika 1). S tem pristopom smo dobili tri strukturno različne izhodišče spojine, TVS-21, TVS-23 in TVS-24, ki smo jih optimizirali do analogov s protitumornim delovanjem v nizkem mikromolarnem območju.



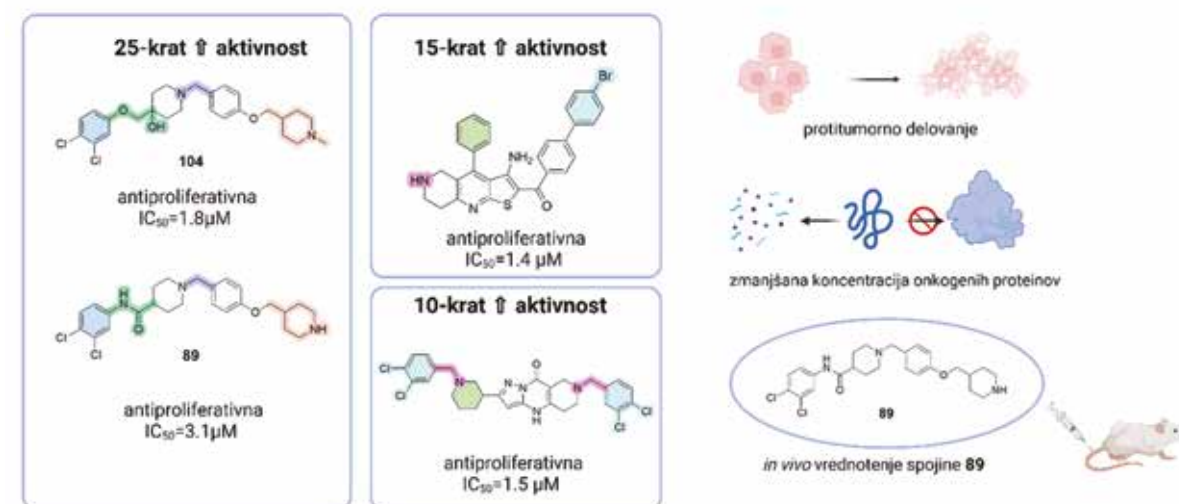
Slika 1. Potek odkrivanja novih strukturnih razredov alosteričnih zaviralcev Hsp90.

Spojinam TVS-21, TVS-23 in TVS-24 smo sistematično spreminjali dele molekul ter tako določili odnos med strukturo in delovanjem (SAR) za posamezen strukturni razred. Načrt optimizacije posameznih strukturnih razredov je prikazan na sliki 2. Farmakoforna elementa, ki se pojavljata v vseh treh strukturnih razredih in sta nujna za alosterično delovanje, sta bazični center, ki tvori ionske interakcije z Glu489A in skupine, ki tvorijo hidrofobne interakcije.



Slika 2. Načrt optimizacije posameznih strukturnih razredov alosteričnih zaviralcev Hsp90.

Sintetizirane spojine so kazale antiproliferativno aktivnost na celičnih linijah različnih tipov raka dojke in celični liniji Ewingovega sarkoma. Novosintetizirani alosterični zaviralci so sprožali razgradnjo onkogenih proteinov substratov, vključenih v različne mehanizme razvoja in napredovanja raka, in niso inducirali odziva toplotnega šoka. Kot najobetavnejše so se pokazale spojine iz serije analogov TVS-21. Dokazali smo citotoksično in citostatično delovanje na celični liniji trojno negativnega raka dojke in razgradnjo onkogenih proteinov na različnih tipih raka dojke. Učinkovitost najobetavnejše spojine te serije 89 smo ovrednotili *in vivo* v mišjem modelu BALB/c in ugotovili, da zavira rast tumorja trojno negativnega raka dojke primerljivo z N-končnim zaviralcem AU922, ki je bil predhodno vrednoten v fazi II kliničnih študij. Prav tako je spojina 89 v uporabljenem mišjem modelu kazala ustrezno varnost.



Slika 3. Struktura najaktivnejših analogov iz posameznih strukturnih razredov in shematski prikaz njihovega delovanja.

Novi strukturni razredi alosteričnih zaviralcev Hsp90, razviti v okviru te raziskave, pomenijo pomemben doprinos k strukturni raznolikosti zaviralcev CKD Hsp90. Poleg tega so spojine dobro izhodišče za nadaljnji razvoj novih učinkovin za zdravljenje raka z novimi inovativnimi mehanizmi delovanja.

Design, Synthesis and Biological Evaluation of New Allosteric Hsp90 Inhibitors with Anticancer Activity

Chaperones are proteins that are involved in proteostasis by stabilising proteins in an incompletely folded or unstable state, helping to guide them through the folding process. They are also involved in controlling protein quality in the cell. Heat shock protein 90 (Hsp90) is a chaperone with over 400 client proteins, many of which play a role in cell cycle regulation and signalling processes. Hsp90 client proteins play a critical role in all aspects of cancer development, highlighting Hsp90 as a potential target for novel anticancer drugs. However, current inhibitors mainly target the N-terminal domain (NTD) of Hsp90 and are associated with significant therapeutic limitations, particularly the induction of the heat shock response. Therefore, alternative strategies to inhibit Hsp90 are needed, for example targeting the C-terminal domain (CTD). Unfortunately, there is no crystal structure of the Hsp90 CTD in complex with an inhibitor, so the development of structure-based design approaches for Hsp90 CTD inhibitors remains a challenge, resulting in limited structural diversity in this class.

In this dissertation, we focused on the discovery and optimisation of novel allosteric Hsp90 inhibitors with unique scaffolds. We have successfully developed three distinct structural classes of Hsp90 CTD inhibitors. To identify potential allosteric Hsp90 CTD inhibitors, we applied *in silico* methods combining docking to the proposed binding site, molecular dynamics simulations, pharmacophore modelling and virtual screening (Figure 1). Through this approach, we obtained three virtual screening hits, **TV-21**, **TVS-23**, **TVS-24**, which were further optimised to analogues exhibiting anti-cancer activity in the low micromolar range.

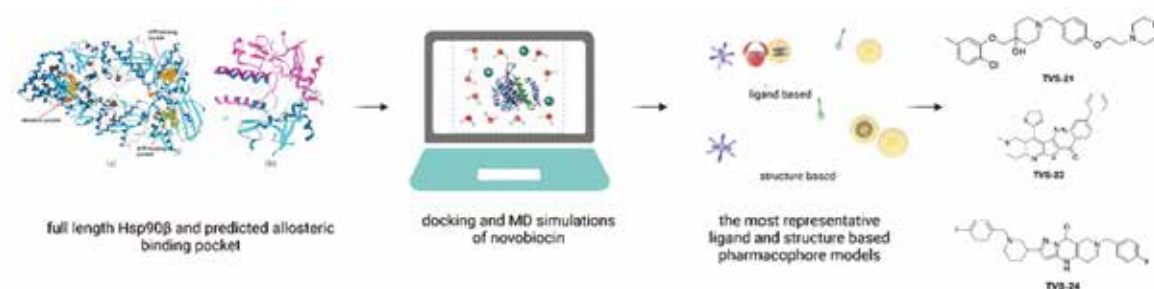


Figure 1. Schematic representation of *in silico* discovery process.

We synthesised analogues of these three virtual screening hits to obtain more potent inhibitors and determine the structure-activity relationship (SAR). The optimisation design is shown in Figure 2. Pharmacophore features that were found to be critical for activity in all three different structural classes were a positively ionisable feature that forms ionic interactions with Glu489A and a hydrophobic feature.

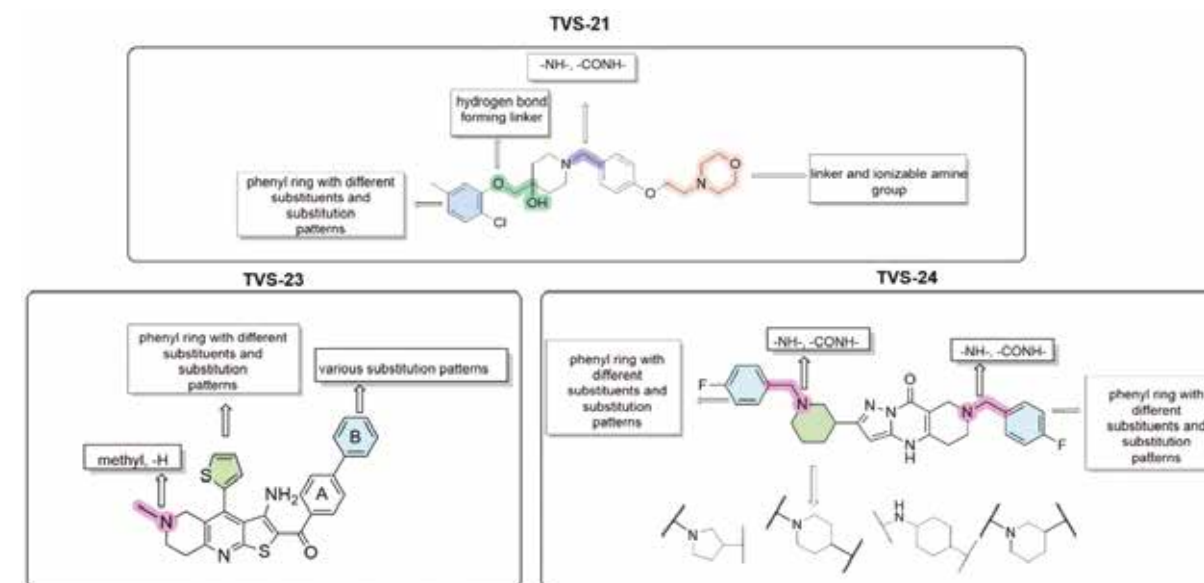


Figure 2. Optimisation strategy and SAR investigation of TVS-21, TVS-23 and TVS-24 analogues as Hsp90 CTD inhibitors.

The synthesised analogues showed significant anticancer effects in several breast cancer cell lines and the Ewing sarcoma cell line. Importantly, these novel allosteric Hsp90 inhibitors induced the degradation of oncogenic Hsp90 client proteins associated with multiple cancer pathways without inducing a heat shock response. The compounds from the TVS-21 series proved to be the most promising. In particular, the compounds of this inhibitor series showed both cytotoxic and cytostatic effects in the triple negative breast cancer cell line as well as the degradation of oncogenic proteins in several breast cancer cell lines. Of the compounds tested, the most promising candidate **89** was evaluated for *in vivo* efficacy in the BALB/c nude mouse model. This compound showed similar antitumour activity to the Hsp90 NTD inhibitor already tested in clinical trials and was well tolerated.

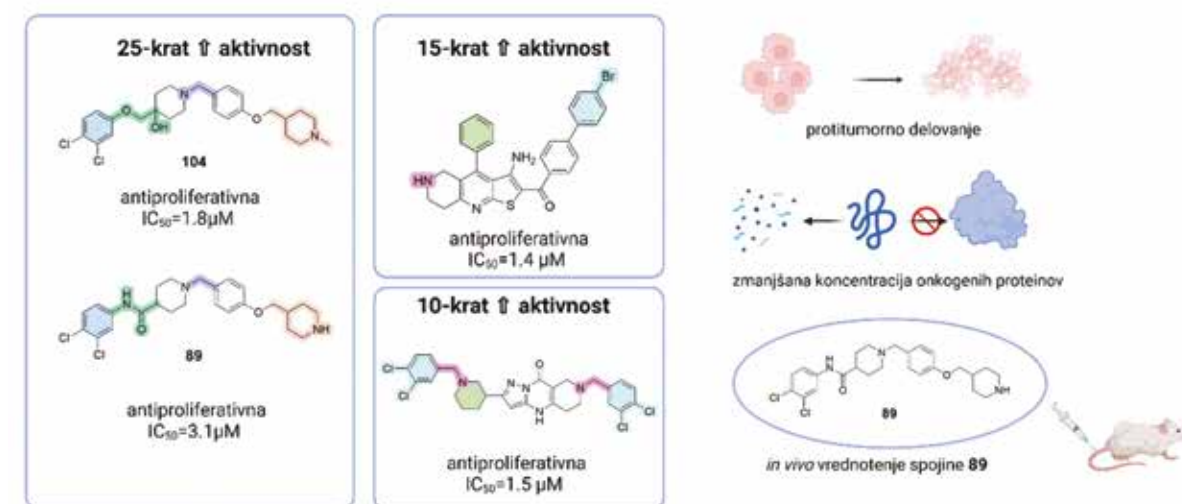


Figure 3. Structures of the most potent analogues of each distinct structural class and schematic representation of their mode of action.

This research identifies new structural classes of Hsp90 CTD inhibitors, expanding the structural diversity of allosteric inhibitors while reinforcing the CTD as a compelling therapeutic target. These findings provide a strong foundation for the future development of anticancer agents with innovative mechanisms of action, showing new potential for more effective cancer treatments.

DR. ANA OBERLINTNER

Že od otroštva je tesno povezana z naravo. Navduševalo jo je raziskovanje gozdov, rastlin in živali ter opazovanje naravnih pojavov. Doma je delala preproste poskuse, s katerimi je bolje razumela delovanje narave. Ko se je bližal čas vpisa na fakulteto, se je odločala med študijem medicine, kemije in kemijskega inženirstva. Na koncu je izbrala kemijsko inženirstvo na Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo, kjer je diplomirala in magistrirala. Strast do raziskovalnega dela jo je pripeljala do nadaljevanja študija na doktorski ravni. Doktorirala je na Podiplomski šoli Jožefa Stefana, zdaj pa raziskovalno delo nadaljuje na Kemijskem inštitutu.



Ne odneham, dokler ne najdem rešitve

NAZAJ K NARAVI

Moje primarno raziskovalno področje je kemijsko inženirstvo, a rešitev za kompleksne probleme, kot so onesnaženje s plastiko, energetske rešitve in preskrba s hrano, zahteva interdisciplinaren pristop. Pri svojem delu zato združujem kemijsko inženirstvo z inženirstvom materialov, biotehnologijo in modeliranjem. V okviru doktorskega dela sem raziskovala površinske modifikacije nanoceluloze in uporabo teh materialov za embalažo in medicinski tekstil. Moje raziskovalno sporočilo je jasno: v sodobnem svetu se moramo spet ozreti k naravi, v njej moramo iskati rešitve. Celuloza, ki je najbolj razširjen biopolimer, je cenovno dostopna, biorazgradljiva in idealna za kratkotrajno uporabo, na primer za embalažo za hrano. Verjamem, da bodo moje raziskave pomembna odskočna deska za nadaljnji razvoj industrijskih rešitev.

RAZISKOVANJE JE KOT SESTAVLJANKA

Raziskovalni proces lahko primerjamo s sestavljanjem sestavljanke, vsak odgovor je eden od številnih koščkov. Znanstvena vprašanja so neizčrpna, ideje pa se pogosto porodijo med nepričakovanimi opravili. Pri raziskovalnem delu je zelo pomembna vloga mentorja, še posebno na začetku, ko je treba postaviti prava vprašanja in določiti okvir raziskav. Ta je namreč hitro zastavljen preširoko, zato je cilje nemogoče doseči, kar jemlje zagon in motivacijo. Mentor ima pomembno vlogo tudi pri navezovanju stikov z drugimi raziskovalci ter pri vključevanju mlajših kolegov v raziskovalne skupine. Zato sem za pomoč in podporo iskreno hvaležna doc. dr. Urošu Novaku in somentorju izr. prof. dr. Blažu Likojarju.

VZTRAJNOST JE KLJUČ DO USPEHA

Moja nepopustljivost pri iskanju odgovorov je v raziskovanju izjemno koristna. Veseli me raznolikost tem in izzivov, pri katerih lahko uporabim znanje iz različnih projektov. Raziskovalno delo se pogosto nadaljuje po koncu delovnega časa, vendar skrbim tudi za kakovostno preživljanje prostega časa z družino in prijatelji. Med mojimi priljubljenimi dejavnostmi so plavanje, badminton, pohodništvo in ples ob drogu. Poleg tega obiskujem tečaje risanja in slikanja, kar spodbuja mojo ustvarjalnost.

PRIZNANJE IN PRILOŽNOST

Krkin nagrade so pomembno priznanje, ki potrjujejo kakovost in aktualnost našega dela. Odpirajo

priložnosti za nova sodelovanja in povezovanja v raziskovalni skupnosti. Osebnostno mi je v veliko čast, da sem Krkina nagrajenka, saj to potrjuje kakovost in aktualnost mojih raziskav.

SPOROČILO MLADIM

Raziskovanje zahteva svoj čas in potrpljenje. Tudi negativni rezultati veliko povedo. Uspešne raziskave imajo vedno za seboj celo vrsto spodletelih poskusov.

NAJBOLJŠI NASVET

Včasih zmagaš, drugič se naučiš.

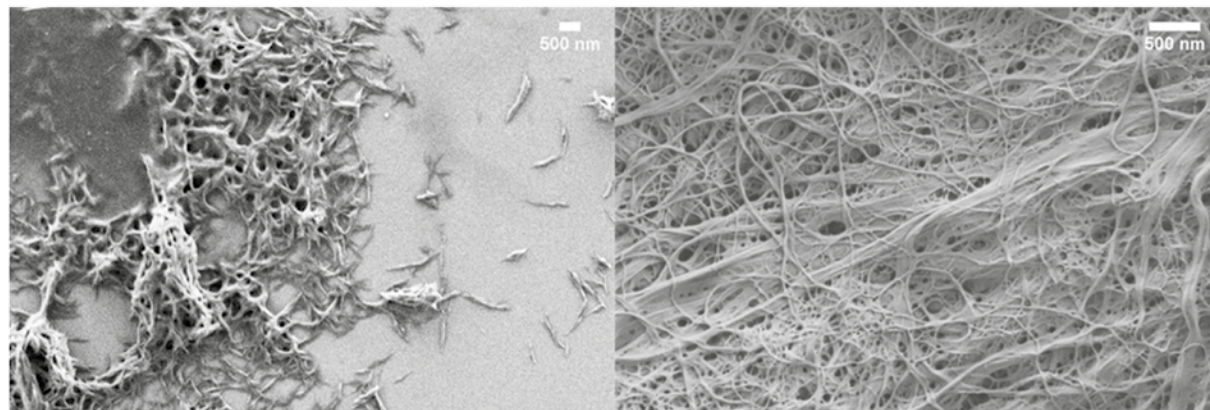
ŽIVLJENJSKO VODILO

*Bolj kot leta življenja
je pomembno življenje
v teh letih.*

Površinske modifikacije celuloznih nanomaterialov: mehanizmi, kinetika in njihove aplikacije

Celuloza, ki nastaja v zelenih rastlinah, je najpogostejši naravni biopolimer na svetu, zato je široko dostopna, poceni in obnovljiva. Njena struktura je hierarhična: makrovlakna so sestavljena iz snopov mikrovlaken, ki so napolnjena z vlakni nanovelikosti, ta pa so sestavljena iz celuloznih verig, ki so inter- in intramolekularno povezane z vodikovimi vezmi. Takšna struktura omogoča pridobivanje nanodelcev v obliki celuloznih nanokristalov (CNC) prek hidrolize ali celuloznih nanofibrilov (CNF), izoliranih s kemično ali biološko predobdelavo in mehansko fibrilacijo. Slednje lahko proizvede tudi več bakterijskih sevov, pri čemer nastane bakterijska nanoceluloza (BNC). Vsi celulozni nanomateriali imajo veliko specifično površino in mehansko trdnost, kar sta zelo zaželeni lastnosti v številnih primerih, predvsem pri embalažnem materialu, medicinskem tekstilu in kozmetičnih izdelkih. Vendar pa njihov polni potencial ovira njihova naravna hidrofilnost. V doktorski disertaciji smo zato raziskovali različne pristope k hidrofobizaciji obeh oblik nanoceluloze.

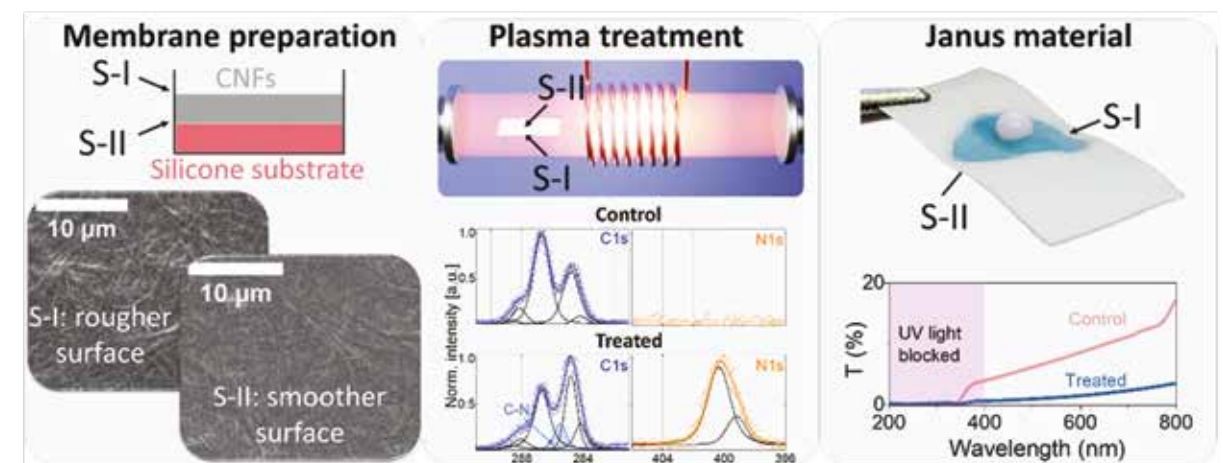
Najprej smo določili optimalne pogoje za pripravo in karakterizacijo biofilmov, pri čemer smo vse tri vrste celuloznih nanomaterialov obravnavali kot primarni biopolimer za izdelavo filmov ali kot dodatek za izboljšavo mehanskih lastnosti kompozitnih filmov na osnovi hitozana in alginata. Da bi pokazali njihov potencial, da se uporabljajo kot trajnosten embalažni material, smo ocenili njihove tehnične lastnosti: natezno trdnost (TS) in raztezek ob pretrgu (ϵ), prepustnost za kisik (OTR) in vodno paro (WVT) ter kontaktni kot vode (WCA). Za širšo uporabo teh materialov pa je treba izboljšati njihovo vodoodpornost, kar lahko dosežemo na dva načina: s funkcionalizacijo celuloznih nanomaterialov pred njihovo vključitvijo v naravno biopolimerno matrico in s površinsko obdelavo biopolimernega filma.



Slika 1. CNC (levo) in CNFs (desno) pod elektronskim vrstičnim mikroskopom.

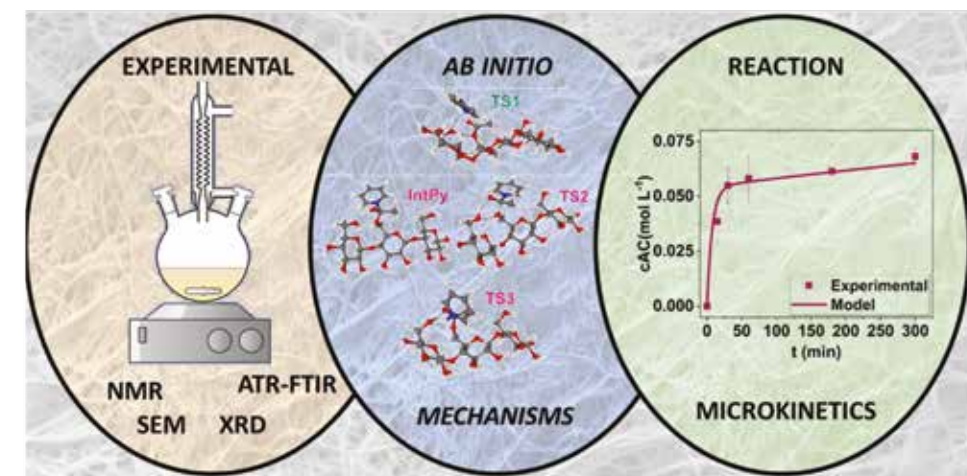
Za reševanje tega izziva smo temeljito pregledali literaturo s področja hidrofobizacije celuloznih nanomaterialov. Tako smo lahko določili možne pristope k modifikaciji površine CNC in CNF ter odkrili vrzeli v znanju. Metode kemične funkcionalizacije (esterifikacija, sililacija, karbaminacija, eterifikacija in kemija klika) so dobro znane in raziskane, primanjkuje pa temeljitih študij mehanizmov in kinetike teh reakcij, čeprav je njihovo podrobno razumevanje ključno za prenos na industrijsko raven. Poleg tega se je pokazalo, da je uporaba plazemske tehnologije za hidrofobizacijo celuloznih (nano)materialov hitra in učinkovita, vendar je s tega področja malo znanstvene literature.

Na podlagi teh ugotovitev smo se najprej usmerili v funkcionalizacijo filmov na osnovi CNF s plazmo. Že 30 sekund obdelave s fluoroogljikovo plazmo je zadoščalo za drastično povečanje WCA z začetnih 46° na 130° , ne da bi to bistveno vplivalo na lastnosti, pomembne za embalažo (TS, ϵ , WVT in WCA). Ugotovili smo, da je obdelava z radiofrekvenčno generirano plazmo v fluoroogljiku izredno hitra in zagotavlja stabilno hidrofobno prevleko, vendar lahko fluorirane spojine pri višjih koncentracijah povzročijo motnje v presnovi. V nadaljevanju smo se zato usmerili v iskanje alternativnega plina, ki bi bil okoljsko nevtralen. Pokazalo se je, da plazma, ustvarjena v N_2 , zagotavlja hidrofobno površino z enakimi lastnostmi, pri čemer se izognemo spojinam, povezanim s fluorom. Izdelane so bile membrane z Janusovo omočljivostjo, za katere smo prikazali, da se lahko uporabljajo kot obloge za rane ali kot podoben pameten medicinski tekstil (platforma za nosljive senzorje).



Slika 2. Priprava membran z Janusovim karakterjem na osnovi CNF prek obdelave z dušikovo plazmo (Oberlintner et al. 2024, Carbohydrate Polymers).

Da bi prispevali k poznavanju mehanizmov in kinetike reakcij funkcionalizacije, smo proučili esterifikacijo celuloznih nanomaterialov z očetnim anhidridom v prisotnosti piridina. Kombinirana teoretična in eksperimentalna študija te reakcije, ki je bila izvedena na CNC in na CNF, je pokazala dva konkurenčna reakcijska mehanizma. S postavitvijo mikrokinetičnega modela smo pridobili kinetične parametre za reakcijo obeh vrst materialov. Za prikaz praktične uporabe takšne modifikacije smo CNC z različnimi stopnjami substitucije vgradili v filme iz alginata in hitozana, ki so bili izpostavljeni različni vlažnosti okolja, da bi ocenili njihov vpliv na TS, ϵ , vsebnost vlage in WVT. Da bi dobili vpogled v konec življenjske dobe takšnih filmov, smo biokompozite 5 dni spremljali v sistemu OxiTop in z respirometrijo merili biorazgradljivost.



Slika 3. Mehanizem acetilacije CNC in CNF, ki je bil predpostavljen na podlagi eksperimentalnih študij in teoretičnih izračunov, je bil uporabljen za konstrukcijo mikrokinetičnega modela (Oberlintner et al. 2022, ACS Sustainable Chemistry & Engineering).

Surface Modifications of Cellulose Nanomaterials: Mechanisms, Kinetics and Their Applications

Synthesised in green plants, cellulose is the most abundant natural biopolymer on the planet and thus widely available, cheap and renewable. It has a hierarchical structure: macrofibrils are composed of bundles of microfibrils that are packed with nano-sized fibrils, which consist of single cellulose chains inter- and intramolecularly connected with hydrogen bonds. Such structure allows for the extraction of nanosized particles in the form of cellulose nanocrystals (CNCs) through hydrolysis or cellulose nanofibrils (CNFs), isolated through chemical or biological pre-treatment, and mechanical fibrillation. The latter can also be produced by several bacteria strains, yielding bacterial nanocellulose (BNC). All cellulose nanomaterials exhibit high specific surface and mechanical strength, which are highly desirable in numerous applications, with most prominent ones being packaging materials, medical textiles, and cosmetics. However, their full potential is hindered by their natural hydrophilicity and sensitivity to water. With this in mind, the doctoral dissertation explores various approaches to hydrophobisation of CNCs and CNFs.

Firstly, to define the optimal conditions for the preparation and characterisation of bio-based films, all three types of cellulose nanomaterials were considered as a primary biopolymer for film fabrication or as a reinforcing agent in chitosan- and alginate-based composite films. To indicate their potential as a sustainable packaging material, technical specifications of the films were evaluated: tensile strength (TS) and elongation-at-break (ϵ), together with oxygen permeability (OTR), water vapor transmission (WVT), and water contact angle (WCA). To enable broader applications, improvement in water resistance is required through functionalisation of cellulose nanomaterials prior to their incorporation in a natural biopolymer matrix or by the surface treatment of the already fabricated biopolymer film.

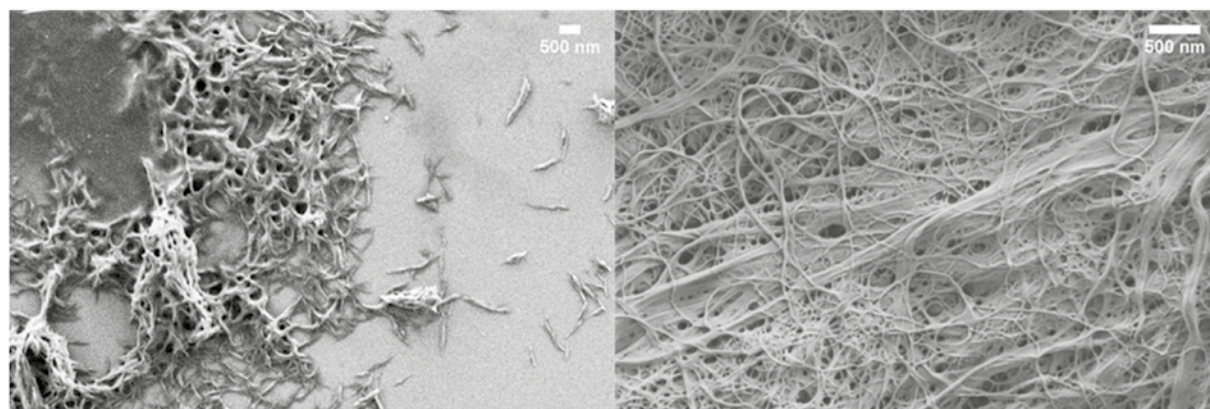


Figure 1. CNCs (left) and CNFs (right) under scanning electron microscope.

To tackle this challenge, the existing literature on hydrophobisation of cellulose nanomaterials was thoroughly reviewed to determine possible approaches to surface modifications of cellulose nanomaterials and to identify gaps in the knowledge. While the routes of chemical functionalisations (esterification, silylation, carbamation, etherification, and click chemistry) are well known and researched, there is a lack of thorough studies on mechanisms and kinetics of these reactions, the understanding of which is crucial for the transfer to industrial scale. Furthermore, the comprehensive review revealed that although the use of plasma treatment is fast and effective for hydrophobisation of cellulose (nano)materials, only very limited available scientific contributions have been presented.

With this in mind, the films based on CNFs were processed with fluorocarbon plasma, resulting in a drastic increase of WCA from initial 46° to 130° in only 30 s, without significantly affecting the properties relevant for packaging applications (TS, ϵ , WVT, and WCA). While the treatment with RF-generated plasma in fluorocarbon was found to be ultrafast and providing a stable hydrophobic coating, fluorinated compounds might cause a disturbance in metabolism at higher concentrations; therefore, in this work we aimed to find a substitute gas. It was discovered that the plasma generated in N_2 provides the same result of hydrophobic surface while avoiding fluorine-related compounds. Membranes with Janus wettability were fabricated and demonstrated to be applicable as wound dressing or similar smart medical textiles (platform for wearable sensors).

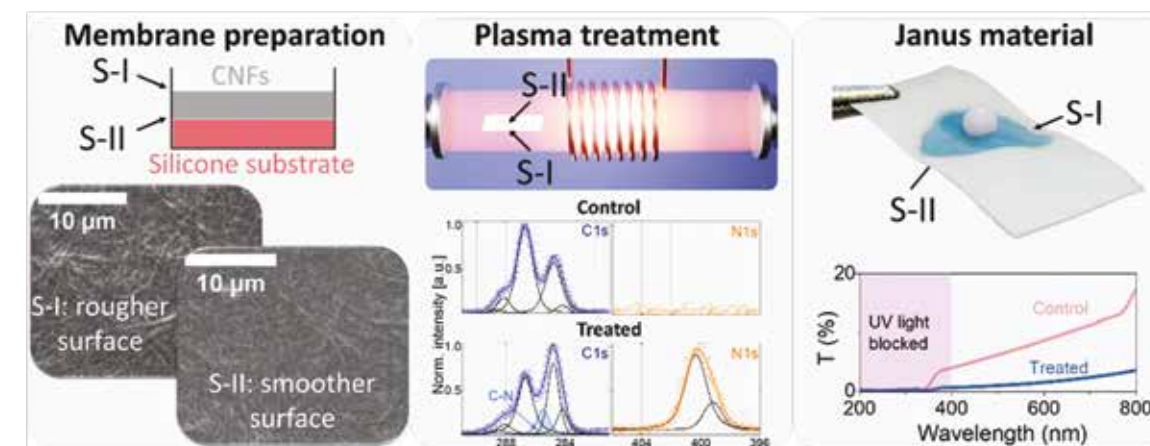


Figure 2. Preparation of CNFs-based membranes with Janus character through nitrogen plasma treatment (Oberlinter et al. 2024, Carbohydrate Polymers).

To contribute to the knowledge of mechanisms and kinetics of functionalisation reactions, we revisited the esterification reaction of cellulose nanomaterials with acetic anhydride in the presence of pyridine. A combined computational and experimental study of this reaction, which was carried out on both CNCs and CNFs, indicated two competitive reaction mechanisms, and yielded kinetic parameters through microkinetic modelling of both materials. To demonstrate the practical use of surface acetylation of cellulose nanomaterials, modified CNCs of various degrees of substitution were incorporated into alginate and chitosan films that were subjected to various environmental humidity to evaluate its effect on TS, ϵ , moisture content, and WVT. Finally, to gain an insight into the end-of-life of such films, biodegradation of alginate- and chitosan-based films with pristine and acetylated CNCs in activated sludge was followed for 5 days through respirometry in OxiTop system.

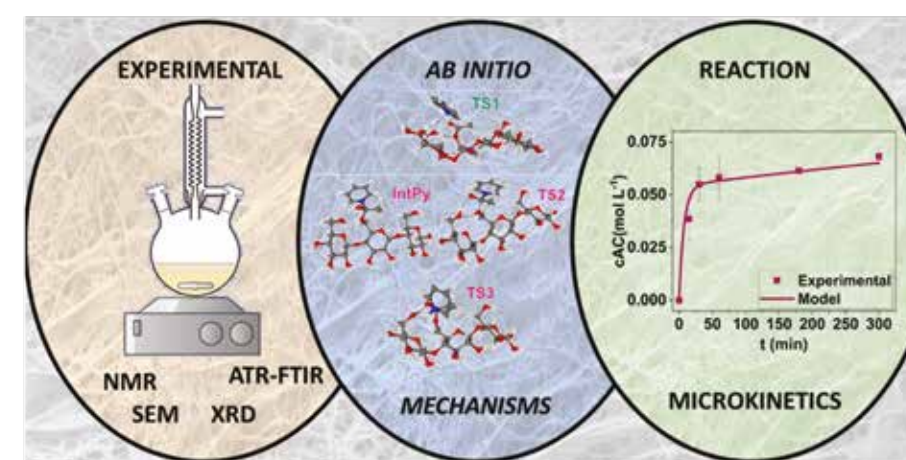


Figure 3. Mechanism of acetylation of CNCs and CNFs was depicted through experimental-theoretical study, which was employed for construction of microkinetic model (Oberlinter et al. 2022, ACS Sustainable Chemistry & Engineering).

DR. MAŠA STERLE

Akademsko pot je začela z enovitim magistrskim študijem farmacije. Že takrat jo je najbolj navdušila farmacevtska kemija. Nad tem področjem pa se je še posebno navdušila med raziskovalnim delom za magistrsko nalogo. Kot pravi, je težko opisati občutek, ko ti prvič uspe sintetizirati novo spojino. Po študiju je sprva delala v Krki, vendar jo je želja po raziskovanju vodila nazaj na fakulteto, kjer je kot mlada raziskovalka nadaljevala delo na Katedri za farmacevtsko kemijo. Zdaj je zaposlena v Krki v Razvoju analitike. Njeno primarno raziskovalno področje je načrtovanje in sinteza novih protibakterijskih učinkovin, kar je bila tudi osrednja tema njene doktorske disertacije.

Nikoli mi ni bilo nič težko

NAČRTOVANJE IN SINTEZA NOVIH PROTIBAKTERIJSKIH UČINKOVIN

Vedno sem si želela raziskovati na področju farmacevtske kemije. Ker se na Fakulteti za farmacijo Univerze v Ljubljani že vrsto let ukvarjajo z razvojem protibakterijskih učinkovin, pa sem se usmerila na sintezo novih protibakterijskih spojin. V okviru doktorske disertacije smo pripravili nizkonanomolarne zaviralce dveh bakterijskih encimov, in sicer DNA-giraze in topoizomerase IV problematičnih bakterijskih sevov, ki so kazali močno protibakterijsko delovanje na po Gramu pozitivne in po Gramu negativne bakterije. Uspešno smo pripravili tudi spojine z optimiziranim delovanjem na mikobakterije. Ob dolgotrajnem zdravljenju okužb bi take spojine pomenile veliko prednost, saj ne prispevajo k razvoju splošne bakterijske odpornosti, poleg tega pa ne zavirajo rasti bakterij, ki tvorijo našo mikrofloro. Ukvarjali smo se tudi s kompleksnim področjem asimetrične sinteze. Razvili smo sintezno metodo, ki omogoča enostaven dostop do kompleksnih enantiomerno obogatenih molekul z več kiralnimi centri. Take spojine so bile v preteklosti velik analitski in sintezni problem, v kliničnih fazah razvoja zdravil pa bolje napredujejo in so tudi bolj topne.

PRIHODNOST RAZVOJA ANTIBIOTIKOV

Zavedam se, da so znanstveni dosežki kljub pomembnosti rezultatov pogosto videti kot majhen prispevek k znanosti. Alarmantno je, da od 80. let 20. stoletja ni bil odkrit noben nov razred antibiotikov, kar pomeni, da so naši rezultati pomembni za prihodnji razvoj na tem kritičnem področju. Zaradi pojava bakterijske odpornosti in umika farmacevtskih podjetij iz razvoja novih antibiotikov je nadaljnje raziskovanje še toliko nujnejše.

MENTOR VODI SKOZI CELOTEN PROCES

Kot ključna dejavnika uspeha v znanosti bi poudarila vztrajnost in motivacijo, ki jo prinaša doseganje postavljenih ciljev. Najboljše zamisli se mi pogosto porodijo med pogovori s sodelavci ali med športnimi dejavnostmi, kot sta tek in kolesarjenje. Prav tako poudarjam pomembnost mentorstva, zlasti v zgodnjih fazah raziskovalne kariere. Moja mentorja prof. Anamarija Zega in doc. Andrej Emanuel Cotman sta me s svojimi izkušnjami in znanjem usmerjala med celotnim raziskovanjem v okviru doktorske disertacije.

SEM ZELO VZTRAJNA IN POTRPEŽLJIVA

Kot mlada raziskovalka sem na fakulteti večino časa namenila raziskovalni nalogi. Ker sem delo opravljala z veseljem, mi nikoli ni bilo nič težko. Vedno pa sem si vzela tudi čas zase. Zelo rada tečem, poleti pa kolesarim in hodim v hribe. Zdaj sem že eno leto zaposlena v Krki kot samostojna raziskovalka v oddelku Separacijske analize. Svoje znanje uporabljam pri reševanju analiznih problemov, ki se vsak dan pojavljajo v naših analiznih laboratorijih in pri obravnavanju katerih potešim tudi željo po raziskovanju. Sem zelo vztrajna in potrpežljiva. Ti dve po mojem mnenju pomembni lastnosti sem razvila predvsem med doktorskim študijem. Če neke teme ne poznam dovolj dobro, vedno vprašam za nasvet, vendar tudi dobro premislim in se na koncu odločim.

KRKINA NAGRADA JE POTRDI TEV, DA JE BILO NAŠE DELO KAKOVOSTNO OPRAVLJENO

Krkinе nagrade že dolgo uspešno povezujejo akademski svet in farmacevtsko industrijo. S prijavo na razpis sem želela svoje rezultate deliti s širšo javnostjo in strokovnjaki z drugih področij. Vesela sem, da sem med Krkinimi nagrajenci. To je potrditev, da je bilo naše delo dobro in kakovostno opravljeno, kar mi daje motivacijo za nadaljnje delo.

VESELITE SE MAJHNIH USPEHOV

Bodite vztrajni, potrpežljivi in delavni. To je recept za uspeh. Stvari v znanosti večinoma ne potekajo tako, kot smo si zamislili oziroma želeli. Veselite se torej majhnih uspehov, iz vseh neuspešnih poskusov, ki jih ni malo, pa se poskusite čim več naučiti.

NAJBOLJŠI NASVET

Nikoli ne odnehaj, razen če si poskusil vsaj trikrat, kajti to pomeni, da nima smisla.

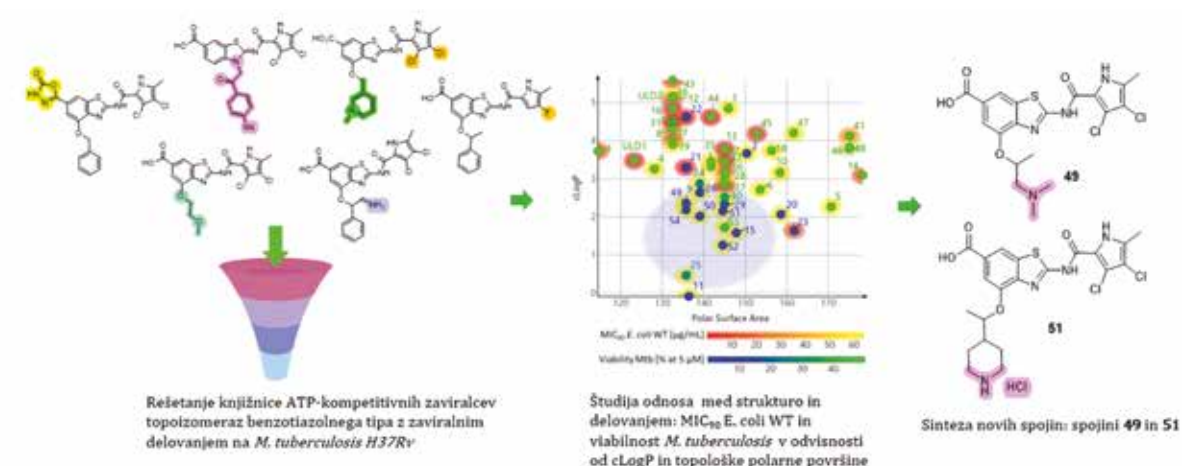
ŽIVLJENJSKO VODILO

Življenje je izkušnja, naj te vodi radovednost.

Načrtovanje, sinteza in vrednotenje neplanarnih benzotiazolnih zaviralcev bakterijskih topoizomeraz z razširjenim spektrom delovanja

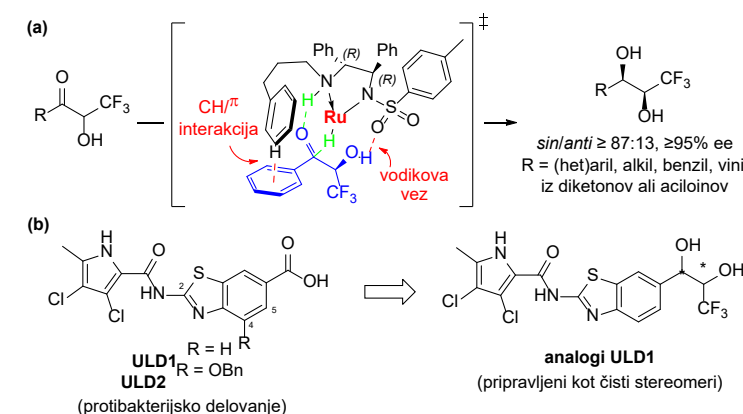
Bakterijska encima DNA-giraza in topoizomeraza IV sta validirani tarči za razvoj novih protibakterijskih učinkovin. Zaradi svoje strukturne podobnosti omogočata načrtovanje spojin, ki lahko hkrati zavirajo oba encima, kar je lahko prednost v boju proti bakterijski odpornosti. Spojini ULD1 in ULD2 (slika 2) sta ATP-kompetitivna zaviralca bakterijskih encimov DNA-giraze (GyrB) in topoizomeraze IV (ParE) po Gramu pozitivnih in po Gramu negativnih bakterij, ki sta bila razvita na Fakulteti za farmacijo. V okviru doktorske naloge smo sintetizirali ter biokemijsko in mikrobiološko ovrednotili njune analoge, da bi izboljšali fizikalno-kemijske lastnosti ter delovanje na problematične bakterijske seve iz skupine ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.) in na mikobakterije.

Sprva smo pripravili serijo novih spojin z 2-pirolamidobenzo[d]tiazolnim skeletom in substitucijo na mestu C5, ki so zavirale GyrB in ParE v nizkem nanomolarnem območju ter kazale močno protibakterijsko delovanje na po Gramu pozitivne (MIC-vrednosti za najboljšo spojino: < 0,07–0,14 μ M) in po Gramu negativne bakterije (MIC-vrednosti za najboljšo spojino: 9–35 μ M). Opazili smo, da je bilo delovanje polarnejših spojin (z boljšimi fizikalno-kemijskimi lastnostmi) na po Gramu negativne bakterije zmanjšano zaradi črpanja iz bakterij prek izlivnih črpalk. Zaradi velike strukturne podobnosti GyrB *E. coli* in *M. tuberculosis H37Rv* smo zaviralno aktivnost spojine ULD2 ovrednotili na izoliranem encimu GyrB *M. tuberculosis H37Rv* (IC_{50} = 5 nM). Ugodni rezultati so nas vodili k testiranju knjižnice 2-pirolamidobenzo[d]tiazolnih zaviralcev bakterijske GyrB in ParE po Gramu pozitivnih in po Gramu negativnih bakterij, ki je bila predhodno sintetizirana na naši katedri. Spojinam smo s testom REMA (*resazurin microtitre assay*) pri koncentraciji 5 μ M določili aktivnost *in vitro* zoper *M. tuberculosis H37Rv* ter aktivnim spojinam določili MIC₉₀ za *M. tuberculosis H37Rv* in netuberkulozne mikobakterije. Spojine s polarnimi substituenti na mestu C4 2-aminobenzo[d]tiazola oziroma spojine z manj lipofilnim fluoropirolnim fragmentom so kazale močno protituberkulozno delovanje, zaradi delovanja izlivnih črpalk pa so bile neaktivne na divji tip *E. coli*. Načrtovali in sintetizirali smo nove analoge v polarnejšem kemijskem prostoru (slika 1), ki kažejo zaviralno delovanje na GyrB *M. tuberculosis H37Rv* ter selektivno protibakterijsko delovanje na *M. tuberculosis H37Rv* in netuberkulozne mikobakterije (*M. abscessus* RIVM, *M. smegmatis* MC2155). Za najbolj perspektivni sta se izkazali spojini 51 in 49 z bazičnim aminom v stranski verigi (slika 1). Njuno optimizirano delovanje na mikobakterije bi v dolgotrajnem zdravljenju okužb z mikobakterijami pomenilo veliko prednost, saj ne zavirata rasti bakterij, ki tvorijo našo mikrofloro (npr. *P. copri*, *B. thetaetaiotaomicron*, *R. intestinalis*), in s tem ne prispevata k razvoju splošne bakterijske odpornosti.



Slika 1. Na osnovi struktur spojin zadetkov, ki smo jih identificirali pri reševanju knjižnice ATP-kompetitivnih zaviralcev topoizomeraze 2-pirolamidobenzo[d]tiazolnega tipa na *M. tuberculosis H37Rv* (aktivnost *in vitro* s testom REMA), smo načrtovali in pripravili spojine z močnim protibakterijskim delovanjem na *M. tuberculosis H37Rv* in netuberkulozni *M. abscessus* RIVM, ki kažejo ugoden varnostni profil in selektivno delujejo na mikobakterije (spojini 49 in 51).

Molekule z večjim deležem sp^3 -hibridiziranih ogljikovih atomov in več kiralnimi centri statistično bolje napredujejo v kliničnih fazah razvoja zdravil zaradi večje tarčne selektivnosti in ugodnejših fizikalno-kemijskih lastnosti. Razvili smo sintezno metodo, ki omogoča preprost dostop do kompleksnih molekul z več kiralnimi centri. Z asimetričnim transernim hidrogeniranjem z uporabo rutenijevih katalizatorjev Noyori-Ikariya v zmesi mravljinčne kisline in trietilamina, sklopljenim z dinamično kinetično resolucijo (ATH-DKR), smo serijo CF_3 -substituiranih 1,2-diketonov ali racemnih α -hidroksiketonov pretvorili do enantiomerno obogatenih CF_3 -substituiranih 1,2-diolov. Z visoko stereomerno čistoto (*sin/anti* $\geq 87:13$; ≥ 95 % ee) smo pripravili (het)aril-, vinil-, benzil- in alkilsubstituirane diole. Na podlagi rentgenske difrakcijske analize monokristalov smo določili absolutno konfiguracijo, s kontrolnimi poskusi in izračuni na podlagi teorije gostotnih funkcionalov (DFT) pa smo raziskali mehanizem reakcije in izvor enantioselektivnosti. Pokazali smo, da različni predstavniki katalizatorjev Noyori-Ikariya lahko stereoselektivnost usmerjajo prek dvotočkovne privlačne interakcije s substratom, ki ima na ustrezni razdalji od nenasičene funkcionalne skupine donor vodikove vezi (slika 2a). Spoznanja o mehanizmu stereoselektivnosti bodo omogočala racionalno načrtovanje novih asimetričnih kemijskih pretvorb. Pripravili smo prostorsko urejene analoge benzotiazolnega zaviralca GyrB ULD1, pri katerem smo karboksilno skupino zamenjali s *sin*- ali *anti*- CF_3 -1,2-diolnim fragmentom, in s tem prikazali uporabo fragmenta kot mogočega gradnika kompleksnejših molekul (slika 2b).



Slika 2. (a) Usmerjanje stereoselektivnosti prek dvotočkovne prepoznavne substrata, ki ima na ustrezni razdalji donor vodikove vezi. Dve privlačni interakciji v prehodnem stanju, ki vodita do nastanka pretežno enega enantiomera, sta interakcija $CH-\pi$ med aromatskima obročema ter vodikova vez med OH-skupino substrata in SO_2 -skupino katalizatorja, kar smo potrdili z izračuni DFT. (b) Stereomerno čisti analogi spojine ULD1 s protibakterijskim delovanjem, pri katerih je bila karboksilna kislina zamenjana s CF_3 -1,2-diolom.

Design, Synthesis and Evaluation of Non-Planar Benzothiazole-Cored Bacterial Topoisomerase Inhibitors with Broadened Antibacterial Spectrum

Bacterial enzymes DNA gyrase and topoisomerase IV are validated targets for the development of new antibacterial agents. Due to their structural similarity, they enable the design of compounds that can simultaneously inhibit both enzymes. This can be an advantage in combating bacterial resistance. Compounds ULD1 and ULD2 (Figure 2) are ATP-competitive inhibitors of bacterial enzymes DNA gyrase (GyrB) and topoisomerase IV (ParE) in both Gram-positive and Gram-negative bacteria, and have been developed at the Faculty of Pharmacy. As part of the doctoral thesis, we synthesised and biochemically and microbiologically evaluated their analogues. Our aim was to improve physicochemical properties and efficacy against problematic bacterial strains from the 'ESKAPE' group (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.*) and against mycobacteria.

Initially, we prepared a series of new compounds with a 2-pyrrolamidobenzo[d]thiazole scaffold and a substitution at the C5 position, which inhibited GyrB and ParE in the low nanomolar range and exhibited strong antibacterial activity against Gram-positive (MIC values for the best compound: <0.07–0.14 μ M) and Gram-negative bacteria (MIC values for the best compound: 9–35 μ M). We found that the activity of more polar compounds (with better physicochemical properties) against Gram-negative bacteria was reduced due to efflux pump-mediated expulsion from the bacteria. Due to the high structural similarity between *E. coli* GyrB and *M. tuberculosis* H37Rv GyrB, the inhibitory activity of compound ULD2 on the isolated GyrB enzyme of *M. tuberculosis* H37Rv (IC_{50} = 5 nM) was evaluated. Favourable results led us to test a library of 2-pyrrolamidobenzo[d]thiazole inhibitors of bacterial GyrB and ParE in Gram-positive and Gram-negative bacteria, previously synthesised at our department. We determined the *in vitro* activity of the compounds against *M. tuberculosis* H37Rv using the REMA (Resazurin Microtiter Assay) assay at a concentration of 5 μ M and determined the MIC₉₀ for *M. tuberculosis* H37Rv and nontuberculous mycobacteria for the active compounds. Compounds with polar substituents at the C4 position of 2-aminobenzo[d]thiazole or compounds with a less lipophilic fluoropyrrole fragment exhibited strong antitubercular activity but were inactive against wild-type *E. coli* due to efflux pump activity. We have designed and synthesised new analogues in a more polar chemical space (Figure 1) that showed inhibitory activity against GyrB *M. tuberculosis* H37Rv and selective antibacterial activity against *M. tuberculosis* H37Rv and nontuberculous mycobacteria (*M. abscessus* RIVM and *M. smegmatis* MC2155). Compounds **51** and **49**, with a basic amine in the side chain (Figure 1), have been identified as the most promising. Their optimised activity against mycobacteria would present a significant advantage in the long-term treatment of mycobacterial infections, as they do not inhibit the growth of bacteria constituting our microbiota (e.g. *P. copri*, *B. thetaetaiotaomicron*, and *R. intestinalis*), thereby not contributing to the development of general bacterial resistance.

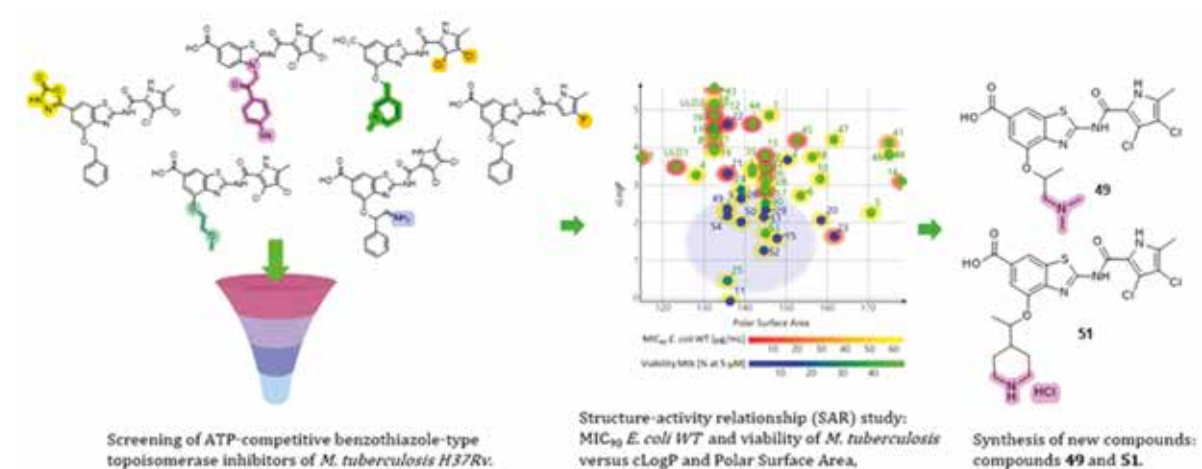


Figure 1. Based on the structures of hit compounds, identified during screening of the library of ATP-competitive 2-pyrrolamidobenzo[d]thiazole type topoisomerase inhibitors of *M. tuberculosis* H37Rv (*in vitro* activity using the REMA assay), we designed and prepared compounds with strong antibacterial activity against *M. tuberculosis* H37Rv and nontuberculous *M. abscessus* RIVM, which exhibit a favourable safety profile and act selectively on mycobacteria (compounds **49** and **51**).

Molecules with a higher proportion of sp³-hybridised carbon atoms and multiple chiral centres statistically progress better through clinical development phases due to increased target selectivity and more favourable physicochemical properties. A synthetic method that enables easy access to complex molecules with multiple chiral centres was developed. Using asymmetric transfer hydrogenation with Noyori-Ikariya ruthenium catalysts in a formic acid and triethylamine mixture, coupled with dynamic kinetic resolution, a series of CF₃-substituted 1,2-diketones or racemic α -hydroxyketones was converted into enantiomerically enriched CF₃-substituted 1,2-diols. With high stereomeric purity (syn/anti $\geq$ 87:13; $\geq$ 95% ee), we prepared (het)aryl-, vinyl-, benzyl-, and alkyl-substituted diols. Based on X-ray crystallographic analysis of single crystals, the absolute configuration was determined. Through control experiments and density functional theory calculations, we investigated the reaction mechanism and the origin of enantioselectivity. We demonstrated that different representatives of Noyori-Ikariya catalysts can direct stereoselectivity through a two-point attractive interaction with the substrate, which has a hydrogen bond donor at an appropriate distance from the unsaturated functional group (Figure 2a). Insights into the stereoselectivity mechanism will enable the rational design of new asymmetric chemical transformations. We prepared spatially ordered analogues of the benzothiazole GyrB inhibitor ULD1, where the carboxyl group was replaced with a syn- or anti-CF₃-1,2-diol fragment, thus demonstrating the use of the fragment as a potential building block for more complex molecules (Figure 2b).

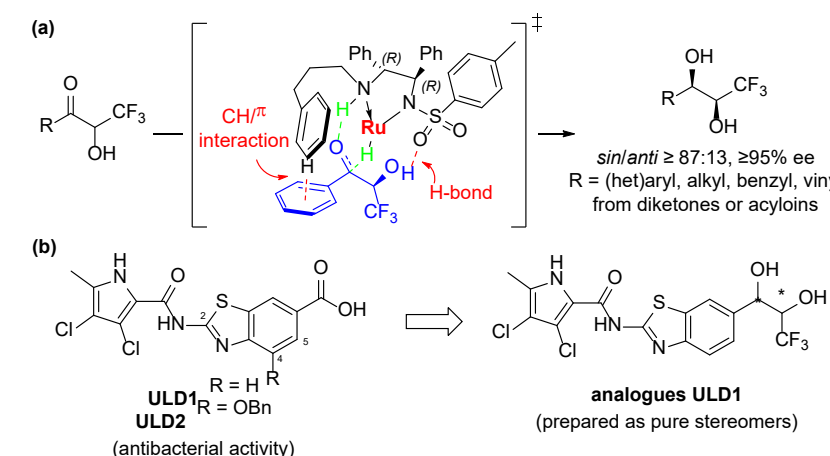


Figure 2. (a) Direction of stereoselectivity through a two-point recognition of the substrate, which has a hydrogen bond donor at the appropriate distance. Two attractive interactions in the transition state leading to the formation of predominantly one enantiomer are the CH- π interaction between the aromatic rings and the hydrogen bond between the substrate's OH group and the SO₂ group of the catalyst, confirmed by DFT calculations. (b) Stereomerically pure analogues of compound ULD1 with antibacterial activity, where the carboxylic acid was replaced with a CF₃-1,2-diol.

DR. DAVID MAJER

Že kot otrok je bil zelo radoveden. Vedno ga je zanimalo, iz česa so stvari in kako delujejo. Navduševal se je predvsem nad kemijo, ki ga je spremljala čez celotno izobraževalno pot, vse od splošne mature na Prvi gimnaziji Maribor. Nato se je vpisal na Fakulteto za kemijo in kemijsko tehnologijo Univerze v Mariboru, kjer je po magisteriju iz kemije študij nadaljeval na doktorski ravni. Njegovo raziskovalno delo je usmerjeno predvsem v analizo kemijo, kjer je razvil metode za individualno in simultano določanje organskih molekul z uporabo modificiranih in nemodificiranih sitotiskanih ogljikovih elektrod. Danes svoje znanje in strast do raziskovanja prenaša na nove generacije kot pedagoški asistent in raziskovalec na Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo Univerze v Mariboru.



Radovednost me je pripeljala do uspeha

RAZVOJ ELEKTROKEMIJSKIH SENZORJEV Z VELIKIM POTENCIALOM

Že med študijem sem sodeloval pri več raziskovalnih projektih, kar je poglobilo moje zanimanje za analizo kemijo, posebno za elektrokemijo. V svoji doktorski disertaciji sem razvil elektrokemijske senzorje za določanje različnih organskih molekul, kot so epinefrin, sečna kislina, metil paration in inzulin. Ti senzorji imajo več prednosti, vključno s kratkim časom analize, uporabo vodnega medija kot topila, analizo vzorca brez večje predpriprave, nizko mejo zaznavnosti, analizo na mestu vzorčenja in manjšimi stroški. Imajo tudi velik potencial za uporabo na področjih, kot so monitoring okolja, medicinska diagnostika ter zagotavljanje kakovosti in varnosti živil in zdravil. So enostavni za uporabo in ne zahtevajo predhodnega znanja elektrokemije.

S SVOJIM PRISPEVKOM LAHKO VPLIVAM NA RAZVOJ DRUŽBE

Pri raziskovalnem delu me najbolj navdihuje občutek, da lahko s svojim prispevkom vplivam na razvoj družbe. Ideje se mi pogosto porodijo med pogovorom z mentorjem ali s sodelavci, ko iščemo rešitve za kompleksne primere ali razglabljam o različnih aktualnih temah. Črpam jih tudi iz prebiranja znanstvene literature in novic o dogajanju po svetu. Občutek, ko mi po dolgotrajnem delu v laboratoriju končno nekaj uspe, je nepopisen.

Z MENTORJEM SE PREMIKAŠ NAPREJ

Pri raziskovalnem delu je vloga mentorja vsekakor izjemno pomembna, saj je prav on tisti, ki omogoča in usmerja doktorski študij. Velikokrat pride trenutek, ko se kaj zalomi ali se znajdeš v slepi ulici. Takrat se pokaže, kako ključno vlogo ima mentor, saj z bogatimi izkušnjami, znanjem in idejami pomaga rešiti težavo, da se lahko premakneš naprej. Zato bi se rad iskreno zahvalil svojemu mentorju prof. dr. Matjažu Finšgarju za vso podporo, vodenje in nesebično predano znanje.

REŠEVANJE IZZIVOV V ZNANOSTI IN INDUSTRIJI

V prihodnosti bi se želel še bolj poglobiti v svet analize kemije, ki se dotika farmacije in medicine. Zanima me raziskovanje naprednih analiznih tehnik in reševanje kompleksnih izzivov v znanosti in industriji.

Sem vztrajen, trmast in deloven, rad imam izzive. Te lastnosti mi ne pomagajo le na raziskovalni poti, temveč tudi pri osebni rasti. Čeprav moje raziskovalno in strokovno delo zavzame velik del dneva, se trudim najti ravnovesje med delom in prostim časom. Že od mladih nog sem vpet v šport, kar mi pomaga pri sprostitvi in ohranjanju psihofizičnega ravnovesja. Rad igram tenis, tečem, kolesarim in smučam, uživam v pohodništvu, prav tako rad obiskujem glasbene festivale ter preživljam čas z družino in prijatelji.

KRKINE NAGRADE POTRJUJEJO DOSEŽKE IN ODPIRAJO VRATA PRIHODNJEMU SODELOVANJU

Leta 2021 sem prejel svojo prvo Krkino nagrado za magistrsko nalogo in dala mi je nov zagon za raziskovanje. Z letošnjo prijavo na razpis sem želel ugotoviti, kje je moje mesto v znanosti, ter svoje delo predstaviti širši javnosti. Velika Krkina nagrada je potrditev, da je moja raziskovalna smer pravilna. Verjamem, da so takšna priznanja izjemno pomembna, saj mlade raziskovalce motivirajo, odpirajo pa nam tudi nova vrata do sodelovanja z industrijsko sfero, kar je ključno za nadaljnji razvoj znanosti.

SPOROČILO MLADIM

Vztrajnost je ključ do uspeha. Pot v znanost ni vedno preprosta in pogosto zahteva veliko truda, predanosti in časa. Naj vas vodi želja po odkrivanju neznanega, radovednost, ki odpira vrata novim idejam, in strast, ki vas žene naprej, tudi ko ne gre vse po vaših načrtih.

NAJBOLJŠI NASVET

Kar lahko narediš danes, ne odlašaj na jutri.

ŽIVLJENJSKO VODILO

Rim ni bil zgrajen v enem dnevu.

Razvoj metod za določanje organskih molekul z uporabo modificiranih in nemodificiranih sitotiskanih ogljikovih elektrod

Kvalitativna in kvantitativna analiza organskih molekul je ključnega pomena za zagotavljanje varnosti, učinkovitosti, skladnosti z zakonodajo in kakovostjo na področjih okoljskega varstva, zdravstva ter živilske in farmacevtske industrije. V doktorski disertaciji smo razvili nove elektroanalizne metode z nemodificiranimi in modificiranimi sitotiskanimi ogljikovimi elektrodami (SPCE), ki se uporabljajo kot elektrokemijski senzorji za določanje epinefrina (EP), sečne kisline (UA), metil parationa (MP) in inzulina (IN) v različnih realnih vzorcih, kot so zdravila, človeški urin in pitna voda.

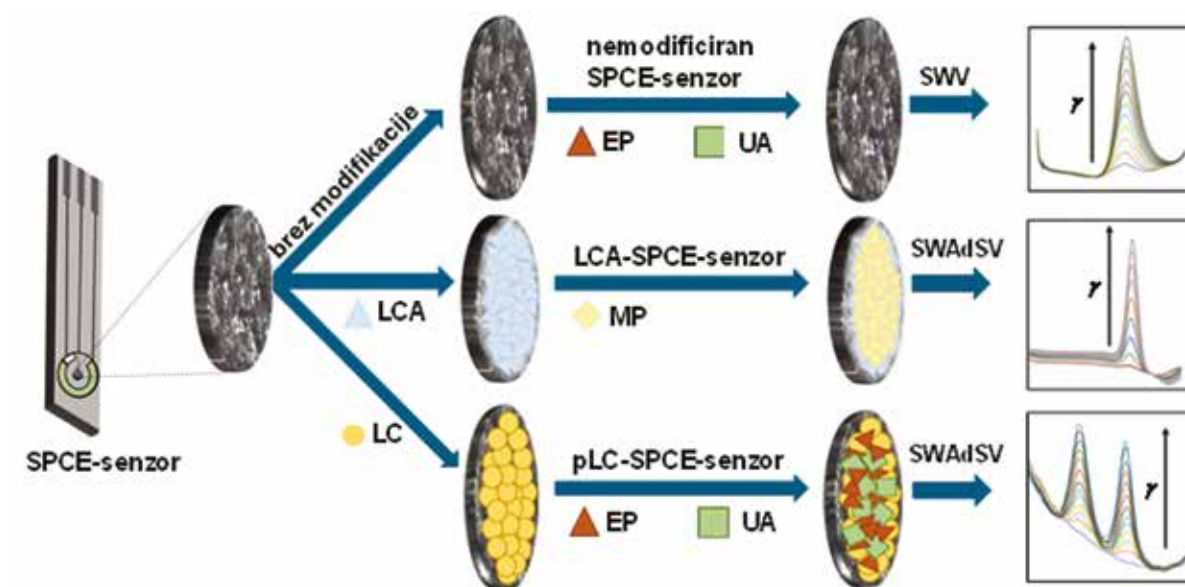
Individualno določanje EP in UA smo izvedli z uporabo nemodificiranega SPCE-senzorja, določanje MP z uporabo L-cisteinske kisline (LCA) modificiranega SPCE-senzorja (LCA-SPCE), simultano določanje EP in UA z uporabo s poli-L-cisteinom (pLC) modificiranega SPCE-senzorja (pLC-SPCE) in določanje IN z uporabo molekularno vtisnjenega polimera (MIP) modificiranega SPCE-senzorja (MIP-SPCE). Vse senzorje smo validirali in za vsakega določili mejo zaznavnosti, mejo določljivosti, linearno koncentracijsko območje, točnost in natančnost. Vse senzorje smo uporabili za analizo realnih vzorcev, kot so zdravila, človeški urin in pitna voda. Rezultati so bili znotraj zastavljenih mej točnosti in natančnosti.

Pri prvi razviti elektroanalizni metodi smo pokazali individualno določanje EP in UA, ki je potekalo z nemodificiranim SPCE-senzorjem, pri čemer smo razvili elektroanalizno metodo z analizo ene kapljice raztopine (slika 1). Prednost te analize je majhna količina potrebnega vzorca (50 µL), ni potrebe po uporabi elektrokemijske celice ter magneta za mešanje in magnetnega mešala. Zaradi heteroscedastičnosti eksperimentalnih podatkov, ki smo jo potrdili s statističnim F-testom, smo linearni regresijski model ovrednotili z uteženo metodo najmanjših kvadratov (WLS). WLS je v primerjavi z metodo najmanjših kvadratov pri obeh analitih izboljšala točnost pri nizkih koncentracijah linearnega koncentracijskega območja. Razviti in validirani metodi sta bili uspešno uporabljeni za določanje EP v zdravilu (injekcijski peresnik) in UA v človeškem urinu.

Za določanje človeku nevarnega organofosforjevega pesticida MP smo drugo elektroanalizno metodo razvili tako, da smo z LCA modificirali površino SPCE-senzorja, kar je omogočilo določanje pesticida MP v vzorcu pitne vode (slika 1). Uspešen nanos LCA-plasti na površino delovne elektrode LCA-SPCE-senzorja smo potrdili s tehniko masne spektrometrije sekundarnih ionov z analizatorjem na čas preleta (ToF-SIMS). Za doseganje stabilnega ozadja smo morali LCA-SPCE-senzor elektroaktivirati z voltametrijjo kvadratnega vala (square wave voltammetry, SWV). Prisotnost LCA na površini delovne elektrode SPCE-senzorja signifikantno okrepi SWV-signal, kar omogoča določanje MP v sledovih. Okrepitev signala za MP smo razložili z elektrokemijsko impedančno spektroskopijo. Določali smo najustreznejšo vrednost za 0,10 M raztopino fosfatnega pufra (PBS) in čas nalaganja, da bi dosegli višjo intenziteto SWV-signala. Razvita metoda je vključevala postopek odštevanja ozadja, ki je pripomogel k okrepitvi analitskega signala.

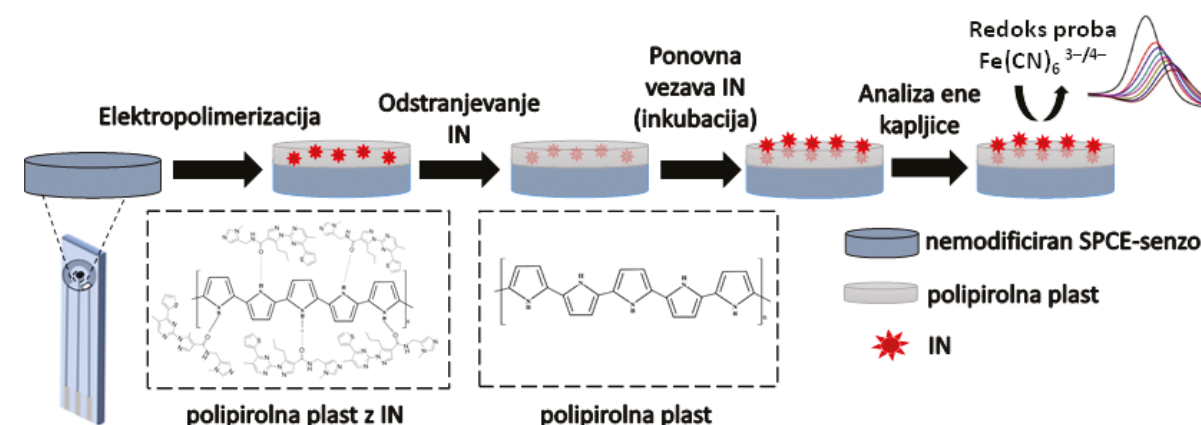
Pri razvoju tretje elektroanalizne metode smo na površino SPCE-senzorja naložili pLC-plast in nastali pLC-SPCE-senzor uporabili za simultano določanje EP in UA (slika 1). Uspešen nanos pLC-plasti na površino delovne elektrode SPCE-senzorja smo potrdili s tehniko ToF-SIMS. Za doseganje stabilnega ozadja smo pLC-SPCE-senzor elektroaktivirali s SWV. Za ta senzor smo optimizirali različne parametre kvadratnega vala (amplitudo, potencialni korak, frekvenco), pH 0,10 M PBS, čas elektronaganja, potencial elektronaganja, množinske koncentracije L-cisteina (LC) in števila ciklov elektropolimerizacije LC, da bi dosegli najboljšo elektroanalizno zmogljivost pLC-SPCE-senzorja. V optimiziranih pogojih smo validirali analizo metodo

za simultano določanje EP in UA. Prav tako smo izvedli študijo interferenc (glukoza, L-askorbinska kislina, K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , SO_4^{2-} , Mg^{2+} , NH_4^+ , $C_2O_4^{2-}$ in urea), ki so lahko prisotne v testiranih realnih vzorcih. Razvit in validiran pLC-SPCE-senzor smo uspešno uporabili za določanje EP v injekcijskem peresniku in UA v štirih vzorcih človeškega urina.



Slika 1. Shematski prikaz uporabe nemodificiranega SPCE-senzorja za individualno določanje EP in UA, zasnovi LCA-SPCE-senzorja za določanje MP in pLC-SPCE-senzorja za simultano določanje EP in UA.

V četrti študiji smo razvili elektroanalizno metodo za določanje klinično pomembnega biomarkerja IN. Uporabili smo SPCE-senzor, ki smo ga modificirali z MIP (slika 2). MIP-SPCE-senzor smo razvili tako, da smo najprej s ciklično voltametrijjo elektropolimerizirali pirol v prisotnosti IN. Iz nastale polipirolne plasti smo odstranili molekule IN ter tako tvorili praznine z vezavnimi mesti za molekule IN. Odstranjevanje IN smo poskušali izvesti z elektročiščenjem v 0,01 M PBS in z uporabo 1,00 M NaOH. Ugotovili smo, da je ustrezen postopek elektročiščenje, saj se je pri odstranjevanju z 1,00 M NaOH poškodovala površina senzorja. Elektročiščenju je sledila inkubacija molekul IN, ki so se vezale na tvorjena vezavna mesta (praznine) na MIP-SPCE-senzorju. Vsak korak zasnovi MIP-SPCE-senzorja smo karakterizirali s tehnikami, kot so mikroskopija na atomsko silo, vrstična elektronska mikroskopija na emisijo polja in energijsko disperzijska X-žarkovna spektroskopija. Določanje IN z razvitim MIP-SPCE-senzorjem je potekalo z analizo ene kapljice raztopine, ki je vsebovala redoks probo $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$. Elektroanalizno metodo z razvitim MIP-SPCE-senzorjem smo validirali in prikazali njeno uporabo za določanje IN v zdravilu (injekcijski vložek).



Slika 2. Shematski prikaz zasnovi senzorja MIP-SPCE za določanje IN.

Method Development for Determination of Organic Molecules Using Modified and Unmodified Screen-Printed Carbon Electrodes

The qualitative and quantitative analysis of organic molecules is crucial for ensuring safety, efficacy, regulatory compliance, and quality in environmental protection, healthcare, as well as food and pharmaceutical industries. In the doctoral dissertation, new electroanalytical methods were developed using unmodified and modified screen-printed carbon electrodes (SPCE), which serve as electrochemical sensors for the determination of epinephrine (EP), uric acid (UA), methyl parathion (MP), and insulin (IN) in various real samples, such as drugs, human urine, and drinking water.

Individual determination of EP and UA was performed using an unmodified SPCE sensor, the determination of MP using an L-cysteic acid (LCA) modified SPCE sensor (LCA-SPCE), simultaneous determination of EP and UA using poly-L-cysteine (pLC) modified SPCE sensor (pLC-SPCE), and the determination of IN using a molecularly imprinted polymer (MIP) modified SPCE sensor (MIP-SPCE). All sensors were validated, and the limit of detection, limit of quantification, linear concentration range, accuracy, and precision were determined for each sensor. All sensors were used for the real sample analysis of drugs, human urine, and drinking water, and the results were within the set limits of accuracy and precision.

In the first method developed, the individual determination of EP and UA was demonstrated using an unmodified SPCE sensor, and an electroanalytical method was developed with single-drop analysis of the solution (Figure 1). The advantage of single-drop analysis is the small amount of sample required (50 μ l), without the need for an electrochemical cell, a stirring magnet, and a magnetic stirrer. Due to the heteroscedasticity of the experimental data, which was confirmed using a statistical F-test, the linear regression model was evaluated using the weighted least squares method (WLS). Compared to the ordinary least squares method, the WLS improved the accuracy at low concentrations of the linear concentration range for both analytes. The developed and validated methods were successfully used for the determination of EP in a drug (an autoinjector) and UA in human urine.

To determine toxic organophosphorus pesticide MP, a second electroanalytical method was developed by modifying the surface of the SPCE sensor with LCA, which enabled the determination of the pesticide MP in a drinking water sample (Figure 1). The successful deposition of the LCA layer on the working electrode surface of the LCA-SPCE sensor was confirmed by the time-of-flight secondary ion mass spectrometry (ToF-SIMS) technique. The electroactivation of the LCA-SPCE sensor was performed using square-wave voltammetry (SWV) to achieve a stable background. The signal of SWV technique was significantly enhanced by the presence of LCA on the working electrode of the SPCE sensor, which enabled the analysis of MP in trace amounts. The increase in the signal for MP was also explained using the electrochemical impedance spectroscopy technique. The most suitable values for 0.10 M phosphate buffer solution (PBS) and the deposition time were determined to achieve the highest SWV signal. The method developed included a background subtraction process that enhanced the analytical signal.

In the development of the third electroanalytical method, a poly-L-cysteine (pLC) layer was electrodeposited on the surface of the SPCE sensor, and this pLC-SPCE sensor was used for the simultaneous determination of EP and UA (Figure 1). The successful position of the pLC layer on the working electrode of the SPCE sensor was confirmed using the ToF-SIMS technique. The electroactivation of the pLC-SPCE sensor was performed using SWV to achieve a stable background. Various square-wave parameters (amplitude, potential step, frequency), the pH of 0.10 M PBS, the electrodeposition time, electrodeposition potential, molar concentrations of L-cysteine (LC), and the number of cycles of LC electropolymerisation were

optimised to achieve the best electroanalytical performance of the pLC-SPCE sensor. Under these optimised conditions, the analytical method for the simultaneous determination of EP and UA was validated. A study of interferences (glucose, L-ascorbic acid, K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , SO_4^{2-} , Mg^{2+} , NH_4^+ , $C_2O_4^{2-}$ in urea) that could be present in the tested real samples was also performed. The developed and validated pLC-SPCE sensor was successfully used to determine EP in an autoinjector and UA in four human urine samples.

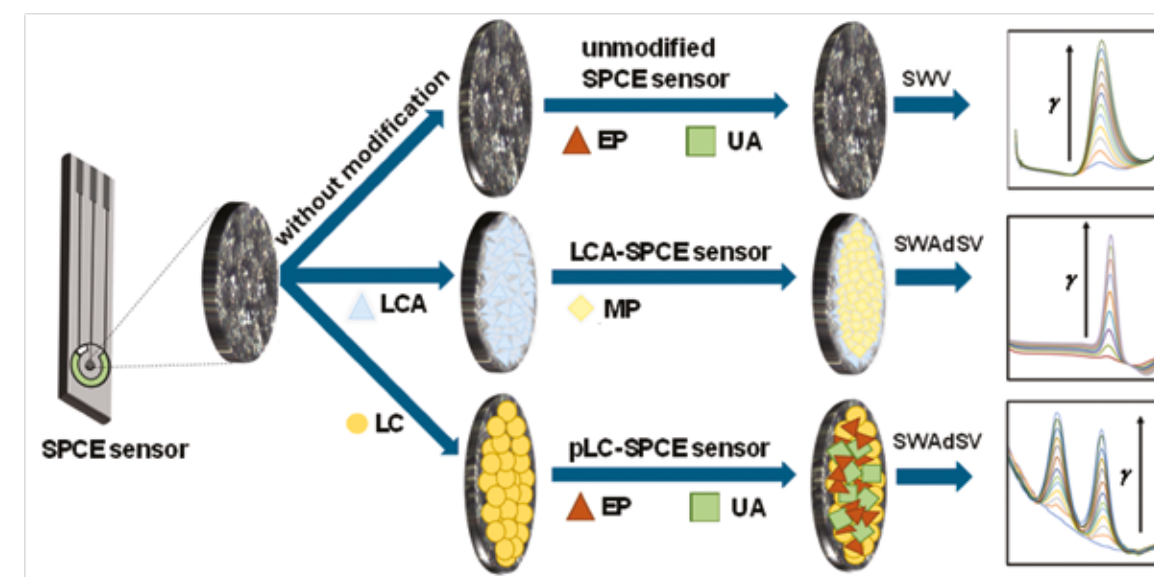


Figure 1. Schematic illustration of using an unmodified SPCE sensor for individual determination of EP and UA, the design of an LCA-SPCE sensor for MP determination, and a pLC-SPCE sensor for simultaneous determination of EP and UA.

In the fourth study, an electroanalytical method for determining the clinically important biomarker IN was developed. An SPCE sensor was modified with MIP (Figure 2). In the first step of the development of the MIP-SPCE sensor, pyrrole was electropolymerised in the presence of IN using cyclic voltammetry. Then, IN molecules were removed from the formed polypyrrole layer, creating cavities with binding sites for IN molecules. The removal of IN was attempted using electrocleaning in 0.01 M PBS or by using 1.00 M NaOH. It was found that electrocleaning was the appropriate method for IN removal, as the removal using 1.00 M NaOH resulted in damage to the sensor surface. After electrocleaning, the binding of IN molecules to the formed binding sites (cavities) on the MIP-SPCE sensor was then achieved by incubation. Each step of MIP-SPCE design was characterised using techniques such as atomic force microscopy, field emission scanning electron microscopy, and energy dispersive X-ray spectroscopy. The determination of IN with the developed MIP-SPCE sensor was performed using single-drop analysis of the solution containing a redox probe $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$. The electroanalytical method using the developed MIP-SPCE sensor was validated, and its application for the determination of IN in a drug (a cartridge) was demonstrated.

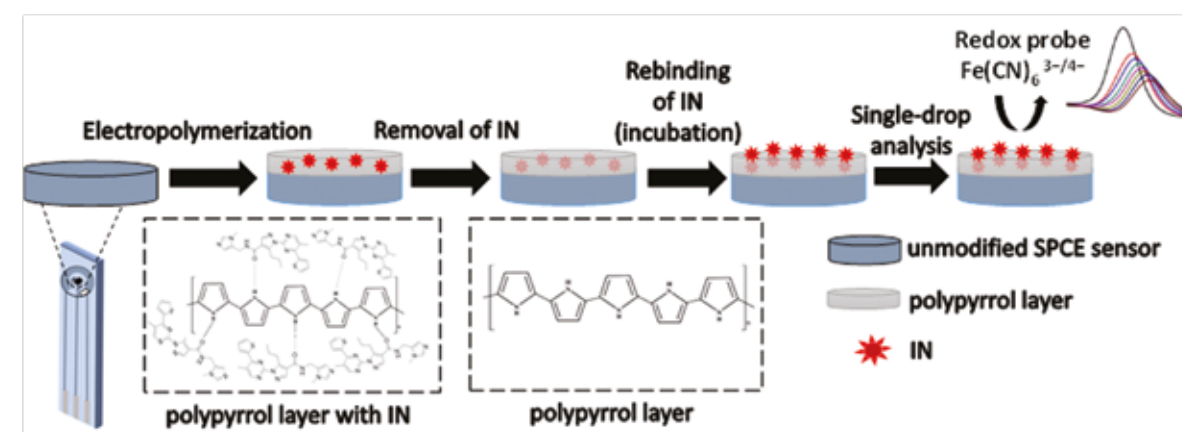


Figure 2. Schematic illustration of the MIP-SPCE sensor design for IN determination.

DR. ČRT DRAGAR

Prihaja iz Zagorja ob Savi, kjer je tudi obiskoval osnovno šolo. Kot otroka ga je zanimalo praktično vse. Že kot majhnemu fantu mu je bilo težko dopovedati, da ne more obiskovati dveh dejavnosti, ki potekata hkrati. Šolanje je nadaljeval na Gimnaziji in ekonomski srednji šoli Trbovlje, kjer se je dokončno navdušil nad naravoslovjem in se po opravljeni splošni maturi kot zlati maturant vpisal na Fakulteto za farmacijo Univerze v Ljubljani. Kmalu po začetku študija in prvih nalogah v laboratoriju je spoznal, da ga privlači raziskovalno delo, zato se je že kot študent uveljavil z raziskovanjem na področju farmacevtske nanotehnologije in naprednih dostavnih sistemov. Želja po novih izzivih ga je vodila na Univerzo v Gradcu, kjer je opravil raziskovalno delo za magistrsko nalogo. Kot mladi raziskovalec se je nato zaposlil na Fakulteti za farmacijo, Univerze v Ljubljani, danes pa je tam asistent.



Vsega se lotim 100-odstotno

MAGNETNI NANODELCI ZA SOČASNO DIAGNOSTIKO IN ZDRAVLJENJE RAKAVIH BOLEZNI

Moje primarno področje raziskovanja je že od začetka farmacevtska nanotehnologija, predvsem nanodostavni sistemi, kot so magnetni nanodelci, nanovlakna, trdni lipidni nanodelci, polimerni nanodelci in nanosuspenzije. K odločitvi za delo na tem področju so pomembno prispevali predvsem želja po odkrivanju novega, zanimanje za farmacevtsko tehnologijo in spodbuda moje takratne asistentke Tanje Potrč. Dokaj hitro sem spoznal tudi, da je področje nadvse zanimivo ter polno presenečenj in izzivov.

Moja raziskovalna naloga predstavlja majhen, a pomemben del v mozaiku znanja, ki je potrebno za zagotavljanje varnosti, učinkovitosti in kakovosti magnetnih nanodelcev za uporabo v biomedicini. Magnetni nanodelci namreč kažejo velik potencial za uporabo na najrazličnejših področjih biomedicine, med drugim za sočasno diagnostiko in zdravljenje rakavih bolezni. Kljub intenzivnim raziskavam v zadnjem času pri njihovem razvoju ostajajo številni izzivi, ki ovirajo njihov prenos v klinično uporabo. Z raziskovalnim delom v okviru doktorske disertacije smo odprli nekatera nova raziskovalna vprašanja in obravnavali nekaj ključnih tehnoloških izzivov, kar bo vsekakor pomembno vplivalo na nadaljnji razvoj magnetnih nanodelcev in njihov prenos v klinično uporabo v biomedicini.

RADOVEDNOST IN VZTRAJNOST KOT GIBALO NAPREDKA

Pri raziskovalnem delu me najbolj navdihujeta radovednost in želja po reševanju kompleksnih, na prvi pogled nerešljivih problemov. Najboljše ideje pogosto pridejo nepričakovano – med sestanki, na hodnikih fakultete, med tekom, kolesarjenjem ali drugimi dejavnostmi v naravi.

MENTOR JE VODNIK PO NEPOZNANEM SVETU

Mentor ima ključno vlogo v raziskovalnem procesu, saj vodi mladega raziskovalca po novem in nepoznanem svetu. Pri tem ga ne samo usmerja, temveč mu tudi daje kritične povratne informacije in spodbudo, ki je ključna za osebno in strokovno rast. Moja mentorica prof. dr. Petra Kocbek in somentor doc. dr. Slavko Kralj sta me med celotnim študijem in raziskovalnim delom

podpirala in usmerjala ter sta svoje delo odlično opravila.

LAHKO PREMIKAMO MEJE MOGOČEGA

Znanstvenoraziskovalno delo nedvomno zahteva veliko časa, pomembno pa je, da ne pozabimo nase in na bližnje. Menim, da je osnova za uspešno profesionalno delo izpopolnjujoče zasebno življenje. Vedno težim k temu, da imam poleg profesionalnega dela dovolj časa tudi za družino, prijatelje in konec koncev zase. Rad sem v naravi, kolesarim, tečem in hodim v hribe.

Svoj znanstveni potencial si v prihodnje želim usmeriti predvsem v raziskave in razvoj dostavnih sistemov oziroma zdravil, s čimer bi prispeval k izboljšanju zdravja ljudi. Čar raziskovalnega dela farmacevta je zame namreč v tem, da lahko premikamo meje mogočega in tako pomagamo številnim ljudem na našem planetu.

Sem precej natančen in organiziran, včasih tudi trmast. Vsega se lotim 100-odstotno in ne maram nedokončanih zadev, izzivov ali podvigov, pa naj bo to v profesionalnem ali zasebnem življenju.

KRKINA NAGRADA DAJE DODATEN ZAGON

Krkine nagrade imajo zavirljivo tradicijo povezovanja znanosti, kar jih postavlja v sam vrh priznanj za raziskovalno delo v slovenskem prostoru. Velika Krkina nagrada pomeni priznanje za moje dosedanje delo ter mi daje dodatno motivacijo za nadaljnje raziskave in prenašanje ugotovitev temeljnih raziskav v klinično uporabo.

SPOROČILO MLADIM

Uživajte v tem, kar počnete, in vztrajajte pri raziskovalnem delu ne glede na izzive, ki jih to prinaša. Ključ do uspeha sta dober načrt in ravnovesje med zasebnim in profesionalnim življenjem. Pomembno je, da se zavedate tudi pomena podpore svojih bližnjih, saj je ta ključna za dolgoročen uspeh.

NAJBOLJŠI NASVET

Kar delaš, delaj s srcem, in ne pozabi, od kod prihajaš.

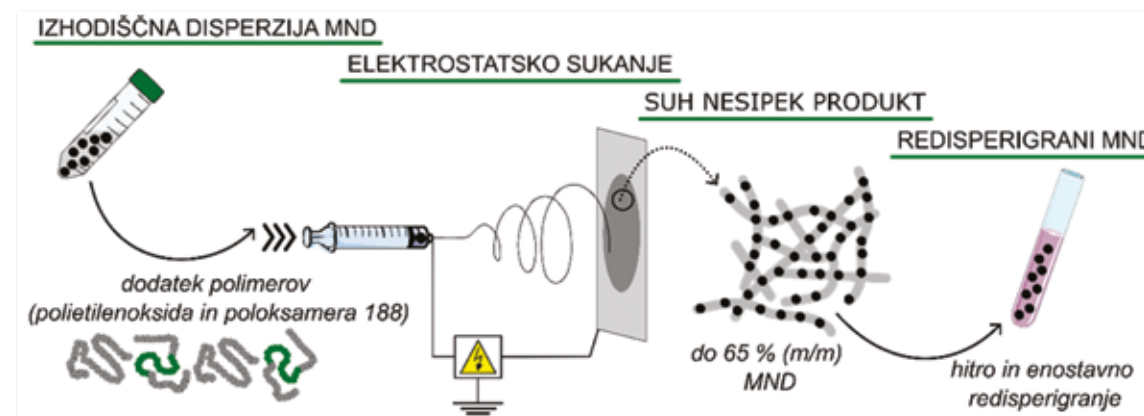
ŽIVLJENJSKO VODILO

Dobro se z dobrim vrača.

Razvoj nanovlaken z magnetnimi nanodelci za uporabo v biomedicini

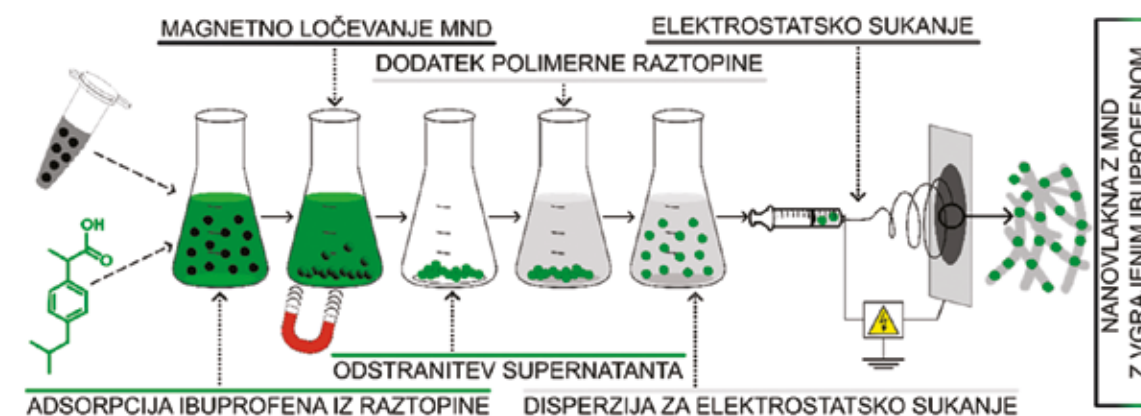
Edinstvene fizikalne, kemijske in biološke lastnosti nanomaterialov, to je materialov z vsaj eno razsežnostjo v območju od nekaj nm do 1000 nm, so v zadnjih desetletjih pritegnile izjemno pozornost na različnih področjih, kot so kemija, fizika, elektrotehnika, energetika, tisk, kmetijstvo, živilska industrija, računalništvo, kozmetika in biomedicina. Med različnimi nanomateriali zlasti nanovlakna in nanodelci kažejo velik potencial za uporabo v biomedicini, na primer za dostavo zdravilnih učinkovin, regeneracijo tkiv, oskrbo ran, diagnostiko in teranostiko. Od nanodelcev so v zadnjem času največ zanimanja pritegnili magnetni nanodelci (MND) na osnovi železovega oksida, zlasti maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) in magnetita (Fe_3O_4), ki pri velikostih < 20 nm kažejo superparamagnetne lastnosti in se v odsotnosti zunanega magnetnega polja obnašajo kot nemagnetni material. MND imajo kot gradniki večnamenskih sistemov, tako imenovanih nanoteranostikov, velik potencial v diagnostiki in zdravljenju, zlasti rakavih bolezni. Kljub številnim novim spoznanjem o MND, ki so rezultat intenzivnih raziskav, ostaja pri njihovem razvoju še veliko izzivov, ki ovirajo njihov prenos iz raziskav v klinično uporabo. To so med drugim stabilnost disperzij MND, vgrajevanje učinkovin v dostavne sisteme na osnovi MND in varnost MND. V okviru doktorske disertacije smo se osredotočili na povezovanje dveh obetavnih nanomaterialov za uporabo v biomedicini, in sicer nanodelcev in nanovlaken, da bi obravnavali ključne izzive pri razvoju MND. V raziskavah uporabljeni MND so bili superparamagnetni nanodelci železovega oksida (maghemita) ali njihovi nanoskupki z oblogo iz silicijevega dioksida z različno velikostjo por.

V prvem delu raziskav smo se osredotočili na izboljšanje fizikalne stabilnosti disperzij MND. Metodo elektrostatskega sukanja smo prilagodili in uporabili kot inovativno metodo za pretvorbo disperzij MND v suh nesipek produkt z veliko vsebnostjo MND, ki omogoča preprosto in hitro redispergiranje MND v vodnem mediju (slika 1). Za izdelavo suhega produkta, tj. nanovlaken, smo uporabili polietilenoksid in poloksamer 188 v masnem razmerju 1 : 1, ki sta pomembno izboljšala odpornost MND proti disperznemu mediju s fiziološkemu okolju primerljivo ionsko močjo (fiziološki raztopini) ter tako povečala kratkoročno stabilnost MND v disperziji. Poleg tega smo potrdili, da je koncentracija polimerov tesno povezana z viskoznostjo in električno prevodnostjo disperzije za elektrostatsko sukanje, kar je pomembno vplivalo na morfologijo suhega produkta, ne pa tudi na ohranjanje lastnosti MND med sušenjem. Pokazali smo, da vsebnost MND v suhem produktu ne vpliva bistveno na nastanek nanovlaken, pomembno pa vpliva na ohranjanje lastnosti MND med sušenjem. Tako smo ugotovili, da je največja vsebnost MND v nanovlaknih, ki je še omogočala hitro in preprosto redispergiranje MND, 65 % (m/m). Poleg tega smo dokazali, da na največjo mogočo vsebnost MND v nanovlaknih pomembno vpliva tudi vrsta uporabljenih MND. Produkti elektrostatskega sukanja so bili pri sobni temperaturi in relativni vlažnosti < 70 % stabilni do enega meseca.



Slika 1. Uporaba elektrostatskega sukanja kot inovativne metode za pretvorbo disperzij MND v suh nesipek produkt z veliko vsebnostjo MND, ki omogoča njihovo preprosto in hitro redispergiranje.

V drugem delu raziskav smo se posvetili vgradnji zdravilne učinkovine v mezoporozno oblogo MND, čemur je sledila takojšnja pretvorba disperzije MND z zdravilno učinkovino v suho obliko. Najprej smo proučili vpliv različnih fizikalno-kemijskih lastnosti izbranih zdravilnih učinkovin (ibuprofena, karvedilola, paracetamola, metforminijevega klorida) na lastnosti hidrofilnih nanovlaken. Pokazali smo, da proučevane lastnosti zdravilnih učinkovin pomembno vplivajo na lastnosti nanovlaken, kot so morfologija, hidrofobnost površine in hitrost sproščanja vgrajene učinkovine. To bi lahko ključno vplivalo na terapevtsko učinkovitost in varnost dostavnih sistemov na osnovi nanovlaken. Razvili smo tudi metodo za vgrajevanje zdravilne učinkovine v mezoporozno oblogo MND, ki je temeljila na adsorpciji zdravilne učinkovine iz etanolne raztopine, in jo sklopili s takojšnjo pretvorbo disperzije MND v suho obliko z metodo elektrostatskega sukanja, da bi preprečili morebitno agregiranje MND in sproščanje zdravilne učinkovine iz MND v disperzijo med shranjevanjem (slika 2). Uspelo nam je narediti homogena nanovlakna, ki so vsebovala ~ 20 % (m/m) MND in $\sim 4,2$ % (m/m) ibuprofena, pri čemer je bil del zdravilne učinkovine vgrajen v oblogo MND, preostanek pa v ogrodje nanovlaken. Ugotovili smo, da premer por, specifična površina ali skupna prostornina por v oblogi iz mezoporoznega silicijevega dioksida niso vplivali na zmogljivost MND za vgradnjo učinkovine in hitrost njenega sproščanja iz MND.



Slika 2. Postopek vgrajevanja zdravilne učinkovine v mezoporozno oblogo MND, ki mu takoj sledi pretvorba disperzije MND v suh nesipek produkt.

V zadnjem delu raziskav smo prvi sistematično proučili vpliv morfologije površine oziroma velikosti por s silicijevim dioksidom obloženih MND na odziv celic *in vitro*. Ugotovili smo, da so MND z manjšimi porami na površini v 24 urah varnejši za humane keratinocite v koncentracijah med 25 in 200 $\mu\text{g/mL}$ kot MND z večjimi porami. Z raziskavami smo prišli do novih spoznanj, ki so pomembna za načrtovanje in razvoj MND za uporabo v biomedicini. Z razvitimi inovativnimi pristopi smo odprli nove možnosti za raziskave in obravnavali nekatere ključne tehnološke izzive v razvoju MND ter tako prispevali delček v mozaik znanja, potrebnega za zagotavljanje varnosti, učinkovitosti in kakovosti MND za uporabo v biomedicini.

Development of Nanofibers with Magnetic Nanoparticles for Biomedical Applications

The unique physical, chemical, and biological properties of nanomaterials, i.e. materials with at least one dimension in the range of a few nm to 1000 nm, have gained significant attention in recent decades across various fields such as chemistry, physics, electrical engineering, energy, printing, agriculture, food industry, computing, cosmetics, and biomedicine. Nanofibers and nanoparticles show a great potential for applications in biomedical fields, e.g. for drug delivery, tissue regeneration, wound care, diagnostics, and theranostics. Among various types of nanoparticles, magnetic nanoparticles (MNPs) based on iron oxide, particularly maghemite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) and magnetite (Fe_3O_4), have attracted the most interest in recent years. These particles, when smaller than 20 nm, exhibit superparamagnetic properties, behaving as non-magnetic materials in the absence of an external magnetic field. As building blocks of multifunctional systems, i.e. nanotheranostics, MNPs have great potential, especially in cancer diagnostics and therapy. Despite numerous recent discoveries about MNPs, driven by intensive research, many challenges remain, hindering the transition of MNPs from research to clinical use. These challenges include the stability of MNP dispersions, drug loading into MNP-based drug delivery systems, and the safety of MNPs. Thus, in this doctoral dissertation, we focused on combining two promising nanomaterials in biomedicine, namely nanoparticles and nanofibers, to address the key challenges in MNP development. As MNPs, we used superparamagnetic iron oxide nanoparticles (maghemite, $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) or their nanoclusters with silica coatings of varying pore sizes.

In the first part of the research, we focused on improving the physical stability of MNP dispersions. We adopted electrospinning and employed it as an innovative method to transform MNP dispersions into a dry, non-powdered product with a high MNP content that allows easy and rapid reconstitution of MNPs in an aqueous medium (Figure 1). As nanofiber-forming polymers, we used polyethylene oxide and poloxamer 188 in a 1 : 1 mass ratio, which significantly improved the resistance of MNPs to the dispersion medium with physiological ionic strength (saline solution), thereby increasing the short-term stability of MNPs in dispersion. Furthermore, we confirmed that the concentration of polymers was closely related to the viscosity and electrical conductivity of the dispersion for electrospinning, which significantly affected the morphology of the dry product. However, this did not influence the preservation of MNP properties during drying. We demonstrated that the MNP content in the dry product did not significantly affect the formation of nanofibers but did play a critical role in maintaining MNP properties during the drying process. We determined that the highest MNP content in nanofibers that still allowed the rapid and easy reconstitution of MNPs was 65% (w/w). Additionally, we showed that the type of MNPs used significantly influenced the highest MNP content in nanofibers. The prepared electrospun dry products were stable at room temperature and relative humidity of <70% for up to one month.

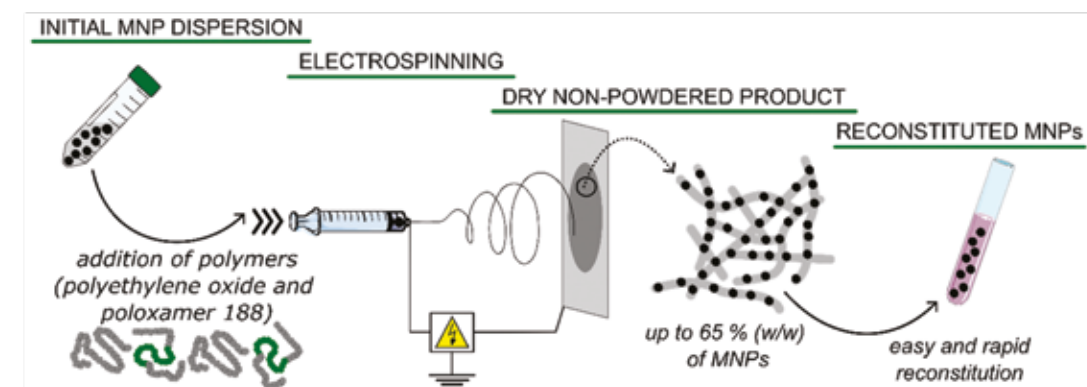


Figure 1. Electrospinning as an innovative method to transform MNP dispersions into a dry, non-powdered product with a high MNP content that allows easy and rapid reconstitution of MNPs.

In the second part of the research, we focused on drug loading into MNP-based drug delivery systems, followed by the immediate conversion of drug-loaded MNP dispersions into a dry form. We first examined the influence of different physicochemical properties of selected drugs, namely ibuprofen, carvedilol, paracetamol, and metformin hydrochloride, on the properties of hydrophilic nanofibers. We showed that the investigated drug properties significantly affected the morphology, surface hydrophobicity, and drug release rate from the nanofibers, which could critically influence the therapeutic efficacy and safety of nanofiber-based delivery systems. Furthermore, we developed a drug-loading method for MNPs coated with mesoporous silica, which was based on the drug adsorption from the ethanol solution. This was coupled with the immediate transformation of the resulting drug-loaded MNP dispersion into a dry form using the electrospinning method to prevent potential MNP aggregation and drug release from MNPs into the dispersion during storage (Figure 2). We successfully prepared homogeneous nanofibers with ~20% (w/w) MNPs and ~4.2% (w/w) ibuprofen, where part of the drug was incorporated into the MNP coating and the rest into the nanofiber matrix. We demonstrated that the capacity of MNPs for drug loading and the drug release rate from MNPs were not affected by pore diameter, specific surface area, or the total pore volume of the mesoporous silica coating.

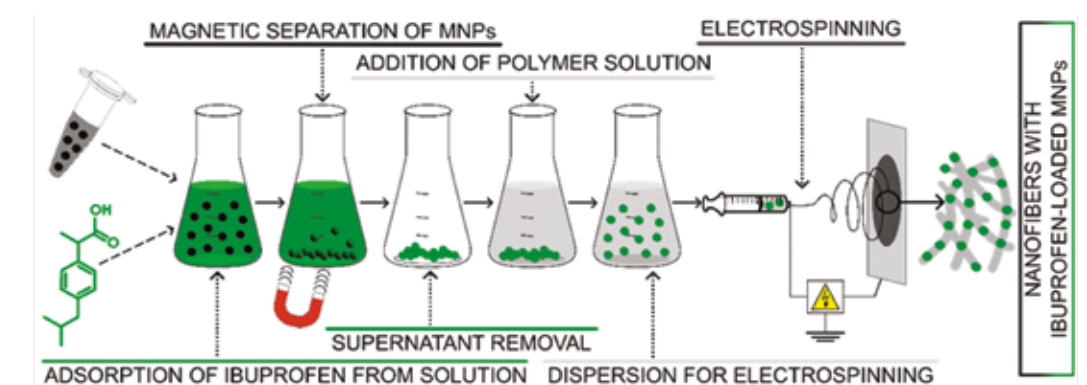


Figure 2. The procedure for drug loading of MNPs coated with mesoporous silica, followed by the immediate transformation of the drug-loaded MNP dispersion into dry non-powdered product.

In the final part of the research, we conducted the first systematic evaluation of the influence of surface morphology or the pore size of silica-coated MNPs on the biological response of cells *in vitro*. We showed that MNPs with smaller surface pores after 24 hour exposure were safer for human keratinocytes in concentrations between 25 $\mu\text{g/ml}$ and 200 $\mu\text{g/ml}$, compared to MNPs with larger pores. With these studies, we contributed a new insight important for the design and development of MNPs for biomedical applications. With the developed innovative approaches, we opened new avenues for research and addressed some of the key technological challenges in MNP development, thus contributing our piece to the growing mosaic of knowledge necessary to ensure the safety, efficacy, and quality of MNPs for biomedical applications.



54. KRKINE NAGRADE
54th KRKA PRIZES

KRKINE NAGRADE

KRKA PRIZES

POVZETKI
ABSTRACTS

Aleša Bricelj, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: **Izidor Sosič**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: **Marko Anderluh**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Načrtovanje, sinteza in vrednotenje himernih molekul za inducirano razgradnjo proteinov, vpletenih v patogenezo malignih obolenj

Velika večina proteinov, vključenih v patogenezo malignih obolenj, spada v del proteoma, ki je težko dostopen za modulacijo z malimi molekulami. Za ciljanje tovrstnih proteinov potrebujemo alternativne farmakološke metode zdravljenja, kot so pristopi tarčne razgradnje proteinov. S svojim delovanjem sprožijo znižanje celičnih ravni tarčnega proteina in s tem odpravijo njegovo biološko funkcijo. Nadvse perspektivne so himerne molekule PROTAC (*proteolysis-targeting chimera*), ki prek ubikvitin-proteasomskega sistema sprožijo razgradnjo tarčnega proteina. Sestavljene so iz liganda za vezavo na tarčni protein, distančnika in liganda za vezavo na ligazo E3. Po vezavi se tvori ternarni kompleks, sledita ubikvitinacija tarčnega proteina in njegova razgradnja s proteasomom. V disertaciji poročamo o poskusih implementacije metodologije PROTAC na nabor tarč, vključenih v patogenezo malignih obolenj. Za modulacijo delovanja regulatorjev celičnega cikla CDK4/6 smo iz neselektivnega zaviralca pripravili dualne razgrajevalce CDK4/6 in selektivne razgrajevalce CDK6. Osredotočili smo se tudi na proteine, vključene v intrinzično pot apoptoze. Pripravljene spojine, ki ciljajo Bcl-2, sicer niso dosegle selektivne razgradnje, so pa zmanjšale celično viabilnost. Raziskovali smo tudi proapoptotske proteine iz družine apoptozo zavirajočih proteinov (IAP) ter opisali spojine za selektivno razgradnjo XIAP in razgrajevalce pan-IAP. Posvetili smo se tudi optimizaciji ligandov za ligaze E3, predvsem za cereblon, ki pomeni pomemben prispevek k širšemu področju.

Aleša Bricelj, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: **Izidor Sosič**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: **Marko Anderluh**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Design, Synthesis and Evaluation of Chimeric Molecules for Induced Degradation of Proteins Involved in Pathogenesis of Malignancies

Most of the proteins involved in the pathogenesis of malignancies are part of the undruggable proteome. To modulate the biological activity of such proteins, alternative pharmacological modalities are needed. Targeted protein degradation-based approaches have many advantages of event-driven pharmacological models, among most promising being proteolysis-targeting chimeras (PROTACs). These chimeric molecules consist of a protein of interest binder, a linker, and an E3 ligase ligand. Upon binding, a ternary complex is formed, leading to ubiquitination and proteasomal degradation of the target protein. Herein, we report our attempts at utilising PROTACs to target a panel of proteins involved in malignancies. To modulate the activity of the cell cycle regulators CDK4/6, we converted a non-selective inhibitor into a dual CDK4/6 and even selective CDK6 degraders. We also focused on proteins that serve as regulators of the intrinsic pathway of apoptosis. A series of PROTACs targeting Bcl-2 failed to selectively degrade the protein, yet showed the desired antiproliferative activity when tested on haematological cell lines. In addition, we investigated proapoptotic members of the IAP protein family, where implementation of the hetero PROTAC approach resulted in both pan-IAP and selective XIAP degradation. Moreover, we dedicated a significant portion of our work to the optimisation of E3 ligase ligands, especially for cereblon, the results of which will serve the broader PROTAC field for the development of the next generation of degraders.

Andrej Grobin, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: **Jurij Trontelj**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: **Robert Roškar**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Vrednotenje obremenitve slovenskih vod s hormoni in izbranimi motilci endokrinega sistema

Kemični motilci endokrinega sistema (KMES) so med najpomembnejšimi okoljskimi onesnaževali in pomenijo veliko tveganje za škodljive učinke. V globalni študiji smo ugotovili pomanjkljive podatke o pojavnosti in ekotoksikološkem potencialu (EP) spojin. Za bisfenol B smo pokazali EP, podcenjen za štiri velikostne razrede. Razvili in obsežno validirali smo ultraobčutljivo analizo metodo za kvantitativno vrednotenje pojavnosti 25 različnih naravnih hormonov, sinteznih steroidov (SS) in bisfenolov v okolju. V analizi več kot 200 vzorcev odpadnih in rečnih vod (RV) smo kvantificirali 16 KMES. Najvišje so bile koncentracije bisfenolov S, A in F, estriola in klormadinona. Prisotnost BPA, estradiola, BPS in estrona pomeni veliko tveganje v večini, prisotnost SS pa v desetini vzorcev RV. Ugotovili smo, da so čistilne naprave v splošnem uspešne pri odstranjevanju KMES in da obremenitev RV sledi letnemu ciklu. Tako je pozimi šestkrat večja kot pomladi, pri čemer so tveganja večja od velikega za dva velikostna razreda. V pitnih vodah BPS pomeni veliko tveganje kar v dveh tretjinah vzorcev. Na celični liniji hER α -HeLa-9903 smo pokazali, da je estrogenska aktivnost (EA) izbranih KMES aditivna in da njihova zmes pri koncentracijah pod tistimi z učinkom kaže merljive učinke. Na noretindronu smo pokazali, da različne tehnike razgradnje učinkovito znižajo njegovo začetno koncentracijo, a so tretirani vzorci v testu *in vitro* pokazali delno zmanjšanje ali povečanje EA. Pri tem smo eksperimentalno potrdili nastanek 17 pretvorbenih produktov, zanje z metodami *in silico* pokazali EA in potrdili okoljsko prisotnost sedmih od njih.

Andrej Grobin, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: **Jurij Trontelj**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: **Robert Roškar**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Evaluation of Slovenian Waters Burden with Hormones and Selected Endocrine Disruptors

Endocrine disruptors (ED) are one of the most important environmental contaminants which pose great risks for adverse effects. In a global study, we found a lack of occurrence and ecotoxicological potential (EP) data for many EDs. For bisphenol B, we showed that EP was underestimated by four orders of magnitude. We have developed and extensively validated an ultra-sensitive analytical method for the quantitative determination of the presence of 25 natural hormones, synthetic steroids (SS), and bisphenols. By analysing over 200 samples of waste and river waters (RW), we quantified 16 EDs, with the highest concentrations of bisphenols S, A and F, estriol, and chlormadinone. The presence of BPA, estradiol, BPS, and estrone poses high risks in the majority, and the presence of SSs in one tenth of RW samples. Wastewater treatment plants are generally successful in removing EDs. ED burden follows an annual cycle, being sixfold higher in winter than in spring, with risks higher than high by two orders of magnitude. The presence of BPS in drinking water poses a high risk in two-thirds of samples. On the cell line hER α -HeLa-9903, we have shown additive estrogenic effects (EE) of selected EDs and measurable effects for a mixture in subeffective concentrations. On norethindrone, we have shown that different treatment techniques were effective in reducing its initial concentration, but *in vitro*, the treated samples showed partially decreased or increased EE. Concurrently, we have experimentally confirmed the formation of 17 transformation products, shown their EE using *in silico* methods, and confirmed the environmental presence of seven of them.

Maja Kokot, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: **Nikola Minovski**, Kemijski inštitut Ljubljana
Somentorica: **Martina Hrast Rambaher**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Strukturno podprto načrtovanje in optimizacija selektivne toksičnosti novih zaviralcev bakterijske topoizomeraze tipa II

Bakterijske topoizomeraze tipa II, med katere spadata DNA-giraza in topoizomeraza IV (topoIV), so potrjene in dobro proučene tarče v protibakterijskem zdravljenju. V raziskovalnem delu smo razvili optimizirane zaviralce bakterijskih topoizomeraz tipa II (*novel bacterial topoisomerase inhibitors, NBTI*). Optimizirani NBTI so zaviralno delovali na DNA-girazo in topoIV iz *S. aureus* in *E. coli* na srednjem in nizkem nanomolarnem koncentracijskem območju ter močno protibakterijsko delovali na širok spekter po Gramu pozitivnih in Gramu negativnih bakterij, vključno z bakterijami ESKAPE. Hkrati so nekateri NBTI zelo šibko zavirali kalijeve kanale hERG (IC_{50} hERG > 30 μ M) in kazali nizko toksičnost oziroma netoksičnost na zarodkih cebric ter učinkovitost *in vivo* na laboratorijskih miših, okuženih s sevom MRSA (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*). Najboljša spojina je delovala primerljivo z gepotidacinom, najučinkovitejšim predstavnikom razreda NBTI. Raziskovalno delo prinaša pomembno novo znanje na področju zaviralcev bakterijskih topoizomeraz tipa II in napredek pri razvoju novih nujno potrebnih protibakterijskih učinkovin.

Maja Kokot, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: **Nikola Minovski**, National Institute of Chemistry, Ljubljana
Co-supervisor: **Martina Hrast Rambaher**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Structure-Based Design and Optimisation of Selective Toxicity of Novel Bacterial Topoisomerase Type II Inhibitors

Bacterial topoisomerases type II, which include DNA gyrase and topoisomerase IV (topoIV), are well-established and extensively studied targets in antibacterial therapy. In this research, we developed optimised inhibitors of bacterial topoisomerase type II (**Novel Bacterial Topoisomerase Inhibitors; NBTIs**). Optimised NBTIs demonstrated inhibitory potency on *S. aureus* and *E. coli* DNA gyrase and topoIV in the medium and low nanomolar concentration range as well as potent antibacterial activity against broad spectrum of Gram-positive and Gram-negative bacteria, including ESKAPE pathogens. Additionally, certain NBTIs exhibited weak inhibition of hERG potassium channels (IC_{50} hERG >30 μ M), along with low or non-toxicity towards zebrafish embryos and efficacy *in vivo* in laboratory mice infected with the MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*) strain. The most promising compound displayed activity comparable to gepotidacin, the most effective representative of the NBTIs class. This research work represents an important contribution to the development of urgently needed new antibacterial agents.

Mila Kovačević, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentorica: **Alenka Zvonar Pobirk**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: **Ilija German Ilić**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Razvoj na lipidih in talinah osnovanih sistemov, polnjenih v mezoporozne nosilce, za izboljšanje topnosti karvedilola

V doktorski disertaciji smo se osredotočili na razvoj dostavnih sistemov na osnovi mezoporoznih nosilcev za izboljšanje topnosti karvedilola, zdravilne učinkovine (ZU) iz skupine II po biofarmacevtski klasifikaciji. Izboljšanje topnosti po peroralni aplikaciji smo dosegli z vgradnjo ZU v samomikroemulgirajoči sistem (SMES), ki smo ga nato pretvorili v trdno obliko, in s pripravo amorfnih trdnih disperzij. Za solidifikacijo SMES smo uporabili metodo vlažnega granuliranja, trdne disperzije pa smo pripravili z granuliranjem s talinami v hitro vrtečem mešalniku in z iztiskanjem talin. Z vgradnjo SMES v zrnca smo dosegli tudi veliko vsebnost tekočega SMES (do 66 % skupne mase zrnca). Zrnca SMES so imela dobre pretočne lastnosti, ki so ključne za nadaljnjo proizvodnjo tablet SMES ali polnjenje v kapsule. Optimizacija sestave granulacijske disperzije na osnovi SMES z vidika vrste in koncentracije veziva se je izkazala kot pomembna za doseganje ustreznih pretočnih lastnosti in sproščanje *in vitro*. Zrnem SMES smo nato primešali ustrezne pomožne snovi in jih stisnili v tablete. Zmes za tabletiranje smo morali optimizirati, da bi dosegli ustrezno trdnost tablet ($\approx$ 100 N) in kratek razpadni čas (večinoma < 3 min) ter ohranili sposobnost za samomikroemulgiranje. V zadnji fazi smo primerjali stabilnost karvedilola v pripravljenih trdnih SMES in amorfnih trdnih disperzijah. Zadnje so bile boljše z vidika stabilnosti, saj smo vanje lahko vgradili večji delež ZU, medtem ko so bile z vidika raztapljanja boljše formulacije SMES.

Mila Kovačević, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: **Alenka Zvonar Pobirk**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: **Ilija German Ilić**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Development of Lipid-Based and Melt-Based Systems Loaded into Mesoporous Carriers for Improved Solubility of Carvedilol

The doctoral dissertation focused on developing appropriate mesoporous carrier-based delivery systems, with the aim to improve gastrointestinal solubility of carvedilol, a BCS group II drug. Solubility improvement was achieved by incorporating the drug into a self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS), which was further transformed into a solid form, and by producing amorphous solid dispersions. Wet granulation was used for SMEDDS solidification, while solid dispersions were prepared by high-shear melt granulation and hot-melt extrusion. By incorporating SMEDDS into granules, high liquid SMEDDS load was also achieved (up to 66% of the total mass of the granules). Such SMEDDS granules exhibited good flow properties, vital for further production of SMEDDS tablets or filling into capsules. Optimisation of SMEDDS-based granulation dispersion, with regard to the binder type and concentration, proved to be important for achieving preferable flow and *in vitro* dissolution characteristics. SMEDDS granules were thus mixed with additional excipients and compressed into SMEDDS tablets. The tableting mixture was optimised in order to provide sufficient tablet hardness ($\approx$ 100 N) and short disintegration time (<3 min), while preserving self-microemulsifying properties. Ultimately, carvedilol stability was compared between produced SMEDDS granules and amorphous solid dispersions. The latter proved to be better regarding stability and achieved higher drug loading, while SMEDDS formulations were superior considering *in vitro* dissolution properties.

Luka Šturm, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentorica: **Nataša Poklar Ulrih**, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani

Priprava vodotopnega propolisa in proučevanje mehanizmov njegovega delovanja v modelnih vodnih in lipidnih sistemih

Propolis je lipofilna lepljiva snov, znana po veliki biološki aktivnosti. Uporablja se v medicini, vendar je njegova uporaba omejena predvsem zaradi netopnosti v vodi. To lahko rešimo s kapsuliranjem v različne polisaharidne nosilce. Z optimizacijo kapsuliranja propolisovega ekstrakta smo ob minimalnih izgubah dobili vodotopne propolisove mikrodcelce brez organskih topil, z veliko biološko aktivnostjo in dobro stabilnostjo. Za pripravo vzorcev se je kot najboljša metoda izkazala liofilizacija. V nadaljevanju smo primerjali aktivnost mikrodcelcev in propolisovega ekstrakta. Pokazali smo, da imajo tako mikrodcelci kot ekstrakt dobre antioksidativne lastnosti, ki so pri mikrodcelcih boljše v olju, pri ekstraktu pa v liposomih. Ekstrakt je imel tudi boljše protibakterijsko delovanje. Sinergistične učinke polifenolov v propolisu smo dokazali s pripravo mešanice petih polifenolov in njihovim vplivom na lipidni dvosloj. Izkazalo se je, da nekatere kombinacije kažejo sinergistično, druge pa antagonistično delovanje. Na koncu smo z različnimi metodami dokazali tudi, da je vpliv EGCG na temperaturo faznega prehoda dvosloja posledica različne agregacije liposomov, ki je odvisna od koncentracije EGCG v raztopini.

Luka Šturm, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana
Supervisor: **Nataša Poklar Ulrih**, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana

Preparation of Water-Soluble Propolis and Study into Mechanisms of Its Action in Model Aqueous and Lipid Systems

Propolis is a lipophilic, sticky substance known for its strong biological activity. It is used in medicine, but has limited use especially due to its insolubility in water. Most of its limitations can be avoided by encapsulation in various polysaccharide carriers. By optimising the propolis extract encapsulation process and minimising losses, we obtained a water-soluble propolis microparticles that do not contain organic solvents, have strong biological activity and good stability. Lyophilisation proved to be the best method for encapsulation. Then, we compared the activity of microparticles with propolis extract. The results proved that both have good antioxidant properties, microparticles excelling in oil, and extract in liposomes. Extract also displayed a stronger antibacterial activity. The synergistic effects of compounds in propolis were proven by preparing mixtures of five polyphenols and studying their influence on the bilayer. Some combinations displayed synergistic, while others displayed antagonistic effects. Finally, using different methods, we proved that the effect of EGCG on the temperature of the bilayer's phase transition is the result of liposomal aggregation, which depends on the concentration of EGCG in the solution.

Lea Gazvoda, Mednarodna podiplomska šola Jožefa Stefana, Ljubljana
Mentorica: **Marija Vukomanovič**, Mednarodna podiplomska šola Jožefa Stefana, Ljubljana

Piezoelektrični polimerni filmi iz polimlečne kisline za biomedicinsko uporabo

Električna stimulacija se uporablja pri pooperativni regeneraciji ran, vendar je njena uporaba zaradi elektrod in ožičenja omejena na površino. S piezoelektriki, za katere je značilno samonapajanje oziroma možnost ustvarjanja napetosti zaradi mehanske deformacije, bi bila mogoča neposredna električna stimulacija z apliciranjem filma neposredno na rano v telesu. V tem delu smo raziskovali inovativne pristope k tkivnemu inženirstvu in celjenju ran z uporabo piezoelektričnih in biorazgradljivih filmov iz polimlečne kisline (PLA). Optimizirali smo pogoje za pripravo filma, raziskali biorazgradnjo, razvili nanoteksturirane filme (NT-filme) ter ocenili njihovo učinkovitost pri celjenju ran in imunskem odzivu. Ključni za doseganje piezoelektričnosti in posledično nastanek površinskega naboja ob mehanski stimulaciji sta visoka kristaliničnost in orientacija polimerne verige. PLA-filmi so bili obdelani z alkalnim jedkanjem, kar je povečalo površinsko hidrofilnost in spremenilo biorazgradnjo iz celostne v površinsko usmerjeno. Filmi zato dlje ohranijo mehansko stabilnost in piezoelektrične lastnosti. Uspelo nam je pripraviti NT PLA-filme (nanocevice na polimernem substratu), ki so pokazali izboljšane piezoelektrične lastnosti in protimikrobne učinke tako na po Gramu negativne kot odpornejše po Gramu pozitivne bakterije. Biokompatibilnost, potrjena z rdečimi krvnimi celicami in kožnimi celicami, ter minimalen imunski odziv (makrofagi) kažeta na velik potencial za nadaljnje raziskave in dejansko uporabo v tehnologiji elektrostimulacije za celjenje in regeneracijo ran.

Lea Gazvoda, Jožef Stefan International Postgraduate School, Ljubljana
Supervisor: **Marija Vukomanovič**, Jožef Stefan International Postgraduate School, Ljubljana

Piezoelectric Polymer Films Made of Poly-L-Lactic Acid for Biomedical Use

Electrical stimulation has been already used in post-operative wound regeneration, but its use is limited to the surface due to the electrodes and wiring. By using piezoelectrics, characterised by self-powering or the possibility of producing voltage as a result of mechanical deformation, we could perform direct electrical stimulation by applying a film inside the body directly to the wound. This study explores innovative approaches to tissue engineering and wound healing using biodegradable polylactic acid (PLA) piezoelectric films. We optimised film preparation conditions, investigated biodegradation, and developed nanotextured (NT) PLA films, evaluating their efficacy in wound healing and immune response. High crystallinity and polymer chain orientation were crucial for achieving piezoelectricity, resulting in surface charge generation upon mechanical stimulation. Using alkaline etching on the films enhances surface hydrophilicity and shifts degradation from deep to surface-oriented, thereby maintaining mechanical stability and piezoelectric properties for a longer period of time. We were able to produce NT PLA films (nanotubes on polymer substrate), which showed improved piezoelectric properties and antimicrobial effects on both Gram-negative and more resistant Gram-positive bacteria. The biocompatibility confirmed with red blood cells and skin cells and the minimal immune response (macrophages) show great potential for further research and actual application in electrostimulation technology for wound healing and regeneration.

Blaž Kamenik, Fakulteta za strojništvo, Univerza v Mariboru
Mentor: **Matej Zadavec**, Fakulteta za strojništvo, Univerza v Mariboru
Somentor: **Matjaž Hriberšek**, Fakulteta za strojništvo, Univerza v Mariboru

Geometrijsko in fizikalno sklopljen numerični model sublimacijskega sušenja v liofilizatorju

Liofilizacija je ključen proces v farmacevtski industriji, vendar se spoprijema s številnimi izzivi, ki vplivajo na učinkovitost procesa in kakovost izdelkov. Glavni težavi sta neenakomerno sušenje vial na različnih delih pladnjev in prenos sušilnih ciklov z laboratorijskih na proizvodne naprave, saj razlike v geometriji naprav in sušilnih pogojih povzročijo kolaps izdelka. V doktorski disertaciji smo razvili nov sklopljen model 1D-CFD, ki izračunava časovno odvisno kinetiko sušenja za vse viale v liofilizatorju na podlagi lokalnega tlaka in temperature, pridobljenih iz modela CFD. To omogoča natančen vpogled v časovno odvisne hidrodinamične in toplotne razmere v liofilizatorju ter v kinetiko sušenja vseh vial. Razviti model vključuje tudi nabiranje ledu, kar omogoča proučevanje pojava dušenega toka v povezovalni cevi med kondenzatorjem in sušilno komoro, učinkovitosti kondenzatorja in nabiranja ledu v njem.

Blaž Kamenik, Faculty of Mechanical Engineering, University of Maribor
Supervisor: **Matej Zadavec**, Faculty of Mechanical Engineering, University of Maribor
Co-supervisor: **Matjaž Hriberšek**, Faculty of Mechanical Engineering, University of Maribor

Geometrically and Physically Coupled Numerical Model of Freeze Drying in Lyophiliser

Lyophilisation is a critical process in the pharmaceutical industry, but it faces several challenges that affect process efficiency and product quality. Major issues include uneven drying of vials on the trays as well as the scale-up from the laboratory to production scale, as variations in equipment and conditions can lead to collapse of the product. In the doctoral thesis, a novel coupled 1D-CFD model was developed for time-dependent drying kinetics of all vials in the freeze dryer based on local pressure and temperature conditions obtained from the CFD model. This provides accurate insights into the time-dependent hydrodynamic and thermal conditions inside the lyophiliser and the drying kinetics of all vials. Additionally, the model describes the ice deposition, allowing us to study the occurrence of the choked flow in the connecting duct between the condenser and drying chamber, efficiency of the condenser, and the ice deposition within the condenser.

Damjan Avsec, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentorica: **Irena Mlinarič-Raščan**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentorica: **Helena Podgornik**, Klinični oddelek za hematologijo, Univerzitetni klinični center Ljubljana

Vloga proteasoma, imunoproteasoma in avtofagije v terapiji kronične limfocitne levkemije

Kronična limfocitna levkemija (KLL) je najpogostejša levkemija v zahodnem svetu. Tarčna zdravila imajo kljub klinični učinkovitosti resni pomanjkljivosti: neželene učinke in pojav odpornosti proti zdravilom. Zato smo v doktorski disertaciji raziskali vlogo proteasoma (cP), imunoproteasoma (iP) in avtofagije pri terapiji KLL. Pokazali smo, da zaviralci cP/iP v nizkih nanomolarnih koncentracijah delujejo selektivno citotoksično in z zaviranjem signalne poti jedrnega faktorja κB (NF κ B) prožijo apoptozo celic KLL. V kombinaciji s tarčnimi zdravili so dokazali sinergistično citotoksičnost z zaviranjem preživetvenih poti B-celičnega receptorja in NF κ B. V novovzpostavljenih odpornih klonih KLL in neobčutljivih celicah bolnikov s KLL smo odkrili nove mehanizme odpornosti. Pokazali smo, da lahko s selektivnim zaviranjem cP ali iP to odpornost uspešno obvladamo. Vloga avtofagije pri preživetju in odpornosti celic KLL ni znana. Ker so celice bolnikov s KLL in odporni kloni KLL čezmerno izražali proteine avtofagije, smo predpostavili, da ima avtofagija citoprotektivno vlogo. Pokazali smo, da tarčna zdravila aktivirajo avtofagijo prek signalnih poti BTK/Akt, AMPK/ULK1/Beclin-1 in PI3K/Akt. Z zaviranjem avtofagije, ki je vodilo v selektivno apoptozo celic KLL, smo obvladali odpornost in okrepili delovanje tarčnih zdravil na celice bolnikov s KLL. V doktorski disertaciji smo razjasnili vlogo cP, iP in avtofagije pri KLL ter zaviralce cP, iP in avtofagije opredelili kot potencialne učinkovine za zdravljenje bolnikov s KLL.

Damjan Avsec, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: **Irena Mlinarič-Raščan**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: **Helena Podgornik**, Department of Haematology, University Medical Centre Ljubljana

Role of Proteasome, Immunoproteasome, and Autophagy in Therapy of Chronic Lymphocytic Leukaemia

Chronic lymphocytic leukaemia (CLL) is the most common leukaemia in the Western world. Despite their efficacy, targeted therapies have serious drawbacks: adverse effects and the occurrence of resistance. In the doctoral dissertation, we investigated the role of proteasome (cP), immunoproteasome (iP), and autophagy in the therapy of CLL. We showed that cP/iP inhibitors are selectively cytotoxic at low nanomolar concentrations and trigger apoptosis of CLL cells by inhibiting the NF κ B pathway. Combined with targeted therapies, they demonstrated synergistic cytotoxicity by inhibiting prosurvival B-cell receptor pathways and NF κ B. We uncovered new resistance mechanisms in newly established resistant CLL clones and insensitive patient-derived CLL cells. Selective inhibition of cP or iP successfully overcame this resistance. The role of autophagy in CLL cell survival and resistance is unknown. Because patient-derived CLL cells and resistant CLL clones overexpressed autophagy proteins, we hypothesised that autophagy plays a cytoprotective role. We showed that targeted therapies activate autophagy via BTK/Akt, AMPK/ULK1/Beclin-1, and PI3K/Akt pathways. Inhibition of autophagy led to selective apoptosis of CLL cells, overcame resistance, and enhanced the activity of targeted therapies against CLL cells. In the doctoral dissertation, we elucidated the role of cP, iP, and autophagy in CLL and identified inhibitors of cP, iP, and autophagy as potential new drugs for treating patients with CLL.

Katja Balantič, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentor: **Peter Kramar**, Fakulteta za elektrotehniko, Univerza v Ljubljani

Elektrokemijske reakcije, sproščanje kovinskih ionov in lipidna oksidacija pri elektroporaciji

Elektroporacija je metoda za povečanje prepustnosti celične membrane z izpostavitvijo celic električnemu polju. Uporablja se v onkologiji za povečanje vnosa citostatikov v tumorsko celico, pri genskem zdravljenju za prenos genskega materiala skozi celično membrano ali za ablacijo srčnega tkiva po srčni aritmiji. Na učinkovitost zdravljenja in varnost elektroporacije vplivajo stranski procesi, kot so elektrokemijske reakcije na stiku elektrode in elektrolita, ki privedejo do sproščanja kovinskih ionov z elektrod in nastajanja plinastih mehurčkov. To je še posebno neželjeno pri ablaciji tkiva v levem srčnem atriju. Elektrokemijske reakcije lahko povzročijo tudi lipidno oksidacijo v celični membrani. V doktorski disertaciji smo za proučevanje in minimizacijo stranskih procesov elektroporacije razvili in validirali numerični model, ki opisuje sproščanje kovinskih ionov z aluminijevih in železovih elektrod pri uporabi visokonapetostnih električnih pulzov. Z njim se zmanjša potreba po poskusih *in vivo*, obenem pa se lažje proučujejo parametri, ki vplivajo na nastanek elektrokemijskih reakcij. Uporabljena sta bila tudi dva različna modela celične membrane *in vitro* za proučevanje vpliva kovinskih ionov in lipidne oksidacije na strukturo lipidnega dvosloja. Z uporabo ravninskih lipidnih dvoslojev in liposomov smo zaznali povečanje debeline lipidne membrane ob prisotnosti kovinskih ionov, kot so kalcij, aluminij in železo. Nazadnje smo proučili vpliv lipidne oksidacije na spremembo električnih lastnosti ravninskih lipidnih dvoslojev ter dokazali povečanje električne prevodnosti in kapacitivnosti lipidnega dvosloja, s čimer bi bilo mogoče pojasniti dolgotrajnejšo prepustnost celične membrane po elektroporaciji.

Katja Balantič, Faculty of Medicine, University of Ljubljana
Supervisor: **Peter Kramar**, Faculty of Electrical Engineering, University of Ljubljana

Electrochemical Reactions, Dissolution of Metal Ions and Lipid Oxidation in Electroporation

Electroporation is a method to increase the cell membrane permeability using applied electric field. Nowadays, it is used in oncology to increase the uptake of cytostatic drugs into the tumour cells, in gene therapy to transfer genetic material across the cell membrane, or for cardiac tissue ablation after cardiac arrhythmias. The efficacy and the safety of electroporation are affected by the occurrence of side processes, such as electrochemical reactions at the electrode-electrolyte interface, which lead to the release of metal ions from the electrodes and the formation of gaseous bubbles, which can be dangerous during ablation of cardiac tissue. Electrochemical reactions can also cause lipid oxidation of the cell membrane. In this PhD thesis, a numerical model describing the release of metal ions from aluminium and iron electrodes during high-voltage electrical pulse application was developed and validated to study and minimise the side processes of electroporation. The developed numerical model reduces the need for *in vivo* experiments and simplifies the study of the parameters that influence the extent of electrochemical reactions. In addition, two different *in vitro* cell membrane models were used to study the effects of metal ions and lipid oxidation on the cell membrane. Using planar lipid bilayers and liposomes, we observed an increase in lipid membrane thickness in the presence of metal ions such as calcium, aluminium and iron. Finally, we investigated the effect of lipid oxidation on the changes in electrical properties of planar lipid bilayers and detected an increase in the electrical conductivity and capacitance of the lipid bilayer, which may explain the prolonged membrane permeability after electroporation.

Ema Gričar, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: **Mitja Kolar**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: **Boštjan Genorio**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Razvoj in uporaba elektrokemijskih senzorjev na osnovi grafenskih derivatov

Elektrokemijski senzorji ponujajo odlično izhodišče za zaznavanje in določanje različnih tarčnih analitov. Na splošno so njihove prednosti veliki selektivnost in občutljivost, nizka meja zaznavnosti, razmeroma nizka cena, preprosta prilagoditev za meritve v kompleksnih vzorcih in preprosto delovanje. Njihova uporaba na različnih področjih kaže, da so dobili pomembno mesto v znanosti in vsakdanjem življenju. Zaradi razvoja različnih nanomaterialov je z elektrokemijskimi senzorji mogoče doseči še nižje meje zaznavnosti in večjo občutljivost. Med raziskavo smo pripravili in opredelili različne grafenske nanomateriale, ki smo jih nato uporabili pri pripravi treh različnih senzorjev, in sicer za H_2O_2 , glukozo in folatni receptor (FOLR-1). Izkazalo se je, da je mogoče s tovrstnimi materiali občutljivost pripravljenih senzorjev bistveno izboljšati. Elektrokemijski senzor za H_2O_2 se je izkazal s širokim linearnim območjem (1–300 μM), nizko mejo zaznavnosti (0,08 μM), odlično ponovljivostjo, veliko občutljivostjo in zadovoljivo dolgo življenjsko dobo. Uporabo senzorja smo nato uspešno demonstrirali na realnih farmacevtskih in bioloških vzorcih. Senzor za glukozo je temeljil na encimski oksidaciji glukoze in se prav tako izkazal s širokim linearnim območjem (0,05–5,0 mM), nizko mejo zaznavnosti (0,008 mM) ter ugodno življenjsko dobo in ponovljivostjo. Uporabo senzorja smo nato demonstrirali v realni matrici. Senzor za FOLR-1 je bil razvit z imobilizacijo sintetiziranega derivata folata na površini zlate sitotiskane elektrode, modificirane z grafenskim materialom. Razviti senzor je imel nizko mejo zaznavnosti (53 pM) in linearno območje, ki je primerno za ciljne študije na realnih vzorcih človeške krvi ali seruma. Na podlagi dobljenih rezultatov smo potrdili, da grafenski nanomateriali bistveno izboljšajo lastnosti elektrokemijskih senzorjev, in pripravili senzorje, ki jih uporabljamo in nadgrajujemo tudi v nadaljnjih raziskavah.

Ema Gričar, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Supervisor: **Mitja Kolar**, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Co-supervisor: **Boštjan Genorio**, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

Development and Applications of Electrochemical Sensors Based on Graphene Derivatives

Electrochemical sensors offer an excellent basis for the determination of various target analytes. They generally exhibit high selectivity and sensitivity, low detection limits, low cost, easy measurements in complex samples, and simple operation. Their application across various fields shows that they have gained significant importance in science and everyday life. With the development of nanomaterials, the properties of electrochemical sensors can be further improved. During my research, various graphene nanomaterials were prepared, characterised, and used in the preparation of three different sensors, namely for H_2O_2 , glucose, and folate receptor (FOLR-1). The use of such materials significantly improved the sensitivity of the prepared sensors. The sensor for H_2O_2 exhibited a wide linear range (1–300 μM), a low detection limit (0.08 μM), excellent repeatability, high sensitivity, and a sufficiently long lifespan. The use of the sensor was successfully demonstrated on real pharmaceutical and biological samples. The glucose sensor, based on the enzymatic oxidation of glucose, also showed a wide linear range (0.05–5.0 mM), a low detection limit (0.008 mM), a favourable lifespan and repeatability. The use of the sensor was then demonstrated in a real matrix. The sensor for FOLR-1 was developed by immobilising a synthesised derivative of folate on the surface of a gold screen-printed electrode modified with graphene material. The developed sensor had a low detection limit (53 pM) and a linear range (up to 1 nM), suitable for targeted studies on real samples of human blood or serum. The obtained results confirmed that graphene nanomaterials significantly improve the properties of electrochemical sensors. The prepared sensors will be used and upgraded in our further research.

Maria Scuderi, Fakulteta za elektrotehniko, Univerza v Ljubljani
Mentorica: **Lea Rems**, Fakulteta za elektrotehniko, Univerza v Ljubljani
Somentorica: **Janja Dermol-Černe**, Fakulteta za elektrotehniko, Univerza v Ljubljani

Identifikacija in opis mehanizmov molekularnega transporta preko celične membrane pri elektroporaciji

Elektrokemoterapija (EKT) je klinično zdravljenje, ki se primarno uporablja za kožne metastaze, raziskuje pa se tudi njena uporabnost za zdravljenje globlje ležečih tumorjev. EKT združuje uporabo kemoterapevtikov in kratkih visokonapetostnih električnih pulzov. Ti pulzi začasno in neselektivno povečajo prepustnost celične membrane, kar imenujemo elektroporacija. S tem omogočijo večji vnos in citotoksičnost kemoterapevtskih zdravil. Vendar klasični pulzi EKT povzročajo bolečino in mišično krčenje med zdravljenjem. Da bi odpravili to pomanjkljivost, smo preizkusili alternativne oblike pulzov. Eksperimentalno smo dokazali, da so različne oblike pulzov pri povečanju vnosa in citotoksičnosti cisplatina enako učinkovite kot klasični pulzi EKT. To odpira vrata izboljšanju zdravljenja z EKT, saj izboljšuje bolnikovo udobje, zmanjšuje mišično krčenje in bolečino ter lahko odpravi potrebo po uporabi anestetikov in mišičnih relaksantov, ne da bi bila ogrožena učinkovitost zdravljenja. Eksperimentalno smo tudi kvantificirali citotoksične molekule, potrebne v biološki celici za doseg citotoksičnega učinka. Ker je eksperimentalno delo drago in zamudno ter zanj pogosto veljajo etične omejitve, smo kritično ocenili obstoječe matematične modele kot alternativo učinkovitemu raziskovanju transmembranskega transporta molekul zaradi elektroporacije. Ugotovili smo, da obstoječi modeli niso dovolj zanesljivi za napovedovanje transporta molekul za celoten širok spekter parametrov pulzov in eksperimentalnih pogojev, uporabljenih pri raziskavah elektroporacije. Kljub temu lahko pomagajo pri interpretaciji določenih eksperimentalnih rezultatov. Predlagali smo še nadaljnje izboljšanje teh modelov.

Maria Scuderi, Faculty of Electrical Engineering, University of Ljubljana
Supervisor: **Lea Rems**, Faculty of Electrical Engineering, University of Ljubljana
Co-supervisor: **Janja Dermol-Černe**, Faculty of Electrical Engineering, University of Ljubljana

Identification and Description of Molecular Transport Mechanisms across Cell Membrane due to Electroporation

Electrochemotherapy (ECT) is a clinical treatment procedure primarily used for cutaneous tumours with ongoing trials for the treatment of deep-seated tumours. ECT combines the use of chemotherapeutics and the application of short high-voltage electric pulses. These electric pulses temporarily and non-selectively increase cell membrane permeability, a phenomenon called electroporation, potentiating the uptake and cytotoxicity of chemotherapeutic drugs. However, classic ECT pulses cause pain and muscle contractions during treatment. To overcome these drawbacks, we tested alternative types of electric pulses. We experimentally demonstrated that all tested types are as effective in potentiating cisplatin uptake and cytotoxicity as classic ECT pulses. This opens the doors to improving ECT treatment by enhancing patient comfort, reducing muscle contractions and pain, and potentially avoiding the need for anaesthetics and muscle relaxants, without compromising treatment efficacy. Moreover, we experimentally quantified the number of cytotoxic molecules needed inside a biological cell to achieve a cytotoxic effect. Since experimental work is costly, time-consuming, and often involves ethical constraints, we critically assessed existing mathematical models as an alternative to efficiently investigate transmembrane molecular transport due to electroporation. We found that the models are not reliable enough to predict molecular transport for the entire broad range of pulse parameters and experimental conditions used in electroporation research. Nevertheless, the models can still help interpret certain experimental results. We also suggested how the models can be further improved.

Erik Rihtar, Kemijski inštitut Ljubljana
Mentor: **Roman Jerala**, Kemijski inštitut Ljubljana

Načrtovanje dimerizacijskih sistemov, odvisnih od malih molekul, za nadzor celičnih procesov

Proteinski dimerizacijski sistemi, ki so odvisni od malih molekul, so pomembno sinteznobiološko orodje, ki omogoča zunanji nadzor bioloških procesov. Vendar pa je terapevtska uporaba obstoječih sistemov omejena zaradi neugodnih lastnosti ligandov ali imunskega odziva na proteinske domene, ki niso človeškega izvora. Razvili smo nove dimerizacijske sisteme, ki temeljijo na uporabi človeških proteinskih komponent in se odzivajo na zdravila ali endogene ligande. Prva strategija, imenovana platforma INSPIRE, temelji na cepitvi človeških ligand vezavnih proteinov na dva fragmenta, ki se združita ob prisotnosti tarčnega liganda. S platformo INSPIRE lahko natančno nadzorujemo izražanje genov v sesalskih celicah. Poleg tega smo pokazali uporabnost platforme INSPIRE *in vivo* in jo uporabili za preoblikovanje endogene regulatorne poti. Razvili smo tudi sisteme, ki uporabljajo ločene ligand vezavne fragmente protiteles (Fv). Pokazali smo, da je mogoče s sistemi Fv nadzirati izražanje genov in načrtovati logične funkcije v sesalskih celicah. Nato smo razvili sistem Fv, ki je odziven na fluorescein, in ga uporabili za od fluoresceina odvisen nadzor imunoterapevtskih celic T in bispecifičnih T-celičnih povezovalcev (BiTE). Poleg tega smo razvili sisteme, ki se odzivajo na dva različna vhodna signala in temeljijo na ligand vezavnih domenah nuklearnih receptorjev in njihovih peptidnih partnerjev. Ta stikala združujejo dva kompetitivna signala, kar omogoča natančnejši nadzor celičnih procesov. Razviti dimerizacijski sistemi omogočajo nadzor genskih, proteinskih in celičnih terapij z malimi molekulami, kar lahko izboljša varnost in učinkovitost teh terapij v primerjavi s sedanji načini zdravljenja.

Erik Rihtar, National Institute of Chemistry, Ljubljana
Supervisor: **Roman Jerala**, National Institute of Chemistry, Ljubljana

Engineering Chemically Inducible Dimerisation Systems for Control of Cellular Processes

Chemically inducible systems represent valuable synthetic biology tools that enable the external control of biological processes. However, their translation to therapeutic applications has been limited due to unfavourable ligand characteristics or immunogenicity of non-human protein domains. We developed novel dimerisation systems that are based on human protein components and respond to clinically approved drugs or physiologically important ligands. The first strategy, called INSPIRE systems, involves cleaving human ligand-binding proteins into two fragments that associate in the presence of the target ligand. With the INSPIRE platform, we can precisely regulate gene expression in mammalian cells. Furthermore, we demonstrated the functionality of our INSPIRE platform *in vivo* and applied it in perturbing an endogenous regulatory network. We also developed systems utilising separated antibody variable fragments (Fv) that bind to small molecules, showcasing various applications. We demonstrated that Fv systems can be employed to regulate gene expression and construction of logic gate functions. Then, we developed an Fv system responsive to fluorescein, utilising it for fluorescein-dependent control of T cell immunotherapy and bispecific T cell engagers (BiTEs). Additionally, we developed two-input switches that are based on ligand-binding domains of nuclear receptors and their interacting peptides. These switches integrate two distinct competing signals, enabling precise control over cellular processes. The designed dimerisation systems hold great potential for achieving chemogenetic control over gene, protein, and cell-based therapeutics, ultimately leading to enhanced safety and efficacy compared to existing treatments.

Urša Šuštar, Klinični oddelek za endokrinologijo, diabetes in bolezni presnove, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana
Mentor: **Urh Grošelj**, Klinični oddelek za endokrinologijo, diabetes in bolezni presnove, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana

Opredelitev genetskih vzrokov hiperholesterolemije ter ugotavljanje povezav s kliničnimi značilnostmi pri otrocih in mladostnikih

V Sloveniji večina ljudi z dedno hiperholesterolemijo ni diagnosticirana in ustrezno zdravljena. Cilj doktorske naloge je bil pojasniti genetsko ozadje hiperholesterolemije pri otrocih in mladostnikih v naši populaciji. Raziskava je vključevala štiri skupine: 3782 otrok za evalvacijo presejalnega programa za družinsko hiperholesterolemijo (DH), 1598 otrok, genetsko testiranih za gene, povezane z DH, 1732 kontrolnih preiskovancev in 220 staršev. Na sistematskem pregledu pri 5 letih je bil 91,1 % otrok izmerjen skupni holesterol (TC). Opazili smo šibko korelacijo med TC in indeksom telesne mase. Genetsko testiranje je pokazalo, da ima 395 otrok patološko varianto in 113 otrok varianto neznanega kliničnega pomena (VUS). Razširitev raziskave na dodatnih 15 genov je pokazala patološke variante in VUS še pri 73 preiskovancih. Ugotovili smo, da obstaja statistično značilna razlika med preiskovanci in negativno kohorto pri izračunu bremena za poligensko hiperholesterolemijo. Z asociacijsko študijo za redke variante na ravni celotnega eksoma smo odkrili 4 kandidatne gene, ki bi bili lahko povezani z višjim holesterolom. Na družinsko varianto je bilo pozitivnih 74,5 % testiranih staršev. Univerzalni presejalni program za hiperholesterolemijo se je izkazal za učinkovitega pri odkrivanju otrok in njihovih staršev z DH in drugimi redkimi dislipidemijami.

Urša Šuštar, Department of Endocrinology, Diabetes and Metabolic Diseases, Division of Paediatrics, University Medical Centre Ljubljana
Supervisor: **Urh Grošelj**, Department of Endocrinology, Diabetes and Metabolic Diseases, Division of Paediatrics, University Medical Centre Ljubljana

Characterisation of Genetic Causes of Hypercholesterolaemia and Assessment of Their Correlations with Clinical Characteristics in Children and Adolescents

In Slovenia, the majority of people with hereditary hypercholesterolaemia are neither diagnosed nor adequately treated. The aim of the doctoral thesis was to elucidate the genetic background of hypercholesterolaemia in children and adolescents in our population. The study included four groups: 3,782 children for the evaluation of the familial hypercholesterolaemia (FH) screening programme, 1,598 children genetically tested for genes associated with FH, 1,732 control subjects, and 220 parents. In total, 91.1% of children had their total cholesterol (TC) levels measured during a systematic examination at the age of five. A weak correlation was observed between TC values and body mass index (BMI). Genetic testing revealed that 395 children had a pathogenic variant and 113 children had a variant of uncertain significance (VUS). Expanding the panel to 15 additional genes identified pathogenic variants and VUS in 73 more subjects. We found a statistically significant difference between subjects and the control cohort in the polygenic hypercholesterolaemia burden. An exome-wide association study of rare variants identified four candidate genes potentially linked to higher cholesterol levels. 74.5% of tested parents were positive for the familial variant. The universal screening programme for hypercholesterolaemia proved effective in identifying children and their parents with FH and other rare dyslipidaemias.

Kris Antolinc, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: **Jurij Svete**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Fotoredoks arilacije 4-okso-4H-piridino[1,2-a]pirimidin-3-diazonijevega tetrafluoroborata

Štiri različne heterociklične diazonijeve tetrafluoroborate smo z desetimi različnimi (hetero)areni pretvorili v 18 tarčnih spojin. Arilacije smo izvedli z obsevanjem reakcijske zmesi z zeleno svetlobo v prisotnosti fotokatalizatorja dinatrijeve soli eozina Y. Substrate smo arilirali v zmesi acetonitrila in deionizirane vode, kar nam je omogočilo preprosto izolacijo končnih produktov s kolonsko kromatografijo. Sintezna metoda je potrdila širok obseg reakcije in kaže na možnost uporabe te metode v kombinatorni sintezi. Fotokatalitska sklopitev aril diazonijevih tetrafluoroborotov in ferocena v literaturi do zdaj še ni bila opisana. Metoda sledi načelom zelene kemije, saj sinteza poteka v zmesi topil acetonitrila in vode pri sobni temperaturi, brez kovin oziroma katalizatorjev s kovinskimi atomi oziroma ioni. Razvili smo torej novo sintezno metodo za pripravo 3-(hetero)aril-substituiranih kinolizinonov in sorodnih kondenziranih pirimidinonov z mostovnim dušikom, ki so zanimivi predvsem zaradi bioloških aktivnosti in optičnih lastnosti.

Kris Antolinc, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Supervisor: **Jurij Svete**, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

Photoredox Arylations of 4-Oxo-4H-pyrido[1,2-a]pyrimidine-3-diazonium Tetrafluoroborate

Four different heterocyclic diazonium tetrafluoroborates were successfully arylated with ten different (hetero)arenes to yield eighteen target compounds. Arylations were facilitated by the irradiation of the reaction mixture with green light in the presence of eosin Y disodium salt as a photocatalyst. The reactions were performed in a mixture of acetonitrile and deionised water, allowing for easy isolation of the final products by column chromatography. The synthetic method confirms the broad scope of the reaction and indicates the possibility of using this method in combinatorial synthesis. In addition, according to the literature data, the photocatalytic coupling of aryl diazonium tetrafluoroborates and ferrocene is, to our knowledge, unprecedented. The method follows the principles of green chemistry, as it is performed in a solvent mixture of acetonitrile and water at room temperature and does not require a transition-metal catalyst. Therefore, we developed a new synthetic pathway to 3-(hetero)aryl-substituted quinolizinones and related pyrimidinones with bridgehead nitrogen atoms, which are of particular interest due to their biological activities and optical properties.

Katja Krajšek, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: **Aleš Obreza**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: **Svit Ferjančič Benetik**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Raziskovanje kemijskega prostora indazolnih dvojnih zaviralcev z mitogenom aktivirane protein kinaze p38 α in butirilholin esterase

V magistrskem delu smo kot potencialne indazolne dvojne zaviralce encimov BChE in p38 α MAPK načrtovali, sintetizirali in biokemijsko ovrednotili pet spojin. Encima imata pomembno vlogo v patofiziologiji Alzheimerjeve bolezni, hkrati zaviranje obeh pa bi bil po principu multitargetnih ligandov inovativen pristop v zdravljenju. Pri načrtovanju spojin smo izhajali iz spojine ARRY-371797, ki je selektivni zaviralec p38 α MAPK, ima pa tudi nekatere strukturne podobnosti z zaviralci BChE. Ugotovili smo, da se pri vezavi metilcikloheksana na mesto N1 indazolnega obroča zaviranje encima BChE glede na izhodni spojin poveča. Še bolj se poveča, ko je ta substituent vezan na mesto N2, saj nam je v tem primeru uspelo doseči zaviranje BChE v nanomolarni koncentraciji ($IC_{50} = 0,1669 \mu M$), zaradi česar sklepamo, da je prišlo do energijsko ugodnejšega premika acilne zanke na aktivnem mestu BChE. Po drugi strani pa substitucija na mestu N2 namesto N1 zaradi nekoliko spremenjene konformacije spojine na vezavnem mestu vodi v slabše zaviranje encima p38 α MAPK. Kljub temu je bila pri eni od spojin zaviralna aktivnost na p38 α MAPK v glavnem še vedno ohranjena ($IC_{50} = 6,776 \mu M$). Pri delu smo prišli do pomembnih ugotovitev, ki so dobra podlaga za optimizacijo spojin in za nadaljnji razvoj takih dvojnih zaviralcev.

Katja Krajšek, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: **Aleš Obreza**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: **Svit Ferjančič Benetik**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Exploring Chemical Space in Indazole Dual Inhibitors of Mitogen Activated Protein Kinase P38 α and Butyrylcholine Esterase

In the context of our master's thesis, we designed, synthesised and biochemically evaluated five potential indazole dual inhibitors of BChE and p38 α MAPK. The mentioned enzymes play an important role in the pathophysiology of Alzheimer's disease, and simultaneous inhibition of both, according to the principle of multitarget ligands, would represent an innovative therapeutic approach. The design was based on the compound ARRY-371797, which is a selective inhibitor of p38 α MAPK, but also shows some structural similarities with BChE inhibitors. The main finding was that if methylcyclohexane is bound to the N1 site of the indazole ring, the inhibitory activity on the BChE enzyme towards ARRY-371797 increases. It further increases when this substituent is bound to the N2 site, as in this case we were able to obtain BChE inhibition at nanomolar concentration ($IC_{50} = 0.1669 \mu M$), suggesting an energetically more favourable shift of the acyl loop in the active site of BChE. On the other hand, the substitution at the N2 site instead of the N1 site leads to a deterioration of the inhibitory activity on p38 α MAPK, due to a slightly changed conformation of the compound in the binding site. Nevertheless, the inhibitory activity on p38 α MAPK was still largely preserved in one of the compounds ($IC_{50} = 6.776 \mu M$). Findings from our work provide a good basis for optimisation of the compounds and will be useful in further development of such dual inhibitors.

David Ribar, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Mentorica: **Irena Kralj Cigić**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: **Miha Lukšič**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Raziskava temeljnega retencijskega mehanizma reverzno-fazne tekočinske kromatografije

Tekočinska kromatografija spada med pomembne separacijske tehnike, ki se uporabljajo v farmacevtski industriji. Pri razvoju kromatografskih metod je pomembna robustnost, h kateri prispeva ustrezno vrednotenje kromatografskih parametrov, kot je mrtva prostornina kromatografske kolone. V magistrskem delu smo zato proučevali mehanizem reverzno-fazne tekočinske kromatografije z dveh zornih kotov: z eksperimentalno študijo določanja mrtve prostornine s tekočinsko kromatografijo, sklopljeno z masno spektrometrijo, in s teoretično študijo, osnovano na pristopih statistične termodinamike kondenzirane snovi. V eksperimentalni študiji smo primerjali tri pogosto uporabljene spojine za določanje mrtve prostornine (uracil, *N,N*-dimetilformamid in floriglucinol) ter devteriran acetonitril in devterirano vodo. Dokazali smo, da vse spojine izkazujejo retencijske vzorce. Hkrati smo pokazali, da devterirane komponente mobilne faze lahko uporabimo za določanje mrtve prostornine, ki je termodinamsko utemeljena. Teoretična študija je sestavljena iz dveh korakov. Najprej smo na podlagi teorije PROZA, osnovane na Wertheimovi teoriji integralskih enačb asociativnih tekočin, pripravili model kromatografske stacionarne faze, potem pa v okviru teorije replika Ornstein-Zernike zmodelirali strukturo in termodinamiko dvokomponentnega fluida (modela mobilne faze) v predhodno pripravljenem modelu stacionarne faze. V študiji smo uspešno pripravili modelni sistem in izračunali adsorpcijske izoterme pri treh sestavah dvokomponentnega fluida.

David Ribar, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Supervisor: **Irena Kralj Cigić**, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Co-supervisor: **Miha Lukšič**, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

Study of Principal Retention Mechanism in Reversed-Phase Liquid Chromatography

Liquid chromatography is one of the most important separation techniques used in the pharmaceutical industry. Chromatographic method development demands high levels of method robustness, assessed by different chromatographic parameters, like the column void volume. This master's thesis therefore explores the principal retention mechanism in reversed-phase liquid chromatography from two perspectives: an experimental study of the methods for column void volume estimation via liquid chromatography-mass spectrometry, and a theoretical study based on statistical thermodynamics of condensed matter systems. The experimental study compares three commonly used void volume markers (uracil, *N,N*-dimethylformamide, and phloroglucinol) along with deuterated acetonitrile and deuterated water. We showed that all compounds under investigation produce clear retention patterns. Deuterated mobile phase components are successfully utilised in a thermodynamically justified method for column void volume determination. The theoretical study is divided into two parts: (i) by using the PROZA theory, based on Wertheim's integral equation theory for associating liquids, we constructed a model chromatographic stationary phase, (ii) we used the replica Ornstein-Zernike theory to study the interactions between a binary fluid (the model mobile phase) and the model stationary phase. We successfully prepared the model system and calculated the adsorption isotherms at three fluid compositions.

Luka Tacer, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Mentorica: **Polona Žnidaršič Plazl**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Imobilizacija encimov na magnetne mikrodcelce za izvedbo kontinuirne transaminacije v mikroreaktorju z uporabo evtektičnih topil

Encimi so biokatalizatorji, ki imajo številne prednosti pred tradicionalnimi kemijskimi katalizatorji. Zaradi nestabilnosti encimov v težkih industrijskih pogojih je za njihovo vpeljavo ključna ustrezna imobilizacija. Tako encimom povečamo njihovo stabilnost, obenem pa omogočimo daljšo uporabo v kontinuirnih procesih. Ena od obetavnih tehnik imobilizacije je vezava encimov prek različnih funkcionalnih skupin na magnetne materiale, ki jih z zunanjim magnetnim poljem zadržimo v reaktorjih. Vedno bolj so v uporabi evtektična topila, ki so za okolje manj škodljiva alternativa organskim topilom in imajo veliko želenih lastnosti. V raziskovalnem delu smo pripravili več evtektičnih topil in jih ovrednotili glede na topnost benzil acetona, ki je substrat izbrane transaminacije, ter glede na zadržano aktivnost izbrane amin transaminaze ATA-v1 v topilu. Optimizirali smo imobilizacijo encima na magnetne mikrodcelce ter v izbranem evtektičnem topilu izvedli reakcijo v mikropretočnem sistemu. Tako smo razvili trajnostno in učinkovito pridobivanje metilfenilpropilamina, ki je industrijsko zanimiv kiralni produkt.

Luka Tacer, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Supervisor: **Polona Žnidaršič Plazl**, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

Enzyme Immobilisation onto Magnetic Microparticles for Continuous Transamination in Microreactor Using deep Eutectic Solvents

Enzymes are biocatalysts that offer many advantages compared to traditional chemical catalysts. Due to enzyme instability at harsh industrial conditions, their immobilisation is crucial for their implementation at industrial scale. It increases enzyme stability and at the same time enables longer use of enzymes in continuous processes. One of the promising immobilisation techniques is enzyme binding on magnetic materials via different functional groups. External magnetic field is then used to hold magnetic materials in the reactor. Deep eutectic solvents (DESs), classified as affordable green solvents, are increasingly used. They not only offer an environmentally friendlier alternative to organic solvents but are also very flexible in achieving preferred solvent properties. In this research, different DESs were prepared and ranked based on their ability to solubilise the substrate of the selected transamination, namely benzyl acetone, and regarding the activity of the amine transaminase enzyme ATA-v1. The immobilisation of the enzyme onto magnetic microparticles was optimised. Then the biocatalysed transamination reaction was performed in a selected DES using a microflow system. Thereby a sustainable and efficient production of 1-methyl-3-phenylpropylamine, an industrially attractive chiral amine, was developed.

Jan Šegina, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: **Uroš Grošelj**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Sinteza prekurzorjev N-heterocikličnih karbenov na osnovi kafe

Za karbene je dolga leta veljalo, da so le nestabilni reakcijski intermediati v organskih reakcijah. Sinteza stabilnih karbenov in njihov katalitski potencial pa sta v zadnjih letih pritegnila številne raziskovalce. V tem delu je bila naravno prisotna (1*R*)-(+)-kafrina osnova za sintezo N-heterocikličnih karbenov (NHC). Kafrina ogrodje, ki se pogosto uporablja za pripravo bifunkcionalnih organokatalizatorjev, je odlična osnova za sintezo zelenih kiralnih molekul. Iz komercialno dostopne (1*S*)-(+)-kafrasulfonske kisline smo v sedmih korakih sintetizirali dva diastereomerna prekurzorja šestčlenskih NHC in preiskali njihove katalitske sposobnosti. Z drugo, devetstopenjsko sintezo, ki je prav tako izhajala iz (1*S*)-(+)-kafrasulfonske kisline, smo v sledovih sintetizirali petčlenski NHC-prekurzor.

Jan Šegina, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Supervisor: **Uroš Grošelj**, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

Synthesis of Camphor-Based N-Heterocyclic Carbene Precursors

For many years, carbenes were considered to only be unstable intermediates in organic reactions. However, the synthesis of stable carbenes and their catalytic potential have generated interest in many researchers in recent years. In this work, naturally occurring (1*R*)-(+)-camphor was used as a chiral backbone for the synthesis of N-heterocyclic carbenes (NHCs). The camphor framework, which is often used to prepare bifunctional organocatalysts, serves as an excellent base for the synthesis of chiral molecules of interest. Starting from the commercially available (1*S*)-(+)-10 camphor sulfonic acid, a seven-step synthesis was carried out, yielding two diastereomeric six-membered NHC precursors, whose catalytic abilities were investigated. Another nine-step synthesis was carried out, also starting from (1*S*)-(+)-10 camphorsulfonic acid, which gave a five-membered NHC precursor in trace amounts.

Tjaša Skarlovnik, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru
Mentor: **Urban Bren**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru
Somentor: **Gregor Hostnik**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru
Somentor: **Andraž Lamut**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru

Meritve osmolarnosti izotoničnih napitkov za hidracijo telesa pri športni aktivnosti

Pri telesni dejavnosti se poveča nastajanje toplote in posledično zviša telesna temperatura. Telo se na to odzove s povečanim potenjem, pri čemer se izločajo predvsem voda in elektroliti. Ena od možnosti za ustrezno rehidracijo so športni napitki z elektroliti. V magistrskem delu smo izbranim vzorcem izotoničnih napitkov izmerili osmolalnost. Samo iz vrednosti osmolalnosti ne moremo sklepati na toničnost napitkov, zato smo za merjenje uporabili metodo z UV-Vis-spektroskopijo. Pri tem smo s spremljanjem sipanja in absorpcije svetlobe ugotavljali vpliv raztopin NaCl različnih osmolalnosti na prostornino in obliko rdečih krvničk. Opazovali smo, ali je raztopina hipotonična. Zaradi majhne razlike med izotoničnimi in hipertoničnimi raztopinami smo si pri tem pomagali z mikroskopom z multimodalnim čitalcem, s katerim smo opazovali delež ježkov v raztopinah. Enake meritve smo opravili še na izotoničnih napitkih. Na prvi pogled je videti, da je pri večini izotonikov toničnost manjša kot pri standardnih raztopinah NaCl podobne osmolalnosti. Vendar pa meritve otežuje nižji pH izotonikov, ki vpliva na morfologijo celic. Preverili smo tudi prepustnost membran za raztopine nekaterih sladkorjev.

Tjaša Skarlovnik, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, University of Maribor
Supervisor: **Urban Bren**, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, University of Maribor
Co-supervisor: **Gregor Hostnik**, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, University of Maribor
Co-supervisor: **Andraž Lamut**, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, University of Maribor

Osmolarity Measurements of Isotonic Drinks for Body Hydration during Sports Activity

Physical activity leads to increased heat production and thus to an increased body temperature. The body reacts by sweating, thus removing water and electrolytes. Sports drinks with electrolytes are one way of ensuring proper rehydration. In this work, the osmolality of selected samples of isotonic drinks was measured. However, as the osmolality value alone cannot be used to infer the tonicity of a drink, a new method for measuring tonicity using UV-Vis spectroscopy was developed. By following the scattering and absorption of light, we were able to observe the influence of NaCl solutions of different osmolality on the volume and shape of the red blood cells. This enabled us to distinguish between isotonic and hypotonic solutions. Due to the small difference between the isotonic and hypertonic solutions, a microscope with a multimodal reader was used to distinguish between the individual solutions in this range. This enabled us to observe the proportion of crenations in the solutions. The same measurements were performed on isotonic drinks. At first glance, most isotonic beverages appear to have lower tonicity than standard NaCl solutions of similar osmolality. However, low pH values of isotonic solutions, which affect cell morphology, complicated the measurements. We also tested the permeability of the membranes to solutions of selected saccharides.

Anja Kvartuh, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: **Stane Pajk**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentorica: **Martina Hrast Rambaher**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Sinteza in protimikrobno vrednotenje kemijske knjižnice, pripravljene z bakrom(I) katalizirano azid-alkin 1,3-dipolarno cikloadicijo

V magistrskem delu smo se osredotočili na sintezo kombinatorične knjižnice spojin s klik kemijo oziroma z bakrom(I) katalizirano azid-alkin 1,3-dipolarno cikloadicijo in na iskanje aktivnih spojin. Pripravili smo okrog 800 različnih 1,2,3-triazolnih produktov, ki so bili v 74 reakcijskih zmesih. Z analizo LC-MS smo identificirali vse produkte reakcij med monoazidi in monoalkini. Zaradi večjega števila spojin, ki so nastale po reakciji med monoazidi in dialkini, nam ni uspelo identificirati vseh, signali pa so bili v splošnem šibkejši. Zato bi bila nujna avtomatizacija procesa generiranja produktov in iskanja zadetkov ter omejitev na manjše število spojin v eni reakcijski zmesi. Biokemijske teste, s katerimi smo med nastalimi spojinami iskali aktivne, smo izvedli na bakterijskih encimih MurA in DdIB, virusnem encimu 3CLpro ter encimih hMAO-A in hMAO-B. Ovrednotili smo tudi protibakterijsko aktivnost na *E. coli* in *S. aureus*. Med testiranimi spojinami ni bilo zaviralcev encimov MurA, DdIB in 3CLpro, ena zmes pa je zavirala rast bakterije *S. aureus*. 39 reakcijskih zmesi je pokazalo zmerno zaviralno aktivnost encimov hMAO-A in/ali hMAO-B. V teh zmesih bi v nadaljnjem raziskovanju z metodo PUF AS-MS lahko poiskali aktivne spojine, primerne za optimizacijo.

Anja Kvartuh, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: **Stane Pajk**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: **Martina Hrast Rambaher**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Chemical Library Synthesised by Copper(I)-Catalysed Azide-Alkyne 1,3-Dipolar Cycloaddition

In the framework of the master's thesis, we focused on the synthesis of a combinatorial library of compounds by click chemistry or copper(I)-catalysed azide-alkyne 1,3-dipolar cycloaddition and on the search for active compounds. Around 800 different 1,2,3-triazole products were prepared in 74 reaction mixtures. All reaction products between monoazides and monoalkynes were identified by LC-MS analysis, but not all of the compounds formed after the reaction between monoazides and dialkynes could be identified. In this case, the signals were generally weaker, so automation of the product generation and the hit-finding process as well as the restriction to a smaller number of compounds in one reaction mixture would be necessary. Biochemical assays aimed at searching for active compounds were performed on the bacterial enzymes MurA and DdIB, the viral enzyme 3CLpro, the enzymes hMAO-A and hMAO-B. We also evaluated the antibacterial activity on *E. coli* and *S. aureus*. Among the compounds tested, there were no inhibitors of MurA, DdIB and 3CLpro, but one mixture inhibited the growth of *S. aureus*. In total, 39 reaction mixtures showed moderate inhibitory activity of hMAO-A and/or hMAO-B enzymes. In these mixtures, active compounds suitable for optimisation could be further identified by PUF AS-MS.

Jernej Cingl, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: **Tihomir Tomašič**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: **Andrej Emanuel Cotman**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Diastereoselektivno Friedel-Craftsovo alkiliranje v asimetrični sintezi analogov palidola in karafenola C

Oligomeri resveratrola in njihovi derivati so zaradi večje kompleksnosti ter bolj usmerjenega delovanja dobra podlaga za načrtovanje učinkovin. Pogosto vsebujejo substituiran indanski obroč, ki je del številnih učinkovin in spojin vodnic. Zaradi treh ali več kiralnih centrov v oligomerih resveratrola je sinteza stereomerno čistih analogov teh spojin težavna. V magistrski nalogi smo s Friedel-Craftsovim alkiliranjem na 1-indanolsko ogrodje, ki smo ga pripravili z asimetrično redukcijo Noyori-Ikariya, in na diol dibenzapentalensko ogrodje pripeli različne aromate. Z vrednotenjem razmerja med produkti *trans,trans* in *cis,trans* smo ugotovili, kako različni substituenti in njihov položaj na aromatu vplivajo na diastereoselektivnost Friedel-Craftsovega alkiliranja. Na podlagi analize knjižnic sintetiziranih spojin smo ugotovili, da je stereoselektivnost Friedel-Craftsovega alkiliranja odvisna od steričnih ovir in privlačnih interakcij π - π . Pri spojinah z dibenzociklopentalensko osnovo je vpliv steričnih ovir zaradi rigidnosti strukture, ki stabilizira konformacijo *trans,trans*, zanemarljiv, pri spojinah z 1-indanolsko osnovo pa je vpliv substituenta večji in odvisen od njegove velikosti in položaja na aromatskem obroču. Z biološkimi testiranjmi smo ugotovili, kakšno je agonistično delovanje analogov palidola z zmanjšanim številom hidroksilnih skupin na estrogene receptorje α . Takšne spojine so ob ustrezni modifikaciji potencialna podlaga za nova antiosteoporozna zdravila.

Jernej Cingl, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: **Tihomir Tomašič**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: **Andrej Emanuel Cotman**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Diastereoselective Friedel-Crafts Alkylation in Asymmetric Synthesis of Pallidol and Caraphenol C Analogues

Resveratrol oligomers and their derivatives provide a good basis for drug design due to their greater complexity and more targeted action. These often contain a substituted indane ring, which is a component of many active ingredients and lead compounds. The presence of three or more chiral centres in resveratrol oligomers makes the synthesis of stereomerically pure analogues a challenge. In this master's thesis, we attached different aromatic compounds to a 1-indanol scaffold prepared by asymmetric Noyori-Ikariya reduction and to a diol-dibenzopentalene scaffold by Friedel-Crafts alkylation. By evaluating the ratio between *trans,trans* and *cis,trans* products, we determined how different substituents and their positions on the aromatic ring influence the diastereoselectivity of Friedel-Crafts alkylation. Based on the analysis of libraries of synthesised compounds, we found that the stereoselectivity of Friedel-Crafts alkylation depends on steric hindrance and attractive π - π interactions. For compounds with a dibenzocyclopentane base, the influence of steric hindrance is negligible due to the rigidity of the structure, which stabilises the *trans,trans* conformation. However, for compounds with a 1-indanol base, the influence of the substituent is greater and depends on the size of the substituent and its position on the aromatic ring. In biological tests, we found agonistic activity of pallidol analogues with a reduced number of hydroxyl groups on estrogen receptors α . With appropriate modifications, such compounds are a potential basis for new drugs against osteoporosis.

Laura Medved, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: **Franc Vrečer**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: **Klemen Korasa**, Krka, d. d., Novo mesto
Somentor: **Sandi Svetič**, Krka, d. d., Novo mesto

Uporaba procesno analiznih tehnik pri spremljanju izdelave trdnih disperzij amlodipinijevega maleata

Slaba topnost zdravilnih učinkovin je pomemben izziv farmacevtske industrije pri razvoju novih zdravil. Kot način za izboljšanje biološke uporabnosti slabo topnih učinkovin se vse pogosteje uporabljajo trdne disperzije. V raziskovalnem delu smo trdno disperzijo amlodipinijevega maleata izdelali z vrtničnoslojnim granuliranjem. Izdelavo smo spremljali in vrednotili s spektroskopskima procesno analiznima tehnikama, ramansko in bližnjo infrardečo spektroskopijo. Iz pridobljenih podatkov smo z multivariatno analizo in metodo delnih najmanjših kvadratov izdelali modele za napoved vsebnosti amlodipinijevega maleata in deleža kristalinične učinkovine v vzorcih granulata. Izdelane modele smo eksperimentalno ovrednotili in pri vseh ugotovili sprejemljivo napako pri napovedovanju in dobro ujemanje napovedanih vrednosti z dejanskimi. S tem smo pokazali, da lahko z bližnjimi infrardečimi in ramanskimi spektroskopskimi meritvami izdelamo modele, ki jih lahko uporabimo pri izdelavi trdnih disperzij za spremljanje vsebnosti in zaznavanje morebitnega pojava kristalinične oblike učinkovine.

Laura Medved, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: **Franc Vrečer**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: **Klemen Korasa**, Krka, d. d., Novo mesto
Co-supervisor: **Sandi Svetič**, Krka, d. d., Novo mesto

Application of Process Analytical Tools in Monitoring Production of Amlodipine Maleate Solid Dispersions

Poor solubility of active pharmaceutical ingredients represents an important challenge for pharmaceutical industry in the development of new drugs. As a way to improve bioavailability of poorly water-soluble active ingredients, solid dispersions are increasingly being utilised. We prepared a solid dispersion of amlodipine maleate using fluid-bed granulation in our research work. The process was monitored and evaluated by Raman and near infrared spectroscopy process analysers. From the obtained spectroscopic data, we employed multivariate analysis and partial least squares regression to create models for predicting amlodipine maleate content and the proportion of the crystalline active ingredient in the granulate samples. We experimentally evaluated the developed models and found acceptable prediction errors and a good fit between the predicted and actual values. This demonstrated we can create models based on Raman and near infrared spectra which can be used in the solid dispersion production processes for monitoring the active pharmaceutical ingredient content and detecting the potential occurrence of its crystalline forms.

Tim Ravnjak, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentorica: **Bojana Žegura**, Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana
Somentorica: **Martina Štampar**, Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana

Določanje citotoksičnega in genotoksičnega delovanja kompleksnih mešanic bisfenola A in njegovih analogov v *in vitro* hepatičnem 3D celičnem modelu

Bisfenoli (BP) so kemikalije, ki se uporabljajo pri proizvodnji polimerov, zlasti epoksidnih smol in plastike. Prisotni so v številnih vsakdanjih izdelkih. Z njihovo uporabo so se pojavile skrbi o negativnih vplivih BP na zdravje ljudi, nova dognanja pa so privedla do regulacije. To je spodbudilo razvoj analogov BPA, ki večinoma nimajo znanega toksikološkega profila, pomanjkljivo pa je tudi znanje o delovanju kompleksnih mešanic analogov. V magistrskem delu smo na HepG2 3D-celičnem modelu (sferoidu) *in vitro* proučili vpliv BPA, analogov BPAP, BPC ter binarnih mešanic BPA + BPAP in BPA + BPC na citotoksično in genotoksično aktivnost ter vpliv na nastanek oksidativnega stresa po 24 oziroma 96 urah. Citotoksičnost smo določili z mikroskopijo ter testoma MTS in ATP, genotoksičnost s testom komet, oksidativni stres pa z merjenjem MDA in produkcije ROS. Ugotovili smo, da testirani BP ne vplivajo na rast sferoidov in da citotoksično po 24 urah deluje le BPAP (pri 20 μM). Vsi testirani BP in obe mešanici so povzročili oksidativni stres, na dolgotrajen oksidativni stres pa je najbolj vplival BPAP. S testom komet smo ugotovili, da po 24 urah vsi BP in obe mešanici povzročijo verižne prelome DNA, kar smo potrdili tudi po 96 urah. Izjema je bila mešanica BPA + BPC, ki ni delovala genotoksično. Največji genotoksični potencial ima BPC, ki je povzročil prelome DNA pri $\geq 10 \mu\text{M}$ (24 ur) in $\geq 1 \mu\text{M}$ (96 ur). Z rezultati smo prispevali k znanju o toksičnosti analogov BPA in njihovih binarnih mešanic, vendar je treba zaradi pogoste prisotnosti BP raziskave nadaljevati.

Tim Ravnjak, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana
Supervisor: **Bojana Žegura**, National Institute of Biology, Ljubljana
Co-supervisor: **Martina Štampar**, National Institute of Biology, Ljubljana

Assessment of Cytotoxic and Genotoxic Activities of Complex Mixtures of Bisphenol A and Its Analogues in *In Vitro* Hepatic 3D Cell Model

Bisphenols (BPs) are chemicals used in the production of polymers, particularly epoxy resins and plastics. They are ubiquitous in everyday products. With a growing use of BPs, concerns about their adverse effects have emerged, leading to new findings and regulation. This has encouraged the development of BPA analogues, which are problematic due to unknown toxicological profiles and the lack of knowledge about the effects of complex mixtures of these analogues. We addressed this issue in the master's thesis, in which we studied the impact of BPA, its analogues BPAP, BPC, and binary mixtures BPA+BPAP and BPA+BPC on cytotoxic and genotoxic activity, as well as oxidative stress after 24 hours and 96 hours, using an *in vitro* HepG2 3D cell model (spheroid). Cytotoxicity was determined by microscopy, MTS and ATP assays, genotoxicity with comet assay, and oxidative stress by measuring MDA and ROS production. We found that the tested BPs do not affect spheroid growth and that only BPAP exhibited cytotoxicity after 24 hours (20 μM). All tested BPs and both mixtures induced oxidative stress, with BPAP having the greatest impact on prolonged oxidative stress. All BPs and both mixtures caused DNA strand breaks after 24 hours and 96 hours, except for the BPA+BPC mixture, which was not genotoxic after 96 hours. BPC showed the highest genotoxic potential, causing DNA breaks at $\geq 10 \mu\text{M}$ (24 hours) and $\geq 1 \mu\text{M}$ (96 hours). Our findings contribute new data to the toxicity of BPA analogues and their binary mixtures, but further research is necessary due to the increasing presence of BPs.

Gašper Tomšič, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: **Izidor Sosič**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: **Andrej Perdih**, Kemijski inštitut, Ljubljana

Eksperimentalno in računsko ovrednotenje vpliva povezovalnih heteroatomov v 4,6-substituiranih 1,3,5-triazin-2(1*H*)-onih na zaviranje človeške DNA topoizomeraze IIa

Razred 4,6-disubstituiranih 1,3,5-triazin-2(1*H*)-onov ima dokazan potencial pri zaviranju človeške topoizomeraze IIa (topo IIa), ključne tarče za kemoterapijo. Raziskali smo vpliv zamenjave povezovalnih atomov žvepla z atomi kisika v strukturi 4,6-disubstituiranih triazinonov na fizikalno-kemične lastnosti spojin in zaviranje topo IIa. Sintezo smo izvedli z dvojnim pripenjanjem etrov na trikloro-1,3,5-triazin ter s pretvorbo v triazinon. Sintetizirali smo več končnih O-triazinonov, pri čemer sta bili dve spojini neposredna analoga dostopnih S-triazinonov. O-analogi so pokazali nekoliko zmanjšano zaviranje topo IIa, vendar izboljšane fizikalno-kemične lastnosti. Vezavo izbranih aktivnih spojin smo proučili s simulacijo molekulske dinamike, ki je pokazala, da je O-triazinonski analog gibljivejši in zavzame drugačen položaj v vezavnem mestu ATP kot njegov S-analog, pri čemer interagira s Tyr151 in tako stabilizira segment tarčnega proteina. Z računsko raziskavo smo razvili tudi novo metodo izračuna dinamičnih farmakoforov, ki je omogočila boljšo opredelitev vloge molekul vode pri vezavi in celovitejši pogled na medmolekulske interakcije. Ta metoda je uporabna tudi širše za analizo drugih proteinsko-ligandnih sistemov. Z raziskavo smo razširili poznavanje odnosa med strukturo in delovanjem tega razreda spojin ter pripomogli k racionalnemu načrtovanju nadaljnjih korakov optimizacije teh obetavnih katalitičnih zaviralcev topo IIa.

Gašper Tomšič, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: **Izidor Sosič**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: **Andrej Perdih**, National Institute of Chemistry, Ljubljana

Experimental and Computational Investigation of Influence of Linker Heteroatom in 4,6-Substituted 1,3,5-Triazin-2(1*H*)-Ones on Inhibitory Activity against Human DNA Topoisomerase IIa

The chemical class of 4,6-disubstituted 1,3,5-triazin-2(1*H*)-one has a proven potential in inhibiting human topoisomerase IIa (topo IIa), a key chemotherapy target. Here, we explored the influence of substituting the linker sulphur atoms with oxygen atoms in the 4,6-disubstituted triazinone structure on the compounds' physico-chemical properties and topo IIa inhibition. The synthesis began with double ether formation on trichloro-1,3,5-triazine and subsequent conversion into a triazinone. Several O-triazinones were synthesised, with two being direct analogues of previous S-triazinones. The O-analogues showed slightly reduced inhibition but improved physico-chemical properties. The binding of selected compounds was studied with molecular dynamics simulations, which indicated that O-triazinone is more flexible and adopts a different binding pose in the ATP binding site than its S-analogue, interacting with Tyr151 to stabilise a segment of the target protein. In the scope of computational research, we also developed a new method for computing dynamic pharmacophores, which highlighted the role of water molecules in binding, offering a more comprehensive view of intermolecular interactions. The method is applicable to other relevant protein-ligand systems. Our research has broadened our understanding of structure-activity relationships of this compound class as well as aided in planning a more rational approach to the optimisation of these promising catalytic inhibitors of topo IIa.

Tjaša Čukajne, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentorica: **Anja Klančnik**, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Somentor: **Aleš Berlec**, Institut Jožef Stefan, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Transformacija bakterij *Campylobacter jejuni* z genom za luciferazo in priprava sevov mutant z izbitimi geni, vključenimi v tvorbo biofilma

Patogene bakterije *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) so glavni povzročitelj bakterijskega gastroenteritisa pri ljudeh po vsem svetu. Za rast potrebujejo specifične razmere, vendar zaradi prilagoditvenih mehanizmov, vključno s tvorbo biofilma in transformacijo v nekultivabilne oblike, v okolju preživijo kljub svoji občutljivosti. Zato je razvoj novih, hitrih, specifičnih in ponovljivih metod za njihovo odkrivanje in kvantifikacijo, ki ne temeljijo na gojenju, izjemno pomemben. V magistrskem delu smo za vzpostavitev nove, specifične in ponovljive metode razvili metodo kvantifikacije bakterij z merjenjem bioluminiscence. Oblikovali smo plazmid pMW10_nLuc s konstitutivnim izražanjem luciferaze NanoLuc, ki smo ga transformirali v bakterijo *C. jejuni*. Inovativno metodo smo uporabili za kvantifikacijo planktonskih celic ter določanje adhezivnosti in filmotvornosti bakterij na polistirenski površini in na z mucinom prevlečeni površini, ki posnema površino sluznic. Primerjali smo jo z uveljavljenimi metodami in jo uporabili za ovrednotenje učinkovitosti antibiotika in naravnih protiadhezivnih snovi. Specifičnost nove metode smo potrdili v mešani kulturi s sevom *Salmonella enterica*, aplikativnost pa *in vitro* z modelom govejega fecesa in piščančjega soka kot živilskima modeloma. Uspešno smo pripravili tudi mutanta seva z izbitima genoma Cj0794 in Cj0736, ki sta domnevno ključna za tvorbo biofilma bakterij *C. jejuni*. Vpeljana metoda in razviti mutanti so pomembni za nadaljnje raziskovanje kompleksnega procesa tvorbe biofilma in preživetja teh bakterij.

Tjaša Čukajne, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana
Supervisor: **Anja Klančnik**, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana
Co-supervisor: **Aleš Berlec**, Jožef Stefan Institute, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Transformation of *Campylobacter Jejuni* Bacteria with Luciferase Gene and Preparation of Mutant Strains with Knocked-Out Genes Involved in Biofilm Formation

The pathogenic bacterium *Campylobacter jejuni* is a leading cause of bacterial gastroenteritis worldwide. It requires specific growth conditions, but despite its sensitivity to the environment, it survives due to adaptation mechanisms, including biofilm formation. The development of new, rapid, specific and reproducible detection methods is crucial as *C. jejuni* bacteria can enter the viable but non-culturable state. In the master's thesis, we developed the pMW10_nLuc plasmid with constitutive NanoLuc luciferase expression, transformed it into *C. jejuni*, and introduced an innovative bioluminescence-based method for bacterial quantification. Using this method, we quantified planktonic cells and evaluated adhesion and biofilm formation on polystyrene- and mucin-coated surfaces. We compared the method with established methods, used it to evaluate the efficacy of antibiotics and natural anti-adhesion agents, and demonstrated its specificity in mixed cultures with *Salmonella enterica* strains. Its applicability was tested *in vitro* using bovine faeces and chicken juice as food models. In conclusion, we have succeeded in producing mutant strains with the knocked-out genes Cj0794 and Cj0736, which are probably crucial for biofilm formation of *C. jejuni*. By introducing an innovative method and developing mutants, this research provides important tools for further research into the complex process of biofilm formation and survival of these bacteria.

Ema Kurent, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: **Robert Roškar**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentorica: **Nika Kržišnik**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Razvoj kromatografskega pristopa za vrednotenje vsebnosti kolagena v prehranskih dopolnilih

Za karakterizacijo kolagena se zaradi njegove kompleksne strukture uporablja več metod. Razvili smo izključitveno kromatografijo, ki smo jo uporabili za kvalitativno vrednotenje velikosti peptidov v prehranskih dopolnilih. Za kvantitativno določitev kolagena smo razvili štiri reverznofazne kromatografske metode. Vsebnost kolagena smo določili v njegovih intaktnih hidrolizatih, s tripeptidom GlyProHyp pa še v encimsko hidroliziranem vzorcu. Hidrolizirani vzorec smo derivatizirali do fluorescenčnega produkta in zanj razvili kromatografsko metodo s fluorescenčno detekcijo. S četrto metodo smo vsebnost kolagena določili po njegovi bazični hidrolizi do aminokislin, pri čemer smo derivatizirali hidroksiprolin – za kolagen značilno aminokislino. Kvantitativne metode so ustrezale postavljenim merilom sprejemljivosti v skladu s smernicami ICH. Glede na postavljene spektroskopske metode so kromatografske bolj selektivne ter nekatere omogočajo razlikovanje med ribjim in govejim kolagenom. Kot najboljša se je pokazala metoda, s katero smo določili vsebnost kolagena v njegovih intaktnih hidrolizatih. Z razvitimi metodami smo analizirali 13 prehranskih dopolnil in ugotovljene vsebnosti primerjali z navedenimi. Pri večini kolagenskih hidrolizatov so bile v intervalu med 80 in 115 %.

Ema Kurent, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: **Robert Roškar**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: **Nika Kržišnik**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Development of Chromatographic Approach to Evaluation of Collagen Content in Food Supplements

Various techniques are used for the characterisation of collagen due to its complex structure. We developed size-exclusion chromatography, which was used only for the qualitative evaluation of the size of collagen peptides in food supplements. In addition, we developed four reversed-phase chromatographic methods for the quantitative determination of collagen content. Collagen content was determined in intact collagen hydrolysates and in the enzymatically hydrolysed sample, in which content was determined via the tripeptide GlyProHyp. A chromatographic method with fluorescence detection was developed for the derivatised enzymatically hydrolysed sample. In the fourth method, the collagen content was determined by the basic hydrolysis of collagen to amino acids, whereby hydroxyproline – a typical collagen amino acid – was derivatised. Quantitative methods met the acceptance criteria as per ICH guidelines. The developed chromatographic methods were compared with established spectroscopic methods. Chromatographic methods are more selective, some also distinguish between marine and bovine collagen. The method for intact collagen hydrolysates proved to be the best. Thirteen food supplements were analysed using the developed methods, and the determined contents were compared with the declared contents. The contents for the majority of collagen hydrolysates were between 80 and 115%.

Rok Oberč, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: **Tihomir Tomašič**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: **Jaka Dernovšek**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Sinteza in vrednotenje protirakavega delovanja 4,5,6,7-tetrahidrobenzotiazolnih zaviralcev C-končne domene proteina toplotnega šoka 90

Proteini toplotnega šoka so šaperoni, ki sodelujejo pri zvijanju novonastalih proteinov v nativno konformacijo in tudi pri nastanku raka. Hsp90 je zato zanimiva tarča za razvoj novih protirakavih učinkovin, ki delujejo zaviralno na C- in N-končno domeno Hsp90. V eksperimentalnem delu smo sintetizirali 14 zaviralcev C-končne domene (CKD) Hsp90. Za osnovni skelet smo uporabili 4,5,6,7-tetrahidrobenzotiazolni obroč, na katerega smo s tvorbo amidne vezi na mestih 2 in 6 pripeli različne substituentne. Knjižnica A vsebuje spojine, pri katerih smo na mestu 6 pripeli 3,4-diklorobenzenski obroč, na mesto 2 pa uvedli različne substituentne z bazičnim centrom. Pri spojinah iz knjižnice B smo na mestu 6 osnovnega skeleta uvedli spremembe v aromatskem delu, na mestu 2 pa smo uvedli β -alanin. Namen naloge je bil ugotoviti, kakšen je odnos med strukturo in delovanjem (SAR) zaviralcev C-končne domene Hsp90. V prihodnje bi tako lahko protitumorne učinkovine sintetizirali s še močnejšim zaviralnim delovanjem. Biološko testiranje smo izvedli na človeški celični liniji raka dojke MCF-7 in rezultate navedli v obliki vrednosti IC_{50} antiproliferativnega delovanja. Največje zaviralno delovanje iz knjižnice A je imela spojina s substituentom (1-(1S,3S)-3-aminociklobutil)etan-1-onom z $IC_{50} = 0,37 \pm 0,03 \mu M$, iz knjižnice B pa spojina z naftalenskim obročem z $IC_{50} = 1,07 \pm 0,15 \mu M$.

Rok Oberč, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: **Tihomir Tomašič**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: **Jaka Dernovšek**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Synthesis and Evaluation of Anticancer Activity of 4,5,6,7-Tetrahydrobenzothiazole Inhibitors of C-Terminal Domain of Heat Shock Protein 90

Heat shock proteins are chaperones that assist in folding newly synthesised proteins into their native conformation and are also involved in cancer development. Therefore, Hsp90 has become an interesting target for developing new anticancer agents that inhibit the C- and N-terminal domains of Hsp90. Our experimental work was based on the synthesis of fourteen inhibitors of the Hsp90 CTD. We used a 4,5,6,7-tetrahydrobenzothiazole ring as a scaffold to which substituents were attached by forming an amide bond at positions 2 and 6. Library A contains compounds with a 3,4-dichlorobenzene ring at position 6, while various substituents were introduced at position 2. In library B, modifications were made at position 6 of the scaffold, while a β -alanine substituent was introduced at position 2. The aim of the study was to establish the structure-activity relationship (SAR) of Hsp90 CTD inhibitors in order to synthesise more potent anti-tumour compounds in the future. Biological assays were performed on the human breast cancer cell line MCF-7, and the results were presented as IC_{50} values for antiproliferative activity. The compound with the (1-(1S,3S)-3-aminocyclobutyl)ethan-1-one substituent from library A exhibited the greatest inhibitory activity with an IC_{50} value of $0.37 \pm 0.03 \mu M$. In library B, the compound with a naphthalene ring showed an IC_{50} value of $1.07 \pm 0.15 \mu M$.

Jaka Vrevc Žlajpah, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentorici: **Nataša Karas Kuželički**, **Alenka Šmid**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Analiza farmakogenetskih dejavnikov pri bolnikih z akutno limfoblastno levkemijo na terapiji s tiopurini

V študiji smo na slovenski pediatrični populaciji proučili, kako potencialni genetski in drugi dejavniki vplivajo na varnost in učinkovitost vzdrževalnega zdravljenja akutne limfoblastne levkemije, ki predstavlja kar 80 % vseh primerov levkemij pri otrocih. Najdaljše, vzdrževalno zdravljenje temelji na dnevni odmerki 6-merkaptopurina (6-MP) in tedenskih odmerkih metotreksata (MTX). Vzdrževalno zdravljenje smo ovrednotili z izračunom razmerja med prejetim in izračunanim odmerkom 6-MP, in sicer na dnevni ravni (R1) ter na ravni kumulativnih odmerkov (R2). Pred Bonferronijevo korekcijo za večkratno testiranje sta bila variantna alela v *ABCC2* (rs717620) in *MTHFD1* (rs2236225) po dominantnem modelu povezana s prejetjem večjih odmerkov od izračunanih. *ABCC2* (rs717620) je ostal značilen dejavnik tiopurinskega zdravljenja tudi po pretvorbi R2 v kategorično spremenljivko. V genu *TPMT*, ki je glavni farmakogenetski dejavnik tiopurinskega zdravljenja, smo s sekvenciranjem naslednje generacije med šestimi različicami, o katerih so že poročali v farmakogenetski bazi PharmGKB, našli eno sinonimno različico (rs17839843), ki bi lahko bila povezana s povečano encimsko aktivnostjo. Identificirali smo še štiri intronske različice, o katerih še niso poročali v bazi PharmGKB, vsaj dva napovedna modela v bioinformacijskem orodju PredictSNP pa sta jih označila kot škodljive. V študiji smo v slovenski populaciji bolnikov z akutno limfoblastno levkemijo prvič določili prisotnost različic v genu *NUDT15* in štiri polimorfizme v odsekih, ki vključujejo ekson 1 in ekson 3 (rs45465203, rs116855232, rs61746486, rs116855232). Po analizi z napovednimi modeli in spletnimi bazami podatkov sta se kot najpomembnejši pokazali intronska različica rs45465203 in drugačnosmiselna različica rs116855232. Frekvenci dveh variantnih alelov (rs61746486, rs116855232) sta 10-krat višji od tistih, o katerih v literaturi poročajo, da sta značilni za splošno evropsko populacijo. Na 15 preiskovancih smo razvili preliminarni napovedni model za R2, ki po metodi izbire najprimernejšega modela AIC vsebuje negenetski spremenljivki skupin zmerne in velikega tveganja (IR in HR), genotip *MTHFD1* (rs2236225) po dominantnem modelu in prilagojeno vsoto variantnih alelov *TPMT*.

Jaka Vrevc Žlajpah, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisors: **Nataša Karas Kuželički**, **Alenka Šmid**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Analysis of Pharmacogenetic Factors in Paediatric Patients with Acute Lymphoblastic Leukaemia Undergoing Thiopurine Therapy

To investigate potential genetic and other factors influencing the safety profile and efficacy of thiopurine-based treatment, we conducted a study on the Slovenian paediatric population with acute lymphoblastic leukaemia, which accounts for 80% of all leukaemias in the paediatric population. The longest treatment phase, i.e. the maintenance phase, is based on daily 6-mercaptopurine (6-MP) and weekly methotrexate (MTX) doses. The course of maintenance therapy was evaluated by calculating the ratio between the administered and calculated doses of 6-MP, both daily (R1) and cumulatively (R2), throughout the whole maintenance treatment. Variants in *ABCC2* (rs717620) and *MTHFD1* (rs2236225, dominant model) were significantly associated with higher doses than the calculated ones for both R1 and R2 (before Bonferroni correction was applied). *ABCC2* (rs717620) remained statistically significant after categorising the cumulative ratio to three distinct groups based on clinical utility of these values. Using next-generation sequencing, we found a synonymous variant in *TPMT*, the most important thiopurine-related pharmacogene, which has been associated with increased enzymatic activity in the pharmacogenomic PharmGKB database (rs17839843). Additionally, we described four new intronic variants in the *TPMT* gene that have not been reported in the PharmGKB database and were annotated as deleterious by at least two prediction models included in the bioinformatic prediction tool PredictSNP. To our knowledge, we were then the first to genotype samples from the Slovenian population for the presence of variants in exons 1 and 3 of *NUDT15*. We detected four variants (rs45465203, rs116855232, rs61746486, rs116855232), of which the rs45465203 intronic variant and the rs116855232 missense variant appear to have the biggest potential to influence enzymatic activity. The frequencies of rs61746486 and rs116855232 variant alleles are 10-times higher than those reported in the literature for the European population. Using data on 15 patients, included in the *TPMT* sequencing analysis, we developed a preliminary prediction model for R2 value using the AIC model selection method. It includes the following variables: stratification to intermediate and high risk groups, *MTHFD1* genotype (dominant model) and the adjusted sum of *TPMT* variant alleles.

Lan Vukolić, Tjaš Žvar, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentor: **Miha Arnol**, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Somentorica: **Metka Lenassi**, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

Mikro RNA v zunajceličnih veziklih kot biološki označevalec za neinvazivno odkrivanje zavrnitve presajene ledvice

Presaditev ledvice je najučinkovitejše zdravljenje končne ledvične odpovedi, vendar lahko neprepoznana in nezdravljena zavrnitvena okvara poslabša delovanje in preživetje presadka. Tradicionalni biološki označevalci niso dovolj občutljivi za odkrivanje njegove okvare, biopsija pa je invaziven in drag postopek s tveganji za bolnika. Zato so potrebni novi neinvazivni biološki označevalci za zgodnje odkrivanje okvare presadka. Namen naše raziskave je bil oceniti, ali je izražanje mikro RNA (miRNA), povezane z zunajceličnimi vezikli iz urina (uZV), lahko biološki označevalec za neinvazivno odkrivanje zavrnitve presajene ledvice. Iz urina prejemnikov presajene ledvice, pri katerih je bila opravljena nadzorna ali indikacijska biopsija presadka, smo obogatili uZV in s kvantitativno verižno reakcijo s polimerazo opredelili njihov profil miRNA ter povezavo z okvaro presadka. Preiskovance smo glede na histološko oceno biopsijskih vzorcev razdelili v tri skupine: z normalno histologijo (NH), z drugimi okvarami (DO) in z zavrnitveno okvaro (ZO). Skupine so se statistično značilno razlikovale po vrsti biopsije (nadzorna ali indikacijska; $p < 0,001$), času od presaditve do biopsije ($p = 0,006$), prisotnosti protiteles, specifičnih za darovalca (angl. donor-specific antibodies, DSA) ($p < 0,001$), serumskem kreatininu ($p = 0,021$) in ocenjeni hitrosti glomerulne filtracije ($p = 0,019$). Skupini z ZO in DO sta imeli višje koncentracije uZV kot skupina z NH ($p = 0,019$). Preiskovanci z ZO so imeli statistično značilno višjo raven miRNA-223-3p kot skupini z DO in NH ($p = 0,035$). Višja raven miRNA-223-3p je bila povezana s prisotnostjo DSA ($p = 0,024$). miR-223-3p v uZV je potencialni neinvazivni biološki označevalec zavrnitve presajene ledvice, vendar pa so potrebne potrditvene raziskave na večji neodvisni skupini bolnikov.

Lan Vukolić, Tjaš Žvar, Faculty of Medicine, University of Ljubljana
Supervisor: **Miha Arnol**, Faculty of Medicine, University of Ljubljana
Co-supervisor: **Metka Lenassi**, Faculty of Medicine, University of Ljubljana

Micro RNA in Extracellular Vesicles as Biomarker for Non-Invasive Detection of Kidney Transplant Rejection

Kidney transplantation is the most effective treatment for end-stage renal disease, but undetected and untreated rejection injury can impair allograft function and survival. Conventional biomarkers to detect allograft injury are not sensitive enough, while biopsy is an invasive and costly procedure associated with risks for the patient. Therefore, new non-invasive biomarkers are needed for early detection of allograft injury. The aim of this study was to investigate microRNAs (miRNA) associated with urinary extracellular vesicles (uEV) as biomarkers for the non-invasive detection of kidney allograft rejection. We enriched uEVs from the urine of kidney transplant recipients undergoing surveillance or indication allograft biopsy, identified their miRNA profile with quantitative polymerase chain reaction, and assessed their association with allograft injury. Patients were categorised into three groups according to the histological assessment of the biopsy specimens: normal histology (NH), rejection injury (RI), and non-rejection injury (NRI). The groups differed in the type of biopsy (surveillance or indication; $p < 0.001$), the time between transplantation and biopsy ($p = 0.006$), the presence of donor-specific antibodies (DSA) ($p < 0.001$), serum creatinine ($p = 0.021$), and estimated glomerular filtration rate ($p = 0.019$). The RI and NRI groups had higher urinary uEV concentrations than the NH group ($p = 0.019$). Subjects with RI had statistically significantly higher levels of miRNA-223-3p than the NRI and NH groups ($p = 0.035$). Higher levels of miRNA-223-3p were associated with the presence of DSA ($p = 0.024$). miR-223-3p in uEV is a potential non-invasive biomarker for allograft rejection; however, this finding needs to be confirmed on a larger independent cohort.

Nika Atelšek Hozjan, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru
Mentor: **Zoran Novak**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru
Somentorica: **Gabrijela Horvat**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru

Razvoj materialov z aktivnim kisikom za hitrejše celjenje ran

Kronične rane so velik zdravstveni problem po vsem svetu, saj se ne zacelijo v ustreznem času. Njihovo okolje je pogosto hipoksično, kar povzroči patološko vnetje in nastanek plasti bakterij, ki so odporne proti zdravilom. Za premagovanje teh izzivov je potrebno raziskovanje naprednih in večnamenskih biomaterialov. V magistrskem delu smo najprej iz cenovno dostopnih materialov razvili nove biokompatibilne aerogele. Vanje smo dodali aktivne učinkovine, ki ob stiku s telesnimi tekočinami proizvedejo kisik, in impregnirali protivnetno zdravilno učinkovino dexametazon. Rezultati karakterizacije materialov so pokazali, da imajo proizvedeni aerogeli zelo porozno strukturo in velike specifične površine. Meritve nabrekanja in stabilnosti so razkrile precejšnje zmožnosti absorpcije tekočine in obstojnost aerogelov v simulirani telesni tekočini. Analiza s skenirno elektronsko mikroskopijo je potrdila uspešno impregnacijo aktivnih učinkovin brez spremembe kemične sestave ali lastnosti končnih materialov, kar je bilo potrjeno tudi s termično analizo in infrardečo spektroskopijo s Fourierjevo transformacijo. Testi sproščanja protivnetne učinkovine in kisika *in vitro* so pokazali nadzorovano in trajno sproščanje v celotnem merilnem obdobju. Testiranje antibakterijskega delovanja je razkrilo inhibicijo rasti bakterij *E. coli* in *S. aureus*, kar potrjuje, da imajo aerogeli antibakterijske lastnosti. Naše ugotovitve dokazujejo, da smo uspešno razvili biorazgradljive aerogele s sinergijskim učinkom zdravljenja, kar bi lahko precej izboljšalo in pospešilo celjenje ran.

Nika Atelšek Hozjan, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, University of Maribor
Supervisor: **Zoran Novak**, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, University of Maribor
Co-supervisor: **Gabrijela Horvat**, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, University of Maribor

Development of Oxygen-Releasing Materials for Wound Healing

Chronic wounds are a major global health problem because they do not heal within a reasonable time frame. Their environment is often hypoxic, leading to pathological inflammation and the formation of drug-resistant microbial biofilms. Overcoming these challenges requires research into advanced and multifunctional biomaterials. In this study, we have developed new biocompatible aerogels from low-cost materials. We impregnated them with active ingredients that generate oxygen upon contact with body fluids and the anti-inflammatory drug dexamethasone. The characterisation results showed that the produced aerogels have a highly porous structure and large specific surface areas. Swelling and stability measurements revealed significant fluid absorption capacity and durability of the aerogels in simulated body fluid. Scanning electron microscopy confirmed the successful impregnation of active ingredients without altering the chemical structure or properties of the final materials, which was also verified by thermal analysis and Fourier transform infrared spectroscopy. *In vitro* dexamethasone and oxygen release tests demonstrated controlled and sustained release throughout the measurement period. Antibacterial tests inhibited the growth of *E. coli* and *S. aureus* bacteria, confirming that the aerogels have antibacterial properties. The results of our study demonstrate that we have succeeded in developing biodegradable aerogels with a synergistic therapeutic effect, suggesting that the use of these aerogels could significantly improve and accelerate wound healing.

Vladimir Smrkolj, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentor: **Nejc Umek**, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

Uporaba kvantno-kemijskih metod za napovedovanje farmakokinetičnih lastnosti metformina in modeliranje njegove difuzije skozi biološke membrane

V raziskavi smo se osredotočili na uporabo kvantno-kemijskih metod za napovedovanje farmakokinetičnih lastnosti metformina in modeliranje njegove difuzije skozi biološke membrane. Metformin je eno najbolj razširjenih zdravil za zdravljenje sladkorne bolezni tipa 2. Številni vidiki njegovega delovanja, še posebno dostopnost znotraj mitohondrija, pa so nepojasneni. S kvantno-kemijskimi metodami *ab initio* in programskim paketom Gaussian 16 smo izračunali vrednosti pK_a in $K_{o/w}$. Za modeliranje difuzije metformina skozi biološko membrano smo uporabili enodimenzionalni model difuzije, ki je temeljil na enačbi Smoluchowskega. Za glavno monoprotonirano obliko metformina smo s kvantno-kemijskimi izračuni določili vrednosti $pK_{a,1a} = 4,58$ in $pK_{a,2a} = 15,9$. Glede na eksperimentalne podatke sta vrednosti znotraj pričakovane negotovosti dveh enot. Naša ocenjena vrednost $K_{o/w}$ pri pH 7,4 je bila $1,84 \cdot 10^{-2}$, pri pH 7,8 pa $1,85 \cdot 10^{-2}$. Ugotovili smo, da na vrednost $K_{o/w}$ metformina pomembno vpliva pH, saj se spremeni za več kot osem velikostnih razredov, če pH spreminjamo od 2 do 16. Z modelom difuzije smo izračunali, da metformin prehaja notranjo mitohondrijsko membrano z značilnim časom prehoda 259 ns, koeficient permeabilnosti je v tem primeru $1,93 \text{ cm s}^{-1}$. Z raziskavo smo potrdili, da lahko s kvantno-kemijskimi metodami natančno napovemo farmakokinetične lastnosti metformina. Poleg tega smo z modelom difuzije ocenili, da notranja mitohondrijska membrana ni pomembna energijska pregrada za prehod metformina, ki lahko v mitohondriju hitro doseže podobno koncentracijo kot v citosolu.

Vladimir Smrkolj, Faculty of Medicine, University of Ljubljana
Supervisor: **Nejc Umek**, Faculty of Medicine, University of Ljubljana

Application of Quantum-Chemical Methods for Predicting Pharmacokinetic Properties of Metformin and Modelling Its Diffusion through Biological Membranes

Our research focuses on the application of quantum-chemical methods to predict the pharmacokinetic properties of metformin and to model its diffusion through biological membranes. Metformin is one of the most widely used drugs for treating type 2 diabetes, yet many aspects of its mechanism of action, especially its availability within the mitochondrial matrix, remain unclear. The pK_a and $K_{o/w}$ values were calculated using *ab initio* quantum-chemical methods with the Gaussian 16 software package. Metformin's diffusion through the biological membrane was modelled using a one-dimensional diffusion model based on the Smoluchowski equation. Quantum-chemical calculations yielded $pK_{a,1a} = 4.58$ and $pK_{a,2a} = 15.9$ for the primary monoprotonated form of metformin, which is within the expected uncertainty of two units compared to experimental values. The estimated $K_{o/w}$ value was $1.84 \cdot 10^{-2}$ at pH 7.4 and $1.85 \cdot 10^{-2}$ at pH 7.8. We also found that the $K_{o/w}$ value of metformin is significantly dependent on pH, changing by more than eight orders of magnitude as pH varied from 2 to 16. The diffusion model indicated that metformin crosses the inner mitochondrial membrane with a time constant of 259 ns, consequently the permeability coefficient is 1.93 cm s^{-1} . Our research confirms that quantum-chemical methods allow for accurate prediction of the pharmacokinetic properties of metformin. Additionally, the diffusion model estimated that the inner mitochondrial membrane does not present a significant energy barrier for metformin's passage, allowing it to quickly achieve similar concentrations in the mitochondria as in the cytosol.

Klemen Kirbus, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentorica: **Petra Kocbek**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: **Črt Dragar**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Vgrajevanje ibuprofena v magnetne nanodelce in pretvorba njihove disperzije v suho obliko

Magnetni nanodelci z oblogo iz mezoporoznega silicijevega dioksida so obetavni nanodostavni sistemi, saj združujejo prednosti mezoporozne strukture in magnetne odzivnosti. Kljub temu sta vgrajevanje učinkovin in priprava suhih formulacij magnetnih nanodelcev z vidika ohranjanja ustrezne velikosti in stabilnosti delcev velik tehnološki izziv. Namen našega dela je bil razviti metodo vgrajevanja modelne slabo topne učinkovine (ibuprofena) v mezoporozno oblogo magnetnih nanodelcev in vgrajevanje učinkovine sklopiti s sušenjem izdelane disperzije. Za vgrajevanje ibuprofena smo uporabili metodo adsorpcije učinkovine iz raztopine, pri čemer smo magnetne nanodelce inkubirali v etanolni raztopini ibuprofena, njegovo vgradnjo pa pospešili z ultrazvokom in stresanjem. Po končanem vgrajevanju učinkovine smo v zunanjem magnetnem polju ločili nanodelce od raztopine s prebitnim ibuprofenom in jih redispergirali v nakisani raztopini polietilenoksida in poloksamera 188. Tako pripravljeno disperzijo smo z elektrostatskim sukanjem pretvorili v suho nepraškasto obliko – nanovlakna. Razvito metodo vgrajevanja smo preizkusili na dveh vrstah magnetnih nanodelcev z mezoporozno oblogo z različno velikostjo por. Dokazali smo, da je vsebnost ibuprofena v magnetnih nanodelcih sorazmerna s kapaciteto por v oblogi. V magnetne nanodelce smo vgradili do ~20 % (m/m) ibuprofena, vsebnost magnetnih nanodelcev v nanovlaknih pa je prav tako dosegla ~20 % (m/m). Tako smo pripravili suho nepraškasto formulacijo magnetnih nanodelcev z vgrajeno učinkovino, ki jo lahko tik pred potencialno parenteralno aplikacijo hitro in preprosto redispergiramo.

Klemen Kirbus, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: **Petra Kocbek**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: **Črt Dragar**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Incorporation of Ibuprofen into Magnetic Nanoparticles and Transformation of Their Dispersion to Dry Form

Magnetic nanoparticles with a mesoporous silica coating have emerged as promising nanodelivery systems by combining the benefits of a mesoporous structure and magnetic responsiveness. However, drug loading and maintaining the stability and size of magnetic nanoparticles upon drying remains a challenge for pharmaceutical technology. Our study aimed to develop a method for loading a poorly soluble model drug (ibuprofen) into the mesoporous silica coating of magnetic nanoparticles, and coupling the drug loading with subsequent drying of the dispersion. The drug loading process utilised the method of drug adsorption from a solution. Magnetic nanoparticles were incubated in an ethanol-based ibuprofen solution, employing ultrasound and shaking. After the drug loading, the magnetic nanoparticles were magnetically separated from the ethanol solution with an excess of ibuprofen and redispersed in an acidic polymer solution containing polyethylene oxide and poloxamer 188. The prepared dispersion was transformed into a dry, non-powdered product – nanofibers, using the electrospinning method. The optimised procedure was tested on two types of magnetic nanoparticles with mesoporous silica coatings of different pore sizes, demonstrating a correlation between the ibuprofen loading and the capacity of the pores in the mesoporous coating. The prepared nanofibers contained ~20% (w/w) of magnetic nanoparticles, which were loaded with up to ~20% (w/w) of ibuprofen. Thus, we prepared a solid non-powdered formulation with ibuprofen-loaded magnetic nanoparticles, which can be simply and rapidly reconstituted just prior to potential parenteral application.

Urša Zevnik, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Mentorica: **Damjana Rozman**, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

Optimizacija protokola za določanje biooznačevalcev cirkadianega ritma melatonina in kortizola

Cirkadiani sistem usklajuje biološke procese z dnevnimi ritmičnimi spremembami v naravi. Ker so motnje cirkadianih ritmov povezane s številnimi boleznimi, je ključno, da jih lahko zanesljivo določimo. To običajno zahteva oceno dnevnega spreminjanja koncentracije glavnih cirkadianih biooznačevalcev, melatonina in kortizola. Njuno koncentracijo v plazmi ali slini lahko izmerimo s tekočinsko kromatografijo, sklopljeno s tandemsko masno spektrometrijo (LC-MS/MS). V raziskovalnem delu smo sistematično optimizirali protokol za pripravo vzorcev za vnos v sistem LC-MS/MS. S poenostavljenim protokolom smo nato določili vpliv časovnega zamika na 24-urni ritem melatonina in kortizola. V poskusnem eksperimentu na eni preiskovanki, ki je en mesec preživela v drugem časovnem pasu, smo pokazali, da se faza nihanja melatonina spremeni za čas, enak časovni razliki, nasprotno pa iz ritma kortizola zamika faze ni bilo mogoče natančno določiti.

Urša Zevnik, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Supervisor: **Damjana Rozman**, Faculty of Medicine, University of Ljubljana

Optimisation of Protocol for Measurement of Circadian Biomarkers Melatonin and Cortisol

The circadian system coordinates biological processes with the daily rhythmic changes in nature. Since the disruption of the circadian rhythm is likely a factor in the aetiology of numerous pathologies, it is crucial that we can reliably measure it. Typically, this involves assessing the daily fluctuations of key circadian biomarkers, namely melatonin and cortisol. Plasma or saliva samples are collected in regular time intervals and their concentrations can be quantified by liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). In this work, we optimised the LC-MS/MS sample preparation protocol, systematically altering one factor at a time. The simplified protocol was then used to investigate the effect of jet lag on the 24-hour rhythms of melatonin and cortisol. In a pilot study on one participant who spent a month in a different time zone, we showed that melatonin exhibited a phase shift consistent with the time difference induced by jet lag. Conversely, changes in cortisol levels did not enable precise phase shift calculations.

Matic Mohorko, Il. gimnazija Maribor
Mentorica: **Anita Mustač**, Il. gimnazija Maribor
Somentorji: **Urban Bren**, **Gregor Hostnik**, **Franjo Frešer**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru

Interakcije metil galata s Fe(II) in Al(III) ioni

V raziskovalni nalogi smo proučevali interakcije metil galata z ioni Fe(II) in Al(III). Metil galat je monomer hidrolizirajočih taninov, tj. spojina, ki se že od prazgodovine uporabljajo za strojenje usnja in izdelavo barvil. Danes jih uporabljamo tudi za nadziranje in zaviranje rasti bakterij, vplivajo pa tudi na biološko dostopnost kovinskih ionov. Za razumevanje njihove aktivnosti in uporabnosti so ključne študije interakcij taninov s kovinskimi ioni. V raziskovalnem delu smo z UV-Vis-spektroskopijo izmerili absorbance raztopin metil galata in ionov Fe(II) oziroma Al(III) ter z eksperimentalno pridobljenimi podatki narisali Jobove diagrame. Z ekstrapolacijo skrajnih točk na Jobovih diagramih smo določili stehiometrijo tvorjenih koordinacijskih spojin in pokazali, kako pH medija vpliva na njihovo stehiometrijo in količino. Modelno funkcijo smo prilagodili eksperimentalno določenim točkam na Jobovem diagramu, pri njeni izpeljavi pa smo predpostavili, da enkrat deprotonirani metil galat (H_2MeG^-) reagira s kovinskimi ioni. Z modelom smo izračunali vrednosti konstant tvorbe koordinacijskih spojin metil galata in ionov Fe(II) oziroma Al(III) in modelne molarne absorpcijske koeficiente ter pokazali, po kakšnem reakcijskem mehanizmu se tvorijo take spojine.

Matic Mohorko, Il. Gimnazija Maribor Grammar School
Supervisor: **Anita Mustač**, Il. Gimnazija Maribor Grammar School
Co-supervisors: **Urban Bren**, **Gregor Hostnik**, **Franjo Frešer**, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, University of Maribor

Interactions of Methyl Gallate with Fe(II) and Al(III) Ions

In this research paper, the interactions of methyl gallate, a monomer of hydrolysable tannins – compounds that have been used since prehistoric times for tanning leather and in the production of dyes – were studied. Today, they are used to control and inhibit bacterial growth, and they also affect the bioavailability of metal ions. Studies on the interactions of tannins with metal ions are crucial for understanding their activity and usability. In our research, the absorbances of solutions of methyl gallate and Fe(II) or Al(III) ions were measured using UV-Vis spectroscopy, and Job diagrams were plotted using the experimentally obtained data. By extrapolating the extreme points on the Job diagrams, the stoichiometry of the coordination compounds formed was determined. It was shown how the pH of the media affects the stoichiometry and the amount of coordination compounds that are formed. A model function was fitted to the experimentally determined points of the Job diagram, which was derived by assuming that the reaction species of the once deprotonated methyl gallate (H_2MeG^-) reacts with the individual metal ions. The model was used to calculate the values of the formation constants of the coordination compounds of methyl gallate and Fe(II) or Al(III) ions and the model molar absorption coefficients and to show which reaction mechanism is utilised to form such compounds.

Maša Bratkovič, Zoja Jesih, Gimnazija Vič
Mentorica: **Alenka Mozer**, Gimnazija Vič
Somentorica: **Taja Železnik Ramuta**, Kemijski inštitut Ljubljana

Razvoj inovativnih biosenzorjev za detekcijo virusne aktivnosti z uporabo orodij sintezne biologije

Pandemija virusa SARS-CoV-2 je pokazala velik pomen diagnostike virusnih okužb. Uveljavljene metode za odkrivanje virusov so lahko neuspešne pri zaznavanju mutiranih virusov, zato biosenzorji predstavljajo alternativen pristop. Namen naše študije je bil na osnovi naravnega senzorja CARD8 razviti biosenzor za zaznavanje virusov. Iz senzorske (spremenjen CARD8) in encimske komponente (razcepljen encim) smo zasnovali biosenzor in ga z različnimi eksperimentalnimi tehnikami tudi preizkusili. Najprej smo rekonstruirali aktivnost inflammasoma CARD8 v celični liniji HEK293T. Transfekciji biosenzorja in aktivatorja v celice HEK293T je sledila proteolitična cepitev in oligomerizacija CARD8. Tako smo dobili rekonstrukcijo razcepljenega encima, z njegovim delovanjem pa smo lahko izmerili aktivnosti biosenzorja. Razvili smo dva biosenzorja: v prvem primeru je bil CARD8 spojen z razcepljeno betalaktamazo, v drugem primeru pa z razcepljeno luciferazo. Medtem ko senzor CARD8 z razcepljeno betalaktamazo ni ustrezno zaznal aktivnosti virusne proteaze, je senzor CARD8 z razcepljeno luciferazo uspešno zaznal delovanje proteaz HIV in TEV. Prednost razvitega biosenzorja je v tem, da ne zaznava specifičnega virusnega zaporedja, temveč samo aktivnost virusne proteaze, zato je neodvisen od virusnih mutacij. Taki senzorji bi se lahko uporabljali v diagnostiki in tudi pri razvoju protivirusnih zdravil, usmerjenih proti virusnim proteazam.

Maša Bratkovič, Zoja Jesih, Gimnazija Vič Grammar School
Supervisor: **Alenka Mozer**, Gimnazija Vič Grammar School
Co-supervisor: **Taja Železnik Ramuta**, National Institute of Chemistry, Ljubljana

Designed Sensors of Viral Activity Based on Re-Engineered Innate Immunity Components

The importance of viral detection became obvious during the SARS-CoV-2 pandemic. As traditional methods can fail to detect mutated viruses, biosensors present a way to create robust alternatives. Our study aimed to develop a viral detection sensor by rewiring the CARD8 receptor. We designed and tested a biosensor comprised of the sensor component (modified CARD8) and the enzymatic component (split-protein system). First, we reconstructed the CARD8 inflammasome activity in HEK293T cells, which are often used in the development of biosensors but do not naturally express inflammasomes. Next, the sensor was transfected into the HEK293T cells. The presence of an activator led to the proteolytic cleavage, the CARD8 oligomerisation, and the reconstruction of the split protein, allowing us to measure its activity. For the first sensor, CARD8 was fused to split beta-lactamase, and in the second case CARD8 was fused to split luciferase. While the CARD8-beta-lactamase did not detect viral protease activity, the CARD8-luciferase sensor successfully detected HIV protease and TEV protease. The main advantages of this sensor are that it does not detect a specific viral sequence and is thus independent of mutations and its adaptability since it can be modified to detect any viral proteases. The developed sensors could be used in diagnostics and for the development of antiviral drugs targeting viral proteases.

Ana Iršič, Srednja šola Slovenska Bistrica
Mentorica: **Damijana Gregorič**, Srednja šola Slovenska Bistrica
Somentorica: **Nina Kostevšek**, Institut Jožef Stefan

Nanomedicina: dostavni sistemi za zdravila na osnovi telesu lastnih sestavin

V zadnjih desetletjih je nanotehnologija povzročila velik napredek v medicini. V raziskovalni nalogi se ukvarjamo z magnetnimi nanodelci, ki se v medicini lahko uporabljajo na različnih področjih (kot kontrastna sredstva za slikanje z magnetno resonanco, za magnetno hipertermijo ipd.). Pripravili smo jih tako, da se lahko uporabljajo kot dostavni sistem za zdravila. Najprej smo sintetizirali magnetne nanodelce, manjše od 25 nm, da smo dosegli superparamagnetizem. Magnetnih nanodelcev v telo ne moremo vstaviti, saj bi začela nastajati protitelesa, telo bi jih prepoznalo kot tujek in bi jih zavrnilo. Pomembno je, da so magnetni nanodelci biokompatibilni, kar smo dosegli tako, da smo jih prevlekli z eritrocitnimi membranami, torej s komponento telesu lastnih celic. Eritrocitne membrane pa smo dobili tako, da smo iz eritrocitov izločili hemoglobin in pri tem izolirali le celične membrane, iz katerih smo nato z ekstrudiranjem pripravili nanodelce, velike do 200 nm. V te eritrocitne membrane smo nato inkapsulirali magnetne nanodelce. S pretočnim eksperimentom smo preverili, ali se obdržijo na mestu, izpostavljenem zunanjemu magnetnemu polju. Opazovali smo padanje absorpcije, ki je potrdilo naše hipoteze.

Ana Iršič, Slovenska Bistrica Secondary School
Supervisor: **Damijana Gregorič**, Slovenska Bistrica Secondary School
Co-supervisor: **Nina Kostevšek**, Jožef Stefan Institute, Ljubljana

Nanomedicine: Drug Delivery Systems Using Body's Own Materials

In recent decades, great progress in medicine has been made by the use of nanotechnology. In my research project, I studied magnetic nanoparticles, which can be used in medicine in various fields (contrast agents in magnetic resonance imaging, for magnetic hyperthermia, etc.). We prepared them in a way that allowed us to use them as a drug delivery system. First, we synthesised magnetic nanoparticles smaller than 25 nm to achieve superparamagnetism. Magnetic nanoparticles cannot be inserted into the body, as the body would recognise them as a foreign matter. Antibodies would start to be produced, and the body would reject them. Nanoparticles have to be biocompatible. We achieved biocompatibility by coating the magnetic nanoparticles with erythrocyte membranes, i.e. a component of the body's cells. Erythrocyte membranes were obtained by extracting haemoglobin from erythrocytes, isolating only the cell membranes, from which we then prepared nanoparticles up to 200 nm in size using an extruder. Magnetic nanoparticles were encapsulated in the erythrocyte membranes. We conducted a flow experiment to check whether these remained in place when exposed to an external magnetic field. We observed a decrease in absorption, which confirmed the set hypotheses.

Zala Pia Biček, Jaka Brlogar, Zorica Jović, Nejc Skumavec, Biotehniški center Naklo
Mentorica: **Marjetka Kastelic Švab**, Biotehniški center Naklo

Antibiotično delovanje rastlinskih ekstraktov na zobne bakterije v ustni votlini psov

Ustna votlina psov je specifično okolje, v katerem so koristne in tudi patogene bakterije, ki povzročijo težave le, če se preveč namnožijo. Primer preprečevanja bolezni zob pri psih je mehansko odstranjevanje zobnega kamna in oblog pri veterinarju, kar je lahko dolgotrajno, drago, za psa pa neprijetno. V eksperimentalnem delu smo trem psom odvzeli brise s površine obolelih zob. Brise smo na gojišču Schaedler agar redčili vse do posameznih kultur. Nadaljevali smo z dvema uspešno izoliranima kulturama, *Bergeyella zoohelcum* (*B. zoohelcum*) in po Gramu pozitivnimi anaerobnimi streptokoki. Na teh dveh kulturah smo izvedli difuzijske antibiogramne s potencialno protibakterijskimi iz literature poznanimi rastlinami (z žajbljem, cimetom, ingverjem, nageljnovimi žbicami, brezo, rožmarinom), iz katerih smo pripravili 24 različnih ekstraktov (vodne ali alkoholne, perkolate ali destilate). Poleg mikrobioloških, laboratorijskih in biokemijskih metod identifikacije izoliranih kultur (barvanja po Gramu, katalaznega testa) smo za še natančnejše rezultate z masno spektrometrijo MALDI-TOF opravili tudi inštrumentalno metodo identifikacije mikroorganizmov. Dokazali smo, da rast bakterije *B. zoohelcum* v zobeh in ustni votlini najbolj zavira vodni perkolat ingverja. Poleg tega so njeno rast zavirali tudi alkoholni perkolati in destilati žajblja, rožmarina in klinčkov, z manjšimi inhibicijskimi conami pa tudi alkoholni destilat ingverja in hidrolat cimeta. Rast po Gramu pozitivnih streptokokov je najbolj zaviral perkolat rožmarina. Manj so jo zavirali alkoholni perkolati in destilati ingverja, žajblja in klinčkov ter alkoholna destilata rožmarina in breze. Pri nobeni od izbranih kultur nismo potrdili antibiotičnega delovanja alkoholnega destilata in perkolata cimeta, alkoholnega perkolata breze, vodnih perkolatov cimeta, breze, žajblja, rožmarina, nageljnovih žbic ter hidrolatov breze, žajblja, ingverja, cimeta, rožmarina in nageljnovih žbic.

Zala Pia Biček, Jaka Brlogar, Zorica Jović, Nejc Skumavec, Biotechnical Centre Naklo
Supervisor: **Marjetka Kastelic Švab**, Biotechnical Centre Naklo

Antibiotic Action of Plant Extracts on Dental Bacteria in Oral Cavity of Dogs

The oral cavity of dogs is a complex environment in which beneficial and pathogenic bacteria are found. They cause problems only if they overly multiply. In practice, an example of measures to prevent a dental disease in dogs includes the mechanical removal of tartar and plaque at the veterinarian, which can be a long-term, expensive, and especially unpleasant procedure. In the experimental part, swabs were taken from the surface of the diseased canine teeth of three dogs. Swabs were diluted to individual cultures on Schaedler agar medium. For the following steps in our research, we decided to work with two successfully isolated cultures from dog teeth, *Bergeyella zoohelcum* (*B. zoohelcum*) and Gram-positive anaerobic streptococci. We performed diffusion antibiograms with potentially antimicrobial plants recognised from the literature (sage, cinnamon, ginger, cloves, birch, and rosemary), from which we prepared twenty-four differently prepared extracts (water-based/alcoholic, percolates or distillates). In addition to microbiological, laboratory, and biochemical methods of identification of isolated cultures (Gram staining, catalase test), we also performed the instrumental method of identification of microorganisms (MO) for even more accurate identification with MALDI-TOF mass spectrometry (MS). Through research, we proved that the water percolate of ginger has the most significant inhibitory effect on the bacteria of the teeth and oral cavity of dogs, *B. zoohelcum*. In addition, its growth was also inhibited by alcoholic percolates and distillates of sage, rosemary, cloves, an alcoholic distillate of ginger, and hydrolate of cinnamon, but with smaller inhibition zones. Gram-positive streptococci were best inhibited by rosemary percolate. Growth was less inhibited by alcoholic percolates and distillates of ginger, sage and cloves, and alcoholic distillate of rosemary and birch. We did not confirm the antibiotic activity of alcoholic distillates and percolates of cinnamon, alcoholic percolates of birch, water-based percolates of cinnamon, birch, sage, rosemary, cloves, and hydrolates of birch, sage, ginger, cinnamon, rosemary, and cloves in any of the selected cultures.

Maks Lah, Maj Horvat, Gimnazija Jožeta Plečnika Ljubljana
Mentor: **Grega Celcar**, Gimnazija Jožeta Plečnika Ljubljana
Somentorja: **Peter Rodič, Matic Može**, Institut Jožef Stefan

Lasersko strukturiranje površine aluminijeve zlitine za pripravo superhidrofobnih površin

Superhidrofobnost je lastnost površine, pri kateri se voda zaradi površinske napetosti podlage oblikuje v sferične kapljice. Učinkovitost je odvisna od strukture površine, spojin ali molekul, ki omogočajo hidrofobnost. Glavni cilj raziskave je bil razviti postopek za ustvarjanje superhidrofobne površine livne aluminijeve zlitine AlSi7Mg0,3 , ki bi bila hkrati zelo odporna proti koroziji in bi imela lastnosti samočiščenja. Proučili smo vpliv grobosti površine, dosežene z laserskim strukturiranjem, in učinek modifikacije površine s stearinsko kislino. Osredotočili smo se predvsem na to, kako lasersko strukturiranje vpliva na topografijo površine in njeno omočljivost, pri čemer smo površino ovrednotili s kontaktnim profilometrom, vrstičnim elektronskim mikroskopom in goniometrom. Korozijsko odpornost smo preverjali z elektrokemijskim laboratorijskim testom, pozneje pa ocenili lastnosti samočiščenja in odboj kapljic na površini. Rezultati so potrdili, da je superhidrofobna površina, pripravljena z optimalnimi parametri laserskega strukturiranja in modifikacije s stearinsko kislino, bolj odporna proti koroziji kot osnovni aluminij. Takšna površina omogoča tudi samočiščenje in odboj vode. Ugotovili smo, da lahko superhidrofobne lastnosti AlSi7Mg0,3 dosežemo na preprost, ekonomičen in industrijsko uporaben način, zaradi česar je taka modifikacija površine primerna za aplikacije, pri katerih je ključna ohranitev čistosti površine.

Maks Lah, Maj Horvat, Gimnazija Jože Plečnik Ljubljana Grammar School
Supervisor: **Grega Celcar**, Gimnazija Jože Plečnik Ljubljana Grammar School
Co-supervisors: **Peter Rodič, Matic Može**, Jožef Stefan Institute, Ljubljana

Laser Structuring of Aluminium Alloy Surface to Prepare Superhydrophobic Surfaces

Superhydrophobicity is a property of a surface on which, due to the surface tension of the substrate, water is formed into spherical droplets. The effectiveness depends on the structure of the surface, as well as compounds or molecules that enable hydrophobicity. The main goal of our research was to develop a process for creating a superhydrophobic surface of the cast aluminium alloy AlSi7Mg0.3 that would be highly resistant to corrosion and have self-cleaning properties. We examined the influence of surface roughness achieved by laser structuring and surface modification using stearic acid. We analysed how laser structuring affects the topography of the surface and its wettability. The surface was evaluated with a contact profilometer, a line electron microscope, and a goniometer. Corrosion resistance was analysed using electrochemical laboratory test. Self-cleaning properties and the bouncing of droplets on the surface were also evaluated. The results confirmed that the superhydrophobic surface prepared with optimal parameters of laser structuring and modification with stearic acid is more resistant to corrosion than brushed aluminium. Such a surface also enables self-cleaning and repels water. We found that superhydrophobic properties can be achieved on AlSi7Mg0.3 in a simple, economical, and industrially applicable way, making this type of surface modification suitable for applications in which maintaining surface cleanliness is critical.

Lúcia Halász, David Svetec, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Mentorica: **Mateja Godec**, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Somentorja: **Iztok Dovnik, Blaž Grilc**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Vrednotenje alternativ laktozi kot pomožni snovi v zdravilih za zmanjšanje vpliva na bolnike z laktozno intoleranco

V raziskavi smo vrednotili alternative laktozi kot pomožni snovi v zdravilih, da bi zmanjšali vpliv na bolnike z laktozno intoleranco. Po pregledu 185 zdravil na slovenskem trgu smo ugotovili, da jih 105 vsebuje laktozo. S spletno anketo smo preverjali, ali bolniki vedo za njeno prisotnost v zdravilih in kako pogosto imajo zaradi nje neželene učinke. V eksperimentalnem delu smo proučevali pretočne lastnosti pripravljenih placebo zmesi, pri katerih smo laktozo kot pomožno snov nadomestili s poliolli, in sicer s ksilitolom, manitolom, izomaltom in sorbitolom. Merili smo nasipni kot in pretočni čas ter izračunali Carrov indeks in Hausnerjevo razmerje. Iz zmesi smo naredili 400-miligramske tablete in preverili hitrost razpadanja, krušljivost in trdnost. Sorbitol je bil najboljša alternativa, saj so imele zmesi z njim podobne pretočne lastnosti kot zmesi z laktozo, tablete pa podoben čas razpadanja. Zmesi s sorbitolom smo dodali razgrajevalo Ac-Di-Sol® in s tem še izboljšali lastnosti zmesi, ki smo jo tudi tabletirali. V prihodnosti se je treba v farmacevtski industriji še bolj usmeriti k izboljšanju sestave tablet z omenjenimi poliolli, da bi se še bolj približali lastnostim tablet z laktozo in bi jo tako v prihodnosti lahko nadomestili.

Lúcia Halász, David Svetec, Gimnazija Franc Miklošič Ljutomer Grammar School
Supervisor: **Mateja Godec**, Gimnazija Franc Miklošič Ljutomer Grammar School
Co-supervisors: **Iztok Dovnik, Blaž Grilc**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Evaluation of Alternatives to Lactose as Excipient in Medications to Reduce Impact on Patients with Lactose Intolerance

In our study, we evaluated alternatives to lactose as an excipient in medications to reduce their impact on patients with lactose intolerance. After reviewing 185 medications on the market in Slovenia, we found that 105 of them contain lactose. Through an online survey, we assessed patients' awareness of lactose presence in medications and the frequency of adverse effects related to lactose. The experimental part involved studying flow properties of various prepared placebo mixtures, where we replaced lactose as an excipient with polyols, specifically xylitol, mannitol, isomalt, and sorbitol. We measured angle of repose, flow time, and calculated the Carr's index and Hausner ratio. From these mixtures, we formulated 400-milligram tablets and evaluated their disintegration rate, friability, and hardness. Sorbitol emerged as the best alternative, as mixtures with sorbitol exhibited similar flow properties to those with lactose, and the tablets had comparable disintegration times. Additionally, we added the disintegrant Ac-Di-Sol® to the sorbitol-containing mixture, further improving its properties. Future pharmaceutical research should focus on enhancing tablet formulations with these polyols to closely match lactose-based tablets and potentially replace them in the future.

Anđela Malinić, Primož Dornik, Sofija Povše, Gimnazija Jožeta Plečnika Ljubljana
Mentorica: **Darja Silan**, Gimnazija Jožeta Plečnika Ljubljana
Somentor: **Andrej Kržan**, Kemijski inštitut Ljubljana
Somentorica: **Lara Vertačnik**, Gimnazija Jožeta Plečnika Ljubljana

Mikro- in nanoplastika v naših ustih?

Ščetkanje zob ima bistveno vlogo pri odstranjevanju zobnih oblog in pri celotni ustni higieni. Vendar se zobne ščetke začnejo obrabljati in sčasoma postanejo manj učinkovite. Zanimalo nas je, kateri delci se sprostijo ob obrabi zobnih ščetk. V ta namen smo pripravili poskus z minirobotom, s katerim smo simulirali krožno ščetkanje zob. Ugotovili smo, da so se ščetine zobnih ščetk obrabile, kar pomeni, da so se ob tem sprostili mikro- in nanoplastični delci. Izločene delce smo določili s specialno mikroskopijo. Rezultati raziskave so pokazali, da je človek vsakodnevno izpostavljen nanoplastičnim delcem, ki zlahka vstopijo v telo, kar je v skladu s poročili o najdbi plastičnih delcev v krvi, mleku in (zdaj že kar) številnih organih. Raziskava torej prikazuje eno od poti, po kateri nanoplastika vstopi v naše telo, in potrjuje, da je nanoplastika res prisotna v našem telesu. Opravljena raziskava je osnova za nadaljnjo, še bolj poglobljeno raziskovanje o vplivu farmacevtskih sredstev (zobne paste, ustne vode). Hkrati se odpirajo številna vprašanja o reševanju problema kopičenja plastike v človeškem telesu.

Anđela Malinić, Primož Dornik, Sofija Povše, Gimnazija Jože Plečnik Ljubljana
Grammar School
Supervisor: **Darja Silan**, Gimnazija Jože Plečnik Ljubljana Grammar School
Co-supervisor: **Andrej Kržan**, National Institute of Chemistry, Ljubljana
Co-supervisor: **Lara Vertačnik**, Gimnazija Jože Plečnik Ljubljana Grammar School

Micro and Nanoplastics in Our Mouths?

Brushing your teeth plays an important role in plaque removal and oral hygiene. However, toothbrushes wear out and become less effective over time. We were interested in what particles are released when toothbrushes wear out. For this purpose, we prepared an experiment with a mini-robot that simulated circular tooth brushing. We found that toothbrush bristles wore out, which means that they released micro- and nanoplastic particles. The secreted particles were determined by special microscopy. Research results clearly showed that humans are continuously exposed to nanoplastic parts, which successfully interact in the body. The findings were in line with the reports on detecting plastic in human blood, human milk, and (now in a quite) many organs. The research therefore clearly showed how nanoplastics get into our bodies and demonstrated that the presence of nanoplastics in our bodies should not be a surprise. The completed research is the basis for further, even more in-depth research, where we will also investigate the influence of pharmaceutical agents (toothpaste, mouthwash). At the same time, it raises many questions on how to solve the problem of plastic accumulation in the human body.

Martina Kogovšek, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola
Mentor: **Marko Jeran**, Institut Jožef Stefan
Somentorica: **Maja Ponikvar-Svet**, Institut Jožef Stefan
Somentorica: **Lidija Zavasnik**, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola

Produkcija zelene mikroalge *Chlorella vulgaris* na polifluoroetilenpropilenskem (FEP) nosilcu kot potencialnem onesnaževalcu vodnih ekosistemov

Polifluoroetilenpropilen (FEP) uvrščamo med fluorirane polimere (PFAS). Pokazal se je kot pomemben industrijski material, katerega prednost je odpornost proti širokemu spektru kemikalij. Zaradi strogih okoljskih predpisov lahko v prihodnosti pride do omejitev njegove uporabe. Perfluorokemikalije so znane po izjemni obstojnosti v okolju, saj se dlje časa kopičijo v organizmih ter ostanejo v tleh, vodi in zraku. Ker takih molekul ni mogoče preprosto razgraditi, se poraja vprašanje dolgoročnega vpliva na ekosisteme. Pokazali smo, da prisotnost nosilca FEP pomembno pripomore k rasti in razmnoževanju celične kulture mikroalge *Chlorella vulgaris*. Po 41 dneh inkubacije celice preidejo v fazo intenzivne rasti in nastajanja biološko aktivnih učinkovin. Tvorijo se celični skupki in aglomerati delcev. Celična biomasa ob stiku floropolimera dobi neenakomerno matematično obliko. Sorazmerno z jedkanjem niha tudi koncentracija celičnih struktur. Rezultati kvantitativnih določanj skupnega fluorida in kroma so pokazali, da k njuni skupni vsebnosti pomembno pripomore kemično jedkana površina na podlagi brezvodnega vodikovega fluorida in močnega oksidanta kromil fluorida. Glede na komponente v kontrolnih vzorcih lahko zaznamo tudi privzeme fluorida in kroma ter njuno vezavo v nepolarni lipidni ovojnici modelnega organizma.

Martina Kogovšek, Biotechnical Education Centre Ljubljana, General Upper Secondary School and Veterinary Technician School
Supervisor: **Marko Jeran**, Jožef Stefan Institute, Ljubljana
Co-supervisor: **Maja Ponikvar-Svet**, Jožef Stefan Institute, Ljubljana
Co-supervisor: **Lidija Zavasnik**, Biotechnical Education Centre Ljubljana, General Upper Secondary School and Veterinary Technician School

Production of Green Microalgae *Chlorella Vulgaris* on Polyfluoroethylene Propyl Carrier as Potential Pollutant for Aquatic Ecosystems

Fluorinated ethylene propylene (FEP) is classified under per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS). It has been proven to be an important industrial material, resistant to a wide range of chemicals. Stricter environmental regulations may lead to restrictions on their use in the future. Perfluorochemicals are known for their exceptional environmental persistence, as they accumulate in organisms for a long time and persist in soil, water, and air. Since such molecules cannot be easily broken down, questions of long-term impact on ecosystems arise. We have shown that the presence of the FEP carrier significantly contributes to the growth and reproduction of the cell culture of the microalgae *Chlorella vulgaris*. After 41 days of incubation, the cells entered the phase of intensive growth and production of biologically active substances. Whole clusters and agglomerates of particles were formed. Upon contact with the fluoropolymer, the cellular biomass assumed an irregular mathematical shape. Proportionally to the use of the etchant of a carrier, the concentration of cellular structures also fluctuated. The results of quantitative determinations of total fluoride and chromium showed that a chemically corrosive surface based on anhydrous hydrogen fluoride and the strong oxidising agent chromyl fluoride significantly contributes to the content of total fluoride and chromium. According to the determinations of the components in the control samples, we can detect the uptake of fluoride and chromium, and their further binding into the non-polar lipid envelope of the model organism.

Eva Urankar, Pia Olga Šepec, Gimnazija Novo mesto
Mentorica: **Branka Klemenčič**, Gimnazija Novo mesto
Somentor: **Aleš Gasparič**, Krka, d. d., Novo mesto

Črni česen

Česen je zelo pogost v naši prehrani, predvsem kot začimba. Različne pripravke iz česna tržijo zaradi njihovih koristnih učinkov na zdravje. Med pripravke lahko uvrstimo tudi črni česen, ki je zaradi zanimivega okusa in preproste priprave pogost predvsem v kulinariki. Namen naše naloge je bil optimizirati in spremljati pripravo črnega česna. Poskuse smo izvedli v laboratorijskem merilu ob spreminjanju ključnih procesnih parametrov, in sicer temperature in trajanja procesa. Najprimernejši pogoji za pripravo črnega česna so pri 60 °C, 90-odstotni vlažnosti in trajanju 37 dni. Spremljali smo snovne spremembe med pretvorbo česna in jih analizirali. S tankoplastno kromatografijo smo primerjali, kako se je s pretvorbo česna spremenila vsebnost sladkorjev. Koncentracije melanoidinov in polifenolov smo analizirali z UV-Vis-spektrofotometrijo, prisotnost 5-hidroksimetilfurfurala pa smo spremljali in potrdili s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti.

Eva Urankar, Pia Olga Šepec, Gimnazija Novo mesto Grammar School
Supervisor: **Branka Klemenčič**, Gimnazija Novo mesto Grammar School
Co-supervisor: **Aleš Gasparič**, Krka, d. d., Novo mesto

Black Garlic

Garlic is very common in our everyday diet, mainly due to its positive effects on our health. In recent years, different garlic preparations have been increasingly present, as they do not have such strong smell and taste. Many also claim they have more health benefits than regular garlic. One of these is black garlic, which is common in gastronomy due to its interesting flavour and simple preparation. The purpose of our research was to optimise and monitor the process of black garlic preparation. The most suitable method for preparing black garlic is at 60 °C, 90% humidity, and for the duration of 37 days. We monitored and analysed changes in components, which happened during the ageing process. We compared the content of sugars in garlic throughout the transformation with thin-layer chromatography. We analysed the concentration of melanoidins and polyphenols with UV-Vis spectroscopy while monitoring and confirming the presence of 5-hydroxymethylfurfural in black garlic with high-pressure liquid chromatography.

Karin Forte, Anaisa Sterle Laignel, Gimnazija Ledina
Mentor: **Darko Košič**, Gimnazija Ledina
Somentor: **Aljaž Škrjanc**, Kemijski inštitut Ljubljana

Oblikovanje kovinsko-organskih poroznih materialov s pomočjo biokompatibilnih veziv za zajem CO₂

Zeolitno imidazolni materiali (ZIF-i) s svojo veliko notranjo površino omogočajo zajem velike količine plinov. Ta sposobnost jim daje velik potencial pri zajemu CO₂, s čimer bi lahko zmanjšali emisije v ozračju in pripomogli k preprečevanju poslabšanja globalnega segrevanja. Ker so materiali po sintezi v obliki prahu, jih je za uporabo v industrijske namene treba oblikovati v bolj praktične oblike. Glavni namen naše raziskave je bil ugotoviti, kako bi to lahko naredili z okolje neškodljivima polimeroma – alginatom in agarjem. Raziskavo smo izvedli na Kemijskem inštitutu v Ljubljani, kjer smo sintetizirali izbrane materiale ZIF-8, ZIF-90 in NICS-22 ter jih nato še oblikovali. Z alginatom smo izvedli sferifikacijo v dveh različnih kopelih in preizkusili novo tehniko oblikovanja z zamrzovanjem. Pri agarju pa smo opazovali vpliv njegove količine na ohranitev poroznosti naših materialov.

Karin Forte, Anaisa Sterle Laignel, Gimnazija Ledina Grammar School
Supervisor: **Darko Košič**, Gimnazija Ledina Grammar School
Co-supervisor: **Aljaž Škrjanc**, National Institute of Chemistry, Ljubljana

Formation of Metal-Organic Porous Materials Using Biocompatible Binders to Capture CO₂

Zeolitic imidazole frameworks (ZIFs) allow the capture of large quantities of gases due to their large internal surface area. This capability gives them great potential for capturing CO₂, which could, in turn, reduce CO₂ emissions into the atmosphere and help prevent the deterioration of global warming. Since the materials are in powder form after synthesis, they need to be transformed into more practical forms for further industrial use. The main purpose of our research was to find out how this could be done with environmentally friendly polymers, i.e. agar and alginate. The research was carried out at the Institute of Chemistry in Ljubljana, where we synthesised selected materials ZIF-8, ZIF-90, and NICS-22 and then shaped them. With alginate, we performed spherification in two different baths and tested a new technique that requires freezing. With agar, however, we observed the effect its amount had on the preservation of the material's porosity.

Zoja Rugelj, Gimnazija Bežigrad
Mentor: **Gregor Križ**, Gimnazija Bežigrad
Somentorica: **Klementina Polanec**, Institut Jožef Stefan
Somentor: **Boris Rogelj**, Institut Jožef Stefan

Kloniranje proteina TDP-43 s heksahistidinsko oznako na N-koncu

TDP-43 je protein s 414 aminokislinami, ki ga kodira gen TARDBP. Sestavljajo ga štiri domene, prva je N-končna domena (NTD), znotraj nje je jedrni lokalizacijski signal (NLS), sledita še dva RNA-prepoznavna motiva (RRM1 in RRM2) in z glicinom bogata C-končna domena (CTD). TDP-43 ima pomembno vlogo v patofiziologiji nekaterih nevrodegenerativnih bolezni, kot sta ALS in FTLD. Pri obeh živčne strukture v možganih postopno nazadujejo. Pri ALS se protein TDP-43 začne kopičiti v citoplazmi, kjer tvori citoplazemske inkluzije oziroma agregate. Namen raziskovalne naloge je bila priprava plazmida, ki omogoča izražanje fuzijskega proteina TDP-43-MBP z oznako His na N-koncu. Pripraviti smo ga želeli z dvema različnima metodama kloniranja: s prilegajočimi se nukleotidi in s sestavljanjem *in vivo* (IVA). S primerjavo rezultatov smo želeli pokazati, katera od metod je učinkovitejša.

Zoja Rugelj, Gimnazija Bežigrad Grammar School
Supervisor: **Gregor Križ**, Gimnazija Bežigrad Grammar School
Co-supervisor: **Klementina Polanec**, Jožef Stefan Institute, Ljubljana
Co-supervisor: **Boris Rogelj**, Jožef Stefan Institute, Ljubljana

Cloning TDP-43 Protein with N-Terminal Hexahistidine Tag

TDP-43 is a 414 amino acid protein encoded by the TARDBP gene. It consists of four domains, the first is the N-terminal domain (NTD), which contains the NLS localisation signal, followed by two more RNA-recognition motifs (RRM1 and RRM2) and a glycine-rich C-terminal domain (CTD). TDP-43 plays an important role in the pathophysiology of certain neurodegenerative diseases, such as ALS and FTLD, both of which involve the gradual degeneration of neural structures in the brain. In ALS, the TDP-43 protein begins to accumulate in the cytoplasm, where it forms cytoplasmic inclusions or aggregates. The purpose of the research was to prepare a plasmid that enables the expression of the TDP-43-MBP fusion protein with a His tag at the N-terminal end. Our aim was to prepare the plasmid using two different cloning methods: annealed nucleotides cloning and cloning with *in vivo* assembly (IVA). By comparing the results, we wanted to find out which of the methods was more efficient.

Zala Smeh, Eva Lubej, II. gimnazija Maribor
Mentorica: **Katja Holnthaner Zorec**, II. gimnazija Maribor
Somentor: **Eneko Jose Madorran Esteiro**, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

Vpliv tekočin za elektronske cigarete na neparenhimske jetrne celice

Vse več ljudi uporablja najrazličnejše elektronske cigarete (vape, puffe itd.). Pogostejša je tudi uporaba med mladimi, kar je skrb vzbujajoč problem. Običajno jih ljudje razumejo kot telesu manj nevarne od navadnih cigaret, delno tudi zato, ker jih kot take oglašujejo ponudniki. Ne glede na to, da so elektronske cigarete na trgu precej nove, je njihov citotoksični vpliv na celice pljučnega epitela že dobro raziskan. Svoje raziskovanje smo zato želeli razširiti na področje jeter, ki imajo ključno vlogo pri razgrajevanju snovi in toksinov v telesu. Preverjali smo negativen vpliv tekočin za elektronske cigarete na človeške neparenhimske jetrne celice. Na podlagi rezultatov smo ugotovili, da te motijo normalno delovanje celice in njenega metabolizma ter zmanjšujejo celično viabilnost.

Zala Smeh, Eva Lubej, II. Gimnazija Maribor Grammar School
Supervisor: **Katja Holnthaner Zorec**, II. Gimnazija Maribor Grammar School
Co-supervisor: **Eneko Jose Madorran Esteiro**, Faculty of Medicine, University of Maribor

Effect of Electronic Cigarette Liquids on Non-Parenchymal Liver Cells

More and more people use all kinds of electronic cigarettes (vape, puff, etc.). They are also frequently used by young people, which is becoming a worrying problem. They are often perceived as less harmful to the body than regular cigarettes, partly because they are advertised in this way by providers. Despite the fact that electronic cigarettes are relatively new on the market, their cytotoxic effect on lung epithelial cells has been already well researched, so we wanted to extend our research to the liver, which plays a key role in converting and releasing substances and toxins from the body. We investigated the negative impact of electronic cigarette liquids on human non-parenchymal liver cells. Based on the results, we have found that these liquids disrupt the normal functioning of the cell, its metabolism and reduce cell viability.

Zarja Huber, Nastja Karas, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Mentorica: **Nina Žuman**, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer

Mikroplastika v kapsulah za pranje perila in vpliv temperature na njihovo raztapljanje

Kapsule in lističi za pranje perila so razširjen in praktičen izdelek, ki se uporablja v gospodinjstvih po vsem svetu. Čeprav se kapsule množično uporabljajo, smo se vprašali, ali so res tako neškodljive, kot se zdi na prvi pogled. Cilj naše raziskave je bil ugotoviti, ali se ovoj kapsul in pa lističi med pranjem res povsem razgradijo, ali lahko na to vpliva temperatura, pri kateri se raztapljajo, in ali je pri raztapljanju pri enakih pogojih kakšna razlika med različnimi znamkami kapsul. Prav tako smo raziskali vpliv kapsul na okolje in zdravje ljudi in živali. Z mešalnikom Rotamix in magnetom smo v destilirani vodi pri različnih temperaturah raztopili več blagovnih znamk kapsul, mikroskopirali vzorce končnih zmesi in jih primerjali s slikami mikroplastike s spleta. Ugotovili smo, da kapsule po raztapljanju pustijo sledi mikroplastike in da se velikost teh delcev ne razlikuje bistveno glede na temperaturo vode med raztapljanjem in glede na blagovno znamko kapsule.

Zarja Huber, Nastja Karas, Gimnazija Franc Miklošič Ljutomer Grammar School
Supervisor: **Nina Žuman**, Gimnazija Franc Miklošič Ljutomer Grammar School

Microplastics in Laundry Detergent Capsules and Effect of Temperature on Their Dissolution

Laundry capsules and sheets are a common and practical product used in households all over the world. Although the capsules are widely used, we asked ourselves whether they are really as harmless as they seem. The goal of our research was to find out whether the capsule casings and the laundry sheets really completely dissolve during washing, whether dissolution can be affected by the temperature at which they dissolve and whether there is a difference between different capsule brands when dissolved under the same conditions. We also investigated the impact of capsule use on the environment and the health of living beings. We dissolved different capsule brands in distilled water at different temperatures using a Rotamix device and a magnet. We microscopically examined samples of the final mixture and compared them with images of microplastics from online sources. We found that the capsules leave behind traces of microplastics after dissolution and that the size of these particles does not vary significantly depending on water temperature during dissolution or the capsule brand.

Patricija Zupan, Gimnazija Kranj
Mentorica: **Petra Košir**, Gimnazija Kranj
Somentor: **Janez Mavri**, Kemijski inštitut Ljubljana

Mikrokinetika delovanja lokalnih anestetikov z aplikacijo na kokainu

V raziskavi smo razvili teoretični model, s katerim smo dobili vpogled v prehod lokalnih anestetikov skozi zunanjo membrano nevronov. S tem modelom smo prišli do pomembnih ugotovitev o teh anestetikih, na katere vpliva predvsem pH. Naš cilj je bil simulirati hitrost prehajanja anestetika skozi membrano. Z enačbo Smoluchowskega smo naredili numerično simulacijo in ugotovili, da lokalni anestetik kokain izjemno hitro prehaja skozi membrano. Rezultati so pokazali, da se kokain v primerjavi z vodno raztopino, tako kot večina lokalnih anestetikov, v nevtralnem stanju zaradi lipofilnosti raje zadržuje v membrani. V kislem okolju z nižjim pH pa se lokalni anestetiki protonirajo, zato so raje zunaj celice. Določili smo tudi količino kokaina, ki bi bila v celici, zunaj nje in v membrani, če bi ga vbrizgali v bližino živčne celice. Raziskovali smo pri različnih pH-vrednostih, saj so vneta tkiva običajno kislila. Ugotovili smo, da razlike v količini kokaina glede na vneta in zdravo tkivo niso tako velike, kot smo pričakovali. Kljub spremembi pH se količina kokaina v celici in membrani ni bistveno spremenila.

Patricija Zupan, Gimnazija Kranj Grammar School
Supervisor: **Petra Košir**, Gimnazija Kranj Grammar School
Co-supervisor: **Janez Mavri**, National Institute of Chemistry, Ljubljana

Microkinetics of Local Anaesthetics Function with Application to Cocaine

In this study, we developed a theoretical model that provided insight into the passage of local anaesthetics through the outer membrane of neurons. With the use of this model, we have obtained important findings about these anaesthetics depending mainly on the pH value. Our aim was to simulate the rate of passage of an anaesthetic through the membrane. Using Smoluchowski equation, which allowed the numerical simulation, we found that the local anaesthetic cocaine passes through the membrane with an extraordinary rate. Our results showed that cocaine, as other neutral local anaesthetics, due to its lipophilicity is preferred to be retained in cell membranes as opposed to an aqueous solution. However, in an acidic environment with low pH, they are protonated and prefer to be located outside the cell. We also focused on determining the amount of cocaine that would be inside the cell, inside the membrane, and outside the cell if the doctor injected it near a nerve cell. Our research was conducted at different pH values as inflamed tissues are usually acidic. Surprisingly, we found that the differences in the amount of cocaine in terms of inflamed and healthy tissue were not as large as we expected. Despite the change in pH, the amount of cocaine in the cell and membrane did not change significantly.

Mija Kapun, Gimnazija Jožeta Plečnika Ljubljana
Mentor: **Grega Celcar**, Gimnazija Jožeta Plečnika Ljubljana
Somentor: **Peter Rodič**, Institut Jožef Stefan

Površinska zaščita magnezijeve zlitine za aplikacije v biomedicini

Magnezijeva zlitina AZ31 se zaradi kemičnih in mehanskih lastnosti pogosto uporablja v različnih aplikacijah, tudi v implantatih. Vendar je njena uporaba omejena zaradi nezadostne korozijske zaščite. V tej raziskavi smo proučili korozijske procese na polirani površini zlitine AZ31 med izpostavitvijo v umetni slini. Za izboljšanje korozijskih lastnosti smo uporabili hibridno sol-gel prevleko. Izvedli smo potopitvene teste in spremljali degradacijo zlitine s prevleko in brez nje. Površino smo analizirali z vrstičnim elektronskim mikroskopom, medtem ko smo korozijske lastnosti ovrednotili z elektrokemijskimi meritvami. Prav tako smo proučili rast biofilma na površini zlitine. Rezultati so pokazali, da je korozijska odpornost zlitine zelo odvisna od prisotnih faz v njej. Že po eni uri so se na polirani površini začeli pojavljati korozijski produkti. Nasprotno pa se je korozijska odpornost zlitine bistveno izboljšala s hibridno sol-gel prevleko. Pri analizi SEM smo na površini opazili manj korozijskih produktov, gostota korozijskega toka pa se je zmanjšala, kar potrjuje zaporno zaščito površine. Testi mikrobnih lastnosti so pokazali, da niti magnezijeva zlitina niti prevleka ne zavirata rasti biofilma. Tako smo dosegli boljšo korozijsko zaščito magnezijeve zlitine na preprost način, kar je dobra podlaga za nadaljnje študije zaviranja korozije ali celo kontroliranega raztapljanja.

Mija Kapun, Gimnazija Jože Plečnik Ljubljana Grammar School
Supervisor: **Grega Celcar**, Gimnazija Jože Plečnik Ljubljana Grammar School
Co-supervisor: **Peter Rodič**, Jožef Stefan Institute, Ljubljana

Surface Protection of Magnesium Alloy for Biomedical Applications

Magnesium alloy AZ31 is widely used in various applications, including in implants, owing to its chemical and mechanical properties. However, its use is limited due to insufficient corrosion protection. In this research, we studied corrosion processes on the polished surface of AZ31 alloy during exposure to artificial saliva. A hybrid sol-gel coating was used to improve the corrosion properties. We performed immersion tests and monitored the degradation of the alloy with and without coating. The surface was analysed using a scanning electron microscope, while corrosion properties were evaluated by performing electrochemical measurements. We also studied biofilm growth on the alloy surface. The results showed that the corrosion resistance of the alloy strongly depends on the phases present in the alloy. Corrosion products began to appear on the polished surface after only one hour of exposure. In contrast, the alloy's corrosion resistance was significantly improved by the hybrid sol-gel coating. In the SEM analysis, we observed fewer corrosion products on the surface and a decreased density of the corrosion current, which confirmed the barrier protection of the surface. Microbial properties tests showed that neither the magnesium alloy nor the coating inhibited biofilm growth. Thus, we achieved better corrosion protection of magnesium alloy in a simple way, which is a good prospect for further studies of corrosion protection or even controlled dissolution.

Tevo Rus, Gimnazija Jožeta Plečnika Ljubljana
Mentorica: **Lara Vertačnik**, Gimnazija Jožeta Plečnika Ljubljana
Somentor: **Sebastjan Kralj**, Gimnazija Jožeta Plečnika Ljubljana
Somentor: **Marko Jukič**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru

Optimiziranje lastnosti biološkega zdravila ansumab z uporabo pristopov računske kemije

Ebola in marburg spadata v družino filovirusov in sta že od odkritja v drugi polovici 20. stoletja endemična, predvsem v Afriki. Povzročata virusno hemoragično mrzlico, ki je zelo nalezljiva in pogosto smrtno nevarna bolezen, za katero je umrlo že veliko ljudi. Z raziskovalno nalogo smo želeli podrobneje spoznati virusa in prispevati k razvoju učinkovitega zdravila. S pregledom literature smo poglobili razumevanje o biokemičnem ozadju obeh virusov in o možnostih za zaviranje njunega delovanja. Osvojili smo znanje o virusih, natančneje filovirusih, protitelesih in proteinih ter proteinskih interakcijah, nato pa smo začeli empirični del. Namen naloge je bil poglobiti poznavanje delovanja filovirusov in tudi vplivanja mutacij na njihovo vezavo na protitelesa. Proučili smo delovanje in strukturo filovirusov in protiteles, ki zavirajo njihovo delovanje, opredelili ustrezne tarče za razvoj zdravila in upodobili ustrezne proteinske komplekse glikoproteinov in protiteles. Odkrili smo ustrezna skupna vezavna mesta obeh virusnih glikoproteinov in ustrezne mutacije protiteles za močnejšo vezavo ter jih kvantitativno ovrednotili.

Tevo Rus, Gimnazija Jože Plečnik Ljubljana Grammar School
Supervisor: **Lara Vertačnik**, Gimnazija Jože Plečnik Ljubljana Grammar School
Co-supervisor: **Sebastjan Kralj**, Gimnazija Jože Plečnik Ljubljana Grammar School
Co-supervisor: **Marko Jukič**, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, University of Maribor

Optimising Properties of Biopharmaceutical Ansumab by Using Computational Chemistry Approaches

Ebola and Marburg viruses, which belong to the filoviridae family, have been endemic since their discovery in the second half of the 20th century, especially in Africa. The viral haemorrhagic fever they cause is a highly contagious and often fatal disease that has killed a large number of people. In the research, we wanted to learn more about the viruses and contribute to the development of an effective medication. The research task began by reviewing the literature, which deepened the understanding of the biochemical background of the two viruses and the potential possibilities for inhibiting their activity. After gaining the necessary knowledge about viruses, more specifically filoviridae, antibodies, proteins and protein interactions, we started with the empirical part of the task by using a computer. The basic purpose of the task was to gain a deeper understanding of the functioning of filoviridae, as well as the effect of mutations on their binding to antibodies. With the help of literature and computer programs, we studied the function and structure of filoviridae and antibodies that inhibit their function, defined suitable targets for drug development, and visualised the corresponding protein complexes of glycoproteins and antibodies. On this basis, we discovered the corresponding common binding sites of both viral glycoproteins and the corresponding antibody mutations for stronger binding, which were quantitatively evaluated.

Dara Bavdek, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola
Mentorica: **Špela Železnikar**, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Somentor: **Metod Kovačič**, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola
Somentorica: **Nina Kacjan-Maršič**, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani

Vpliv (mikro)plastike na kaljivost semen bele gorjušice (*Sinapis alba* L.)

V raziskovalnem delu smo proučevali vpliv delcev mikroplastike (MP) polietilena majhne gostote (LDPE) na kaljenje semen bele gorjušice (*Sinapis alba* L.). Zaradi dolgotrajne uporabe plastike se kopiči v okolju, kjer se sčasoma pretvori v MP, ta pa moti naravne procese organizmov, kar je opazno zlasti pri rastlinah. V kmetijstvu so glavni vir MP plastične zastirke iz LDPE. Sprva smo raziskali splošen vpliv MP na uspešnost kaljenja bele gorjušice kot modelne rastline, nato pa smo raziskavo razširili tudi na vpliv MP na rast drugih rastlin do faze kalic. Ugotovili smo, da ima MP v nizkih koncentracijah pozitiven, v visokih pa negativen učinek na uspešnost kaljenja. Opazili smo, da MP v substratu fizično maši pore v semenski ovojnici in v koreninski kapici, kar ovira absorpcijo vode in hranilnih snovi iz okolja. To negativno vpliva na kaljenje in rast rastlin. Na podlagi teh ugotovitev sklepamo, da bi se zaradi fizičnega vpliva MP na rastline lahko zmanjšal pridelek na poljih.

Dara Bavdek, Biotechnical Educational Centre Ljubljana, General Upper Secondary School and Veterinary Technician School
Supervisor: **Špela Železnikar**, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana
Co-supervisor: **Metod Kovačič**, Biotechnical Educational Centre Ljubljana, General Upper Secondary School and Veterinary Technician School
Co-supervisor: **Nina Kacjan-Maršič**, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana

Effect of (Micro) Plastics on Seed Germination of White Mustard (*Sinapis Alba* L.)

This research investigates the impact of low-density polyethylene (LDPE) microplastic (MP) particles on the germination of seeds of white mustard (*Sinapis alba* L.). The persistent human use of plastic has led to an increasing accumulation of plastic in the environment, where it is eventually converted into MP, which interferes with the natural processes of organisms. This is particularly noticeable in plants. In agriculture, the main source of MP is the use of LDPE plastic mulches. Initially, we investigated the general effect of MP on the germination success of white mustard (*Sinapis alba* L.) as a model plant, and then extended the study to monitor the effect of MP on plant growth up to the germination stage. We found that MP had a positive effect on germination success at low concentrations and a negative effect at high concentrations. We observed that the presence of MP in the substrate physically clogs the pores in the seed coat and in the root cap, hindering the absorption of water and nutrients from the environment. This has a negative impact on germination processes and subsequent plant growth. Based on these findings, we conclude that the physical impact of MP on plants could lead to a reduction in yields in agricultural fields.

Jona Novak, Rozalija Lia Muršec, II. gimnazija Maribor
Mentorica: **Katja Holnthaner Zorec**, II. gimnazija Maribor
Mentor: **Jan Rožanc**, Inštitut za biomedicinske vede

Vpliv frakcij ekstraktov konoplje (*Cannabis sativa*) na celice melanoma

Konoplja (*Cannabis sativa*) postaja pomembna pri alternativnih načinih zdravljenja različnih bolezni. Kožni rak je ena najpogostejših oblik raka – melanom je ena najsmrtonosnejših oblik. Namen raziskave je bil ugotoviti, kakšen je vpliv posameznih frakcij dveh sort konoplje, bedrolita in bedrobinola, na celično viabilnost linij MEL-JUSO, SK-MEL 2 in SK-MEL 28. Celice smo tretirali s frakcijami (10 µg/ml, 15 µg/ml, 20 µg/ml in 25 µg/ml) in s testom Alamar Blue ugotavljali celično viabilnost. Vsebnost kanabinoidov v frakcijah smo določili z metodo HPLC. Ugotovili smo, da sta frakcija F3 bedrolitovega ekstrakta z največ kanabinoida CBD in frakcija F4 bedrobinolovega ekstrakta z največ THC pri koncentraciji 10 µg/ml statistično pomembno ($p < 0,05$) zmanjšali celično viabilnost. Opazili smo trend upadanja celične viabilnosti z višanjem koncentracije frakcij. Frakcije z različnimi kanabinoidnimi profili so imele različne vplive na celične linije z izjemo štirih frakcij in obeh ekstraktov so imele frakcije podoben vpliv na vse celične linije.

Jona Novak, Rozalija Lia Muršec, II. Gimnazija Maribor Grammar School
Supervisor: **Katja Holnthaner Zorec**, II. Gimnazija Maribor Grammar School
Supervisor: **Jan Rožanc**, Institute of Biomedical Sciences, Maribor

Effect of Extract Fractions of Medical Cannabis (*Cannabis Sativa*) on Melanoma Cells

Cannabis (*Cannabis sativa*) is becoming important in alternative treatments for various diseases. Skin cancer is one of the most common forms of cancer, and melanoma is one of the deadliest. The study aimed to determine the effect of individual fractions of two sorts of cannabis, Bedrolit and Bedrobinol, on cell viability of lines: MEL-JUSO, SK-MEL-2 and SK-MEL-28. Cells were treated with fractions (10, 15, 20 and 25 µg/ml), and cell viability test was performed using Alamar Blue. The cannabinoid content of the fractions was determined by HPLC. We found that the F3 fraction of Bedrolit extract with the highest CBD and the F4 fraction of Bedrobinol extract with the highest THC at a concentration of 10 µg/ml significantly ($p < 0.05$) reduced cell viability. We observed a trend of decreasing cell viability with increasing concentrations of fractions. Fractions with different cannabinoid profiles had different effects on cells of all cell lines. Except for four fractions and both extracts, fractions had similar effects on all cell lines.

Marsela Supé Vide, Gimnazija Novo mesto
Mentor: **Jure Kuhar**, Gimnazija Novo mesto
Somentor: **Borut Štrukelj**, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Protimikrobno delovanje nekaterih manj preiskanih eteričnih olj na rast bakterije *Escherichia coli*

V raziskovalni nalogi smo testirali protibakterijsko delovanje 21 manj znanstveno raziskanih eteričnih olj (EO) na rast bakterije *Escherichia coli* in delovanje EO materine dušice (*Thymus vulgaris*), ki je eno najmočnejših protibakterijskih EO in tudi dobro raziskano s farmakološkega in kemijskega vidika. Močno protibakterijsko delovanje smo ugotovili pri EO materine dušice (*Thymus vulgaris*), EO klinčkov (*Eugenia caryophyllata*), EO rožnega lesa (*Aniba rosaeodora*) in EO hrastovega lišaja (*Evernia prunastri*). S tehniko GC-MS smo določili tudi kemično sestavo spojin EO rožnega lesa (*Aniba rosaeodora*) in EO nepravega gvajaka (*Bulnesia sarmientoi*) ter ugotovili, da ima EO rožnega lesa največ monoterpenov linalola (66,6 %) in evkaliptola (10,5 %), EO nepravega gvajaka pa največ gvajola (41,9 %), ki ga uvrščamo med seskviterpene. Pri vseh treh spojinah smo ponovno izmerili protibakterijsko delovanje in ugotovili, da gvajol izkazuje kar 82,1 % protibakterijskega delovanja celotnega EO nepravega gvajaka, linalol in evkaliptol pa 22,8 % oziroma 63 % protibakterijskega delovanja glede na skupno delovanje testiranih EO.

Marsela Supé Vide, Gimnazija Novo mesto Grammar School
Supervisor: **Jure Kuhar**, Gimnazija Novo mesto Grammar School
Co-supervisor: **Borut Štrukelj**, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Antimicrobial Effect of Some Less Investigated Essential Oils on Growth of Bacteria *Escherichia Coli*

In the research work, we decided to test the effect of 21 less investigated essential oils (EO) on the growth of *Escherichia coli*. As a positive control EO, we selected the EO of thyme (*Thymus vulgaris*) as one of the most potent antibacterial EOs. The testing outcome revealed strong antimicrobial activity of the following EOs: EO of *Thymus vulgaris*, EO of *Eugenia caryophyllata*, EO isolated from wood of *Aniba roseadora*, and EO of oak moss (*Evernia prunastri*). Using GC/MS, we identified the chemical composition of two of the selected EOs: EO of *Aniba roseadora* and EO of *Bulnesia sarmientoi*. The results demonstrated that EO of *Aniba roseadora* is composed of two major monoterpenes: linalool (66.6%) and eucalyptol (10.5%), while the EO of *Bulnesia sarmientoi* is composed of 41.9% of sesquiterpene guaiol. All determined compounds were re-subjected to antimicrobial analysis. Surprisingly, guaiol revealed as much as 82.1% of all antibacterial activity of total EO of *Bulnesia sarmientoi*. The same analysis has shown that linalool and eucalyptol possess 22.8% and 63.0% of total antibacterial activity with regard to total activity of EO of *Aniba roseadora*, respectively.

Filip Zemljič, Anže Sitar, Brina Vita Mauhar, Gimnazija in srednja šola Rudolfa Maistra Kamnik
Mentorica: **Cirila Jeras**, Gimnazija in srednja šola Rudolfa Maistra Kamnik
Somentor: **Andraž Dolar**, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani

Vpliv endokrinih motilcev na rast in razvoj mokařjev *Tenebrio molitor* (Insecta: Coleoptera)

Kemikalije, ki delujejo kot endokrini motilci, so zaradi množične uporabe vse bolj prisotne v vsakdanjem življenju, zato se živi organizmi ne morejo izogniti stiku z njimi. V raziskovalni nalogi smo na hroščih mokařjih (*Tenebrio molitor*) proučili, kako na rast in razvoj organizma vplivata dve pogosti kemikaliji, tako imenovana endokrini motilca, to sta DEHP oziroma di-2-etilheksil ftalat in kadmij (Cd). Hrošči mokařji so pomemben organizem, ki se zadnje čase vse pogosteje uporablja v prehrani ljudi. So tudi pomembni razkrojevalci v naravnem okolju, poleg tega pa se uporabljajo kot testni organizmi v raziskavah učinkov različnih kemikalij. V raziskovalni nalogi smo izvedli prehranjevalni poskus, tako da smo v njihovo hrano vmešali različne koncentracije DEHP in kadmija. Ličinke mokařjev smo pod omenjenimi pogoji spremljali 8 tednov. Na podlagi rezultatov smo ugotovili, da 8-tedenska izpostavitve DEHP in kadmiju zmanjša preživetje ličink, upočasni razmnoževanje, povzroči upad telesne mase testnih živali, spremeni pogostost levitev in upočasni razvoj ličinke v bube in odrasle hrošče. V nalogi smo kot prvi razvili in predlagali metodo za spremljanje razmnoževanja odraslih hroščev mokařjev.

Filip Zemljič, Anže Sitar, Brina Vita Mauhar, Rudolf Maister Grammar and Secondary School Kamnik
Supervisor: **Cirila Jeras**, Rudolf Maister Grammar and Secondary School Kamnik
Co-supervisor: **Andraž Dolar**, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana

Influence of Endocrine Disruptors on Growth and Development of Mealworm *Tenebrio Molitor* (Insecta: Coleoptera)

Due to their extensive usage in everyday life, endocrine-disrupting chemicals and their pervasive presence in our environment necessitate inevitable exposure of living organisms to them. This research paper examines the impact of two prevalent chemicals, di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) and cadmium (Cd), on the growth and development processes of *Tenebrio molitor*, commonly known as mealworm. Mealworms hold significance not only as an increasingly common component of human nutrition but also as vital decomposers within natural ecosystems, further serving as test organisms in studying the effects of diverse chemical agents. In this research paper, we established a feeding regime as we subjected mealworm larvae to varying concentrations of DEHP and Cd mixed with oat bran over an 8-week period. Our findings revealed that an eight-week-long exposure to DEHP and cadmium resulted in reduced survival, reproduction and body weight in the test subjects compared to the control group. In addition, the exposure altered larval moulting and slowed down or halted the progression of larval development into pupal and adult stages. As part of the research project, we were also the first to develop and propose a method for monitoring the reproduction of adult mealworms.

Adam Žižek, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Mentorica: **Marija Meznarič**, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Somentorica: **Martina Vida**, Lutra, Inštitut za ohranjanje naravne dediščine

Prehranjevalne navade bobra (*Castor fiber*) in nutrije (*Myocastor coypus*) na pridelovalnih površinah ob reki Ščavnici in Gajševskem jezeru

Bober in nutrija sta vodna glodavca, ki naseljujeta slovenske vodne ekosisteme. Prehranjujeta se s korozi na njivah, kmetje pa zaradi povzročene škode lahko zaprosijo za odškodnino. Na koruznih njivah smo iskali sledi prehranjevanja bobra in nutrije. Želeli smo preveriti, ali se res prehranjujeta s korozi, ali so razlike v hranjenju med vrstama in kolikšna je dejanska materialna in denarna škoda na posamezni njivi. Ugotovili smo, da sta na območju Gajševskega jezera in reke Ščavnice prisotni obe vrsti in obe se prehranjujeta s korozi. Po naših izračunih je bila dejanska škoda glede na druge škodne primere na posamezni njivi zelo majhna.

Adam Žižek, Gimnazija Franc Miklošič Ljutomer Grammar School
Supervisor: **Marija Meznarič**, Gimnazija Franc Miklošič Ljutomer Grammar School
Co-supervisor: **Martina Vida**, Lutra, Institute for the Conservation of Natural Heritage

Feeding Habits of Beaver (*Castor Fiber*) and Nutria (*Myocastor Coypus*) on Agricultural Land along Ščavnica River and Lake Gajševci

Beaver and nutria are aquatic rodents inhabiting Slovene water ecosystems. The species feed on corn in the fields, and farmers can apply for compensation for the damage caused. We looked for signs of beaver and nutria eating in the cornfields. We wanted to find out if the two species feed on corn, if there are noticeable differences in foraging between the species, and how much actual material and monetary damage can be caused in each field. We found that both species are present in the vicinity of lake Gajševci and the Ščavnica river and both feed on corn. According to calculations made, we established that the actual damage to each field was minimal compared to other damage cases.

Živa Kovačič, II. gimnazija Maribor
Mentorica: **Sanja Cvar**, II. gimnazija Maribor

Hitrost razgradnje cinkovega piritona pod vplivom UVB in toksičnost fotolitskih produktov

Znana snov proti prhljaju in proti vegetaciji na ladjah, cinkov piriton (ZnPT), je zaradi škodljivih učinkov na ljudi od leta 2022 v Evropski uniji in Združenem kraljestvu prepovedana za uporabo v kozmetiki. Izdelki z ZnPT so še zmeraj dostopni na spletu. Njihova uporaba škoduje organizmom, ki pridejo v stik z njimi, zato je ZnPT nevaren za okolje. V nalogi smo proučili kinetiko razpada ZnPT pod vplivom UVB-svetlobe in vidne svetlobe ter možno toksično delovanje razgradnih produktov na rast organizmov. Za raziskavo smo uporabili test Allium in UV-Vis-spektrofotometrijo. Rezultati so pokazali, da se hitrost razkroja postopoma manjša in da UVB-svetloba, ki ZnPT razgradi približno v 70 minutah, hitreje in učinkoviteje razgradi ZnPT kot vidna svetloba, ki ga tudi po 3 urah ne razgradi popolnoma. S testom Allium smo ugotovili, da ZnPT močneje zavira rast korenin in zmanjšuje mitotski indeks kot njegovi fotolitski produkti.

Živa Kovačič, II. Gimnazija Maribor Grammar School
Supervisor: **Sanja Cvar**, II. Gimnazija Maribor Grammar School

Degradation Rate of Zinc Pyrithione under UVB and Toxicity of Photolytic Products

A well-known substance against dandruff and biofouling on ships, zinc pyrithione (ZnPT), has been banned in cosmetics in the European Union and the United Kingdom since 2022 due to its harmful effects on humans. Products containing ZnPT are still available online, and their use harms organisms that come into contact with them, posing an ongoing environmental threat. This study aimed to examine the kinetics of ZnPT degradation under UVB and visible light, and the potential toxic effects of its degradation products on organism growth using the Allium test and UV-Vis spectrophotometry. Results showed that the degradation rate gradually decreases and that UVB light, which degrades ZnPT in approximately 70 minutes, acts faster and is more effective than visible light, which does not fully degrade ZnPT even after three hours. The Allium test revealed that ZnPT inhibits root growth and reduces the mitotic index significantly more than its photolytic products.

Tim Šinko, Špela Polutnik, II. gimnazija Maribor
Mentorica: **Katja Holnthaner Zorec**, II. gimnazija Maribor
Somentor: **Jan Kopecky**, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru
Somentorica: **Polona Kovačič**, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

Vpliv različnih koncentracij ionov Ca^{2+} v zunajcelični raztopini na delovanje celic beta v otočkih trebušne slinavke

Glavna naloga celic beta v trebušni slinavki je izločanje inzulina, kadar je koncentracija glukoze in drugih energijsko bogatih hranil v krvi zvišana. Celice beta glukozo absorbirajo iz krvi in jo pri celičnem dihanju razgradijo. Pri tem nastane ATP, ki v celični membrani povzroči zaprtje ionskih kanalov za ione K^+ . Celica se depolarizira, posledično se odprejo napetostno odvisni ionski kanali za ione Ca^{2+} . Vstop ionov Ca^{2+} v celico sproži izločanje inzulina v kri. Namen raziskovalne naloge je bil ugotoviti, kakšen vpliv imajo različne koncentracije ionov Ca^{2+} v zunajcelični raztopini na delovanje in aktivnost celic beta v trebušni slinavki. Langerhansove otočke, v katerih so celice beta, smo po metodi tkivne rezine (*in situ*) pridobili iz trebušne slinavke miši. Celice smo pobarvali s fluorescenčnim kalcijevim senzorjem in jih snemali s konfokalnim mikroskopom (angl. confocal laser-scanning microscopy, CLSM). Med snemanjem smo rezine perifundirali z raztopinami z različnimi koncentracijami ionov Ca^{2+} (1 mM, 2 mM in 10 mM) in glukoze (6 mM ali 9 mM) ter analizirali razlike med njihovimi odzivi. Ugotovili smo, da aktivni čas pada z naraščajočo koncentracijo Ca^{2+} v zunajcelični raztopini. Kljub najmanjši oscilaciji pri koncentraciji 1 mM Ca^{2+} je bila frekvenca njihovega proženja toliko višja, da je bil aktivni čas daljši kot pri koncentracijah z 2 mM in 10 mM Ca^{2+} . Z manjšimi odstopanji smo podobno opazili tudi pri izsledkih stopničastega protokola. Odstopanje pri 1 mM Ca^{2+} pripisujemo prejšnji perifuziji z 10 mM Ca^{2+} , ki je podaljšala čas, potreben za repolarizacijo membrane in ponovno proženje Ca^{2+} oscilacij v nadaljevanju eksperimenta, ter zato znižala frekvenco oscilacij in skrajšala aktivni čas celic.

Tim Šinko, Špela Polutnik, II. Gimnazija Maribor Grammar School
Supervisor: **Katja Holnthaner Zorec**, II. Gimnazija Maribor Grammar School
Co-supervisor: **Jan Kopecky**, Faculty of Medicine, University of Maribor
Co-supervisor: **Polona Kovačič**, Faculty of Medicine, University of Maribor

Effect of Different Concentrations of Ca^{2+} Ions in Extracellular Solution on Pancreatic Islet Beta Cell Function

The main function of pancreatic beta cells is to secrete insulin when the concentration of glucose and other energy-rich nutrients in the blood is elevated. Glucose is absorbed by beta cells from the bloodstream and broken down during cellular respiration. This creates ATP, which causes the ion channels to be closed to K^+ ions on the cell membrane. The cell depolarises, resulting in the opening of voltage-dependent ion channels for Ca^{2+} ions. The entry of Ca^{2+} ions into the cell causes insulin to be secreted into the bloodstream. Our research project aimed to determine the effect of different concentrations of Ca^{2+} ions in extracellular solution on the function and activity of pancreatic beta cells. The islets of Langerhans, where the beta cells are located, were obtained from the pancreas of mice by tissue slicing (*in situ*) method. The cells were stained with a fluorescent calcium sensor and imaged with a confocal laser-scanning microscope (CLSM). During imaging, the slices were perfused with solutions containing different concentrations of Ca^{2+} (1 mM, 2 mM, and 10 mM) and glucose (6 mM or 9 mM) and later analysed for differences in their responses. We found that the active time decreases with increasing concentration of Ca^{2+} in the extracellular solution. Despite the shortest length of the oscillations at 1 mM Ca^{2+} , the frequency of their activation was so much higher that it finally led to the maximum active time compared to 2 and 10 mM Ca^{2+} , respectively. Similar findings with small deviations were also made with the results of the step-by-step protocol. The deviation at 1 mM Ca^{2+} is attributed to the previous 10 mM Ca^{2+} perfusion, which prolonged the time required for membrane repolarisation and re-initiation of Ca^{2+} oscillations in the remainder of the experiment, thereby decreasing the frequency of oscillations and the active time of the cells.

Brina Zver, Klara Grantaša, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Mentorica: **Mateja Godec**, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer

Učinkovitost in škodljivost beljenja zob

Zadnja leta je beljenje zob vse bolj priljubljeno. S spletno anketo smo dokazali, da to drži tudi za našo bližnjo okolico. Za ta poseg se je odločilo kar nekaj znancev, zato smo želeli raziskati vpliv beljenja na ustno votlino. Na spletu smo poiskali najpogostejše uporabljene belilne učinkovine, ki so v izdelkih, namenjenih beljenju doma. Izbrali smo vodikov peroksid, karbamidni peroksid, poliakrilno kislino, hidroksiapatit, aktivno oglje ter mešanico jedilne sode (natrijevega hidrogenkarbonata) in limoninega soka (citronske kisline). S temi sredstvi smo nato belili izpuljene človeške zobe, ki smo jih dobili od različnih zobozdravnikov. Njihovo strokovno mnenje smo zbrali v drugi spletni anketi, namenjeni samo njim. Med poskusi smo spremljali spremembe barve, mase in površine zob ob večkratnem beljenju. Ugotovili smo, da vse izbrane učinkovine delujejo, saj so se vsi zobje posvetlili, vendar je bila pri nekaterih vidna sprememba na površini, prav tako pa se je vsem zmanjšala masa.

Brina Zver, Klara Grantaša, Gimnazija Franc Miklošič Ljutomer Grammar School
Supervisor: **Mateja Godec**, Gimnazija Franc Miklošič Ljutomer Grammar School

Effectiveness and Harmfulness of Teeth Whitening

In the past couple of years, teeth whitening has taken the world by storm. With the help of an online survey, we have shown that this also applies to our surroundings. Since quite a few of our acquaintances resorted to this procedure, we decided to research the effect of whitening on our oral cavity. We searched online for the most commonly used bleaching agents found in home bleaching products. We settled for hydrogen peroxide, carbamide peroxide, polyacrylic acid, hydroxyapatite, activated carbon, and a mixture of baking soda (sodium bicarbonate) and lemon juice (citric acid). Then, with these compounds, we whitened extracted human teeth obtained from local dentists. We gathered their expert opinion in another web survey intended only for dentists. Then, during the experiments, we monitored changes in colour, mass and surface of the teeth during repeated whitening. We found that all active ingredients worked, as all teeth were whiter, some had a visible change in the surface of the tooth, and all teeth had a decrease in weight.

Lucija Rangus, Neža Rangus, Nina Pečnik, Gimnazija Novo mesto
Mentorica: **Janja Pust**, Gimnazija Novo mesto
Somentorica: **Ema Gričar**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Analiza polhove masti

Polhova mast se v slovenski ljudski medicini uporablja že stoletja, predvsem za zdravljenje kožnih bolezni. Pomagala naj bi pri celjenju ran in tudi pri kroničnih boleznih, kot sta luskavica in dermatitis. To je vzbudilo naše zanimanje in želeli smo ugotoviti, kakšna je sestava polhove masti, da ima terapevtski učinek. Ugodna maščobna sestava nedvomno vpliva na boljše celjenje ran. Nenasičenost maščobnih kislin v polhovi masti smo določili z jodovim številom. Za natančnejše podatke o vsebnosti maščobnih kislin smo izvedli analizo GC, rezultate pa primerjali s standardnimi vrednostmi maščobnih kislin. Z metodo TLC smo določili vsebnost holesterola in dokazali nenasičenost polhove masti, saj je majhna oziroma ničelna vsebnost holesterola značilna za nenasičene maščobe. Po analogiji z raziskavami na svižčevi masti bi zdravilni (protivnetni) učinek lahko pripisali tudi naravno prisotnim kortikosteroidom, ki pa so v polhovi masti slabo raziskani. Z reakcijo umiljenja in večkratnim ekstrahiranjem ter spiranjem smo iz maščobe pridobili neumljivi del, ki smo ga uporabili za pripravo vzorcev. Z metodo HPLC smo v vzorcu iz neumljivega dela masti s primerjavo z njunima standardoma določili kortikosteroida hidrokortizon in kortikosteron. Med raziskovanjem smo ugotovili, da je priprava vzorcev zelo zahtevna, pa tudi, kako bi metodo lahko optimizirali. Pri določitvi peroksidnega števila se je polhova mast pokazala za dobro obstojno, zato smo izvedli poskus za dokazovanje antioksidantov. Nato smo z metodo HPLC ugotovili tudi prisotnost vitamina E, ki ima vlogo antioksidanta. Menimo, da bi tudi to lahko bil eden od razlogov za terapevtski učinek polhove masti.

Lucija Rangus, Neža Rangus, Nina Pečnik, Novo mesto Grammar School
Supervisor: **Janja Pust**, Novo mesto Grammar School
Co-supervisor: **Ema Gričar**, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

Dormouse Fat Analyses

Dormouse fat has been used in Slovenian folk medicine for centuries, mainly for the treatment of skin diseases. It is believed to aid in wound healing as well as in chronic conditions such as psoriasis and dermatitis. This has sparked our interest in determining what contributes to the therapeutic effect of dormouse fat. Undoubtedly, its favourable fatty acid composition may improve wound healing. We measured fatty acid unsaturation in dormouse fat using iodine value, and to obtain more precise data on the fatty acid content, carried out GC analysis, comparing the results with fatty acid standards. Using TLC method, we also determined the cholesterol content, which served as an indicator of dormouse fat unsaturation, as low or zero cholesterol content is characteristic of unsaturated fats. Analogous to research on marmot fat, the healing effect (anti-inflammatory) could also be attributed to naturally occurring corticosteroids, which are poorly researched. By saponification reaction, repeated extraction, and washing, we obtained the unsaponifiable part of the fat, which we used for sample preparation. By using HPLC, we determined the corticosteroids hydrocortisone and corticosterone in a sample from the unsaponifiable part of the fat by comparison with standards. During the research, we found that sample preparation is very demanding, thus gaining ideas on how to optimise the method. Dormouse fat showed good stability in determining the peroxide value, so we also determined the presence of vitamin E using the HPLC method, which acts as an antioxidant. This could also be one of the factors contributing to the therapeutic effects of dormouse fat.

Petra Ouček, Lani Habjanič, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Mentorica: **Mateja Godec**, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Somentor: **Sebastjan Nemec**, Institut Jožef Stefan

Sinteza nanodelcev silicijevega dioksida z vgrajenimi fluorescenčnimi barvili

Nanotehnologija je danes eno od pomembnejših tehnoloških področij na svetu. Njen temeljni sestavni del so nanodelci, med katerimi po vsestranskosti uporabe izstopajo nanodelci silicijevega dioksida. Cilj raziskovalne naloge je bila sinteza sferičnih nanodelcev silicijevega dioksida s Stöberjevo metodo in sočasna vgradnja fluorescenčnega barvila v nanodelce. Površino sintetiziranih nanodelcev silicijevega dioksida z vgrajenim fluorescenčnim barvilom smo dodatno prilagodili z vezavo molekul polietilenglikola in s tem izboljšali njihovo koloidno stabilnost. Molekule polietilenglikola smo na nanodelce vezali s kovalentno vezavo funkcionalnih silanov na površino silicijevega dioksida. Sintetizirane nanodelce smo ovrednotili z različnimi analitičnimi postopki, kot so termogravimetrična določitev masne koncentracije nanodelcev v suspenzijah, določitev hidrodinamske velikosti delcev z dinamičnim sipanjem svetlobe, meritev elektrokinetičnega potenciala ter meritev intenzitete in valovne dolžine emitirane fluorescence nanodelcev silicijevega dioksida z vgrajenimi fluorescenčnimi barvili.

Petra Ouček, Lani Habjanič, Gimnazija Franc Miklošič Ljutomer Grammar School
Supervisor: **Mateja Godec**, Gimnazija Franc Miklošič Ljutomer Grammar School
Co-supervisor: **Sebastjan Nemec**, Jožef Stefan Institute, Ljubljana

Synthesis of Silicon Dioxide Nanoparticles with Incorporated Fluorescent Dyes

Nanotechnology is one of key technological fields in the world today. Nanoparticles are the fundamental part of nanotechnology, with silica oxide nanoparticles standing out due to their versatility. The main objectives of this research work were the synthesis of spherical silicon dioxide nanoparticles using the Stöber silicon dioxide synthesis method and a simultaneous incorporation of a fluorescent dye into nanoparticles. The surface of silicon dioxide nanoparticles with the incorporated fluorescent dye was modified by linking polyethylene glycol molecules to increase their colloidal stability. Polyethylene glycol molecules were covalently linked to the silicon dioxide surface using functional-silane chemistry procedures. The synthesised nanoparticles were characterised using several analytical methods, such as thermogravimetric determination of mass concentration in suspensions, determination of hydrodynamic size using dynamic light scattering, and measurement of electrokinetic potential. Moreover, the intensity and wavelength of emitted fluorescent light from silicon dioxide nanoparticles with the incorporated fluorescent dyes were determined.

KAZALO

INDEX

KAZALO AVTORJEV

75	Kris Antolinc	107	Nastja Karas
91	Nika Atelšek Hozjan	93	Klemen Kirbus
69	Damjan Avsec	102	Martina Kogovšek
70	Katja Balantič	64	Maja Kokot
111	Dara Bavdek	65	Mila Kovačević
98	Zala Pia Biček	116	Živa Kovačič
96	Maša Bratkovič	76	Katja Krajšek
62	Aleša Bricelj	87	Ema Kurent
98	Jaka Brlogar	81	Anja Kvartuh
82	Jernej Cingl	99	Maks Lah
86	Tjaša Čukajne	106	Eva Lubej
101	Primož Dornik	46	David Majer
52	Črt Dragar	101	Anđela Malinić
104	Karin Forte	114	Brina Vita Mauhar
67	Lea Gazvoda	83	Laura Medved
118	Klara Grantaša	95	Matic Mohorko
71	Ema Gričar	112	Rozalija Lia Muršec
63	Andrej Grobin	112	Jona Novak
120	Lani Habjanič	88	Rok Oberč
100	Lúcia Halász	34	Ana Oberlintner
99	Maj Horvat	120	Petra Ouček
107	Zarja Huber	119	Nina Pečnik
97	Ana Iršič	117	Špela Polutnik
96	Zoja Jesih	101	Sofija Povše
98	Zorica Jović	119	Lucija Rangus
68	Blaž Kamenik	94	Neža Rangus
109	Mija Kapun	84	Tim Ravnjak

KAZALO AVTORJEV

77	David Ribar	117	Tim Šinko
73	Erik Rihtar	66	Luka Šturm
105	Zoja Rugelj	74	Urša Šuštar
110	Tevž Rus	78	Luka Tacer
72	Maria Scuderi	85	Gašper Tomšič
114	Anže Sitar	103	Eva Urankar
80	Tjaša Skarlovnik	89	Jaka Vrevc Žlajpah
98	Nejc Skumavec	90	Lan Vukolić
106	Zala Smeh	28	Živa Zajec
92	Vladimir Smrkolj	114	Filip Zemljič
104	Maša Sterle	94	Urša Zevnik
104	Anaisa Sterle Laiguel	108	Patricija Zupan
113	Marsela Supé Vide	118	Brina Zver
100	David Svetec	115	Adam Žižek
79	Jan Šegina	90	Tjaš Žvar
103	Pia Olga Šepec		

KAZALO MENTORJEV IN SOMENTORJEV

62	Marko Anderluh	93	Črt Dragar
90	Miha Arnol	76	Svit Ferjančič Benetik
86	Aleš Berlec	46	Matjaž Finšgar
80, 95	Urban Bren	95	Franjo Frešer
99, 109	Grega Celcar	103	Aleš Gasparič
82, 40	Andrej Emanuel Cotman	71	Boštjan Genorio
116	Sanja Cvar	65	Ilija German Ilić
72	Janja Dermol-Černe	28	Martina Gobec
88	Jaka Dernovšek	100, 118, 120	Mateja Godec
114	Andraž Dolar	97	Damijana Gregorič
100	Iztok Dovnik	119	Ema Gričar

KAZALO MENTORJEV IN SOMENTORJEV

100	Blaž Grilc	87	Nika Kržišnik
74	Urh Grošelj	113	Jure Kuhar
79	Uroš Grošelj	80	Andraž Lamut
106, 112, 117	Katja Holnthaner Zorec	90	Metka Lenassi
91	Gabrijela Horvat	34	Blaž Likozar
80, 95	Gregor Hostnik	77	Miha Lukšič
64, 81	Martina Hrast Rambaher	106	Eneko Jose Madorran Esteiro
68	Matjaž Hriberšek	108	Janez Mavri
73	Roman Jerala	115	Marija Meznarič
102	Marko Jeran	64	Nikola Minovski
114	Cirila Jeras	69	Irena Mlinarič-Raščan
110	Marko Jukič	96	Alenka Mozer
111	Nina Kacjan-Maršič	99	Matic Može
89	Nataša Karas Kuželički	95	Anita Mustač
98	Marjetka Kastelic Švab	120	Sebastjan Nemec
86	Anja Klančnik	91	Zoran Novak
103	Branka Klemenčič	34	Uroš Novak
93, 52	Petra Kocbek	76	Aleš Obreza
71	Mitja Kolar	81	Stane Pajk
117	Jan Kopecky	85	Andrej Perdih
83	Klemen Korasa	69	Helena Podgornik
97	Nina Kostevšek	66	Nataša Poklar Ulrih
104	Darko Košič	105	Klementina Polanec
108	Petra Košir	102	Maja Ponikvar-Svet
111	Metod Kovačič	119	Janja Pust
117	Polona Kovačič	72	Lea Rems
52	Slavko Kralj	99, 109	Peter Rodič
110	Sebastjan Kralj	105	Boris Rogelj
77	Irena Kralj Cigić	63, 87	Robert Roškar
70	Peter Kramar	94	Damjana Rozman
105	Gregor Križ	112	Jan Rožanc
101	Andrej Kržan	101	Darja Silan



KAZALO MENTORJEV IN SOMENTORJEV

62, 85	Izidor Sosič
75	Jurij Svete
104	Aljaž Škrjanc
89	Alenka Šmid
84	Martina Štampar
113	Borut Štrukelj
32, 82, 88	Tihomir Tomašič
63	Jurij Trontelj
92	Nejc Umek
101, 110	Lara Vertačnik
115	Martina Vida
83	Franc Vrečer
67	Marija Vukomanović
68	Matej Zadravec
102	Lidija Zavasnik
40	Anamarija Zega
65	Alenka Zvonar Pobirk
84	Bojana Žegura
96	Taja Železnik Ramuta
111	Špela Železnikar
78	Polona Žnidaršič Plazl
107	Nina Žuman