56. KRKINE NAGRADE

36. SIMPOZIJ

ZBORNIK POVZETKOV

KRKA

56. KRKINE NAGRADE
56th KRKA PRIZES

36. SIMPOZIJ
36th SYMPOSIUM

ZBORNIK POVZETKOV
BOOK OF ABSTRACTS

KRKA

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.

KRKA

KRKINE NAGRADE
ZNANOST POVEZUJE

56. KRKINE NAGRADE | Zbornik povzetkov
Novo mesto, 16. oktober 2026

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

Predstavitev nagrajencev
Maja Oberstar Falkner, Simona Gorjup

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
Mojca Ceferin, Miha Bogovčič

Fotografije
Andrej Križ

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

www.krkinenagrade.si

Častni odbor 56. Krkinih nagrad
Jože Colarič, predsednik uprave in generalni direktor Krke
akad. prof. dr. Franc Forstnerič, predsednik Slovenske akademije znanosti in umetnosti
prof. dr. Dean Korošak, rektor Univerze v Mariboru
prof. dr. Gregor Majdič, rektor Univerze v Ljubljani
prof. dr. Andreja Žgajnar Gotvajn, predsednica Slovenskega kemijskega društva
prof. dr. Marko Anderluh, predsednik Slovenskega farmacevtskega društva
prof. dr. Radko Komadina, predsednik Slovenskega zdravniškega društva

Svet Sklada Krkinih nagrad
dr. Aleš Rotar, predsednik

Znanstveni odbor
doc. dr. Klemen Korasa, namestnik predsednika sveta in predsednik Znanstvenega odbora
dr. Jure Bezenšek
dr. Matjaž Deželak
dr. Eva Pušavec Kirar
Gordan Sladič
dr. Žiga Strmšek
dr. Vida Škrabanja
dr. Joanna Anna Trykowska Konc
dr. Luka Žnideršič

Člani
dr. Žiga Hodnik
Jernej Hvala
Ina Grašič
dr. Janja Mirtič
dr. Miha Plevnik
Tanja Sluga Kobe

Glavni in odgovorni urednik
dr. Miha Plevnik

Recenzenti

Maja Ajdišek, Dita Aplinc, Manca Bahor, Grega Bajc, Breda Barbič-Žagar, Nastja Bašelj, dr. Primož Benkič, Marko Benkovič, dr. Ana Bergant Simončič, Kristina Berus, dr. Jure Bezenšek, dr. Marko Bitenc, Tanja Blatnik, Kaja Blažič, Katja Blažič, dr. Jernej Bobnar, dr. Matej Bobnar, Klemen Bogovič, Enej Bole, dr. Sergeja Bombek, Benjamin Božič, dr. Mari Božič, Lena Brezovnik, Petra Brlogar, Katarina Brulc Kraljc, dr. Nina Brvar Polc, dr. Polona Bukovec, dr. Irena Čarman, dr. Katarina Černelič, dr. Katja Čerpnjak, Kristina Debeljak Simončič, dr. Sabina Devjak Novak, dr. Matjaž Deželak, dr. Katarina Dobrovoljc, Vid Dobrovoljc, Matej Dragovan, dr. Teja Drofelnik, mag. Tina Dular Meglič, dr. Aleša Dular Vovko, Vanja Erjavec Strmec, mag. Andrej Ferlan, Maja Fink, dr. Mateja Gabrijel Blatnik, dr. Aleš Gasparič, Jaka Glavač, Matej Godec, mag. Mojca Golob, Ana Gorenc Kodelič, Teja Gošek, Aljoša Gradišek, mag. Anica Grandovec, Ina Grašič, Tadej Grobelšek, Vendi Grobelšek, Martin Grosek, dr. Alenka Grošel, mag. Mateja Grošelj, Peter Hančič, Mojca Hiti, dr. Žiga Hodnik, mag. Damjan Hodžar, Bor Hodžić, Marjeta Hostnik, Veronika Hribar, Žan Hribar, Nina Hrvatič, doc. dr. Grega Hudovornik, Jernej Hvala, mag. Miran Hvalec, dr. Gregor Ilc, Hela Jaklin, Nika Jakobović, Helena Jakše, dr. Dominik Jankovič, dr. Boštjan Jerman, Jernej Jerman, Urh Jevšovar, Tomaž Kapele, Aljaž Kastelic, Anže Kastelic, Jožica Kastelic, Špela Kastelic, Ksenija Kikelj, dr. Maja Kincl Skube, dr. Dejan Klement, mag. Andrej Klobčar, Domen Klofutar, Anton Kočevar, Klara Kočevar, Tanja Kohek, Ivanka Kolenc, dr. Tanja Koleša, Tanja Konda, Nejc Koračin, doc. dr. Klemen Korasa, Aljoša Korošec, Jernej Kos, Lara Kosor, Mojca Kostanjevec, Jaka Košak, Brigita Košir, dr. Darjan Košir, Tatjana Koštomaj, mag. Berta Kotar Jordan, mag. Helena Kotnik, dr. Borut Kovačič, Zala Kovačič, Blaž Kozjan, Irena Krajačič, dr. David Kralj, mag. Andrejka Kramar, Blaž Kramer, dr. Vesna Krošelj, Mojca Krštinc, dr. Barbara Kunič, dr. Urška Kušljan, dr. Brigita Lapornik, dr. Roman Lenaršič, mag. Denise Leskovar, dr. Tadej Lešer, dr. Gregor Lorbek, Katja Lovrin, dr. Nina Lukač, dr. Mateja Lumpert, mag. Matej Luštek, Eva Majhenič, dr. Jelena Mandić, Sanja Markez, dr. Tatjana Mateović Rojnik, dr. Primož Meh, dr. Marija Meleh, Blaž Mencinger, Tomaž Meško, Kristjan Meža, Mateja Mežnar, Anja Miklavc, dr. Špela Miklič, Darja Milovanović Jarh, Aleksander Miložič, dr. Janja Mirtič, dr. Anita Mlakar, Tjaša Možek, mag. Damjan Možina, Kristjan Mrgole, Miha Mrzlikar, Špela Muhič, dr. Dominik Nabergoj, mag. Maja Omerzu, mag. Irena Orel, dr. Renata Osolnik, Maruša Ostanek, Marko Pavšek, Anja Pečkaj, Iza Pekle Simonič, Mitja Pelko, Mojca Peršuh, Žiga Petančič, Andreja Petrič Primožič, Deja Petrović Kuclar, dr. Lidija Pezdirc, dr. Miha Plevnik, Primož Podbregar, dr. Mitja Pohlen, dr. Gašper Poklukar, Yuriy Polagaev, Aleš Polovič, mag. Marjeta Poznič Planinc, Maruša Požar, dr. Maja Preskar, Jože Primc, Aleša Primožič, dr. Anja Pucer Janež, mag. Aleša Punčuh Kolar, dr. Gašper Pustovrh, dr. Eva Pušavec Kirar, Zala Rabuza, dr. Katarina Rade, mag. Ivan Radež, dr. Andreja Radman Kastelic, Radivoje Raškovič, dr. Mateja Rebernik, Žiga Rebernik, dr. Nataša Rebolj, Vojko Rebolj, dr. Tadej Recelj, Marjeta Redek, dr. Sara Redenšek Trampuž, Aleksander Rekič, dr. Aleš Rotar, Eva Rotar Pucko, Jasna Rozman Marčič, dr. Saša Rožman, Tanja Seničar, dr. Zvone Simončič, dr. Igor Simonič, Eva Sitar, Gordan Sladič, dr. Marko Slana, mag. Janika Slanc Vovk, Dejan Slapšak, Mitja Smešnik, dr. Janez Smodiš, dr. Tina Smolič, dr. Matej Smrkolj, Špela Srečnik, Matej Stergar, dr. Maša Sterle, dr. Žiga Strmšek, Tadej Stropnik, Anja Svetlin, dr. Jerneja Šauta Ogorevc, dr. Leon Ščuka, Jan Šegina, dr. Luka Šenica, Alenka Šenk Erpič, Roman Šiler, dr. Ervin Šinkovec, Borut Šketa, mag. Anton Škof, dr. Vida Škrabanja, dr. Natalija Škrbina Zajc, dr. Katja Škrlec, Vanja Škufca, Nina Špolar, Anja Šribar, dr. Urša Štanfel, Urška Štangelj, Katja Štaudohar, dr. Marko Štefanič, dr. Ana Testen, Mateja Tičar, dr. Jaroslav Tihi, Andreja Toplišek, Tilen Tori, dr. Tanja Trafela, dr. Elizabeta Tratar Pirc, dr. Joanna Anna Trykowska Konc, Nina Turk, Sandra Turk, Urška Turk, dr. Darko Uršič, Nina Vajdič, mag. Anamarija Vajs, dr. Dejan Vražič, Ivan Vrban, dr. Miha Vrbinc, Tomaž Vrbinc, mag. Julija Vrbovšek, dr. Irena Vrečar, prof. dr. Franc Vrečer, Ana Vukovinski Babojelić, dr. Jernej Zadnik, Timotej Zaletel, David Zupančič, Judita Zupančič, mag. Polonca Zupančič, dr. Silvo Zupančič, Slavko Zupančič, mag. Tanja Žibert, Saša Žikić, mag. Maruša Živec, dr. Luka Žnideršič, dr. Simon Žurga

VSEBINA

CONTENT

56. KRKINE NAGRADE

16 | Aleš Rotar, predsednik Sveta Sklada Krkinih nagrad

18 | Krkini nagrajenci 2026

36. SIMPOZIJ
ZBORNIK POVZETKOV

32 | Klemen Korasa, predsednik Znanstvenega odbora Sveta Sklada Krkinih nagrad

VELIKE KRKINE NAGRADE
PREDSTAVITEV NAGRAJENCEV

36 | Alen Gabrič, Krka, d. d., Novo mesto, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Razvoj analiznih metod in stresnih testov za študij oksidacije famotidina v prisotnosti pomožnih snovi

42 | Sandi Svetič, Krka, d. d., Novo mesto, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Vrednotenje uporabnosti orodij procesno analizne tehnologije med procesom tvorbe amorfne trdne disperzije z vrtinčnoslojnim granuliranjem

48 | Armando Tratenšek, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Razvoj in uporaba farmakometričnega modela ustekinumaba ter vrednotenje kazalnikov oksidativnega stresa pri bolnikih s kronično vnetno črevesno boleznijo

54 | Mercedes Vitek, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Razvoj in vrednotenje inovativnih na lipidih osnovanih dostavnih sistemov za dermalno in subkutano terapijo atopijskega dermatitisa

60 | Eva Klara Merzel Šabović, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Subklinična okvara srčno-žilnega sistema pri bolnikih z luskavico

KRKINE NAGRADE S PRIZNANJEM ZA IZSTOPAJOČE RAZISKOVALNO DELO
POVZETKI

68 | Aljoša Škorjanc, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Identifikacija s fenotipi povezanih kandidatnih genov kot podpora odkrivanju terapevtskih tarč z uporabo uveljavljenih podatkovnih zbirk

69 | Urška Jeršič, Filip Dugonik, Lejla Kač, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru
In vitro biofarmacevtsko vrednotenje topičnih formulacij diklofenaka kot podpora razvoju in optimizaciji dermalnih zdravil

70 | Žiga Oražem, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
O-karbamat kot usmerjajoča skupina za pripravo devteriranih heteroaromatskih spojin

71 | Urban Barbič, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Razvoj sinteznih metod za vgradnjo nenaravnih fragmentov v polipeptidne verige

72 | Vito Ham, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Zaznavanje genotoksičnega delovanja ksenobiotikov z naprednim jetrnim *in vitro* 3D celičnim modelom

KRKINE NAGRADE
POVZETKI

76 | Nina Katarina Grilc, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Razvoj polimernih nanovlaken za lokalno dostavo živih terapevtskih bakterij

77 | Maria Laimou-Geraniou, Mednarodna podiplomska šola Jožefa Stefana, Ljubljana
Ostanki psihoaktivnih zdravilnih učinkovin in novih psihoaktivnih snovi v odpadnih in površinskih vodah: epidemiološki in okoljski vidik

78 | Sebastjan Kralj, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru
Razvoj in uporaba metod računalniške kemije pri načrtovanju terapevtskih sredstev proti covidu-19

79 | Martin Ljubič, Kemijski inštitut, Ljubljana, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Preučevanje imunskega receptorja NKG2A/CD94 ter načrtovanje zaviralcev kinaz Src z uporabo molekulskih simulacij

80 | Žan Testen, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Oksidativne pretvorbe sulfoksiminov in sulfanilamidov

81 | Elvira Boršić Mlinarič, Kemijski inštitut, Ljubljana, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mehanizem aktivacije inflamasoma NLRP3 in priprava umetnih inflamasomov

82 | Eirini Andreasidou, Mednarodna podiplomska šola Jožefa Stefana, Ljubljana
Privzem in prenos onesnaževal, ki vzbujajo zaskrbljenost, v paradižnik (*Solanum lycopersicum* L.) ter ocena tveganj pri uporabi prečiščene odpadne vode in blata v kmetijstvu

83 | Selena Horvat, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Vloga gamaenolaze pri razvoju in degeneraciji celic centralnega živčnega sistema

84 | Ana Siljanovska Virant, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Strukturna karakterizacija verižnih trioksidov in njihovih kovinskih in organokovinskih kompleksov

85 | Veronika Weiss, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Imunotoksično in endokrino delovanje sestavin potrošniških izdelkov in njihovih derivatov

86 | Edvin Purić, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Načrtovanje, sinteza in vrednotenje novih zaviralcev in himernih razgrajevalcev človeškega galektina-8

87 | Tadej Ojsteršek, Krka, d. d., Novo mesto, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Vpliv polnil in s funkcionalnostjo povezanih lastnosti hipromeloze na sproščanje slabo vodotopne zdravilne učinkovine iz ogrodnih tablet

88 | Nika Marolt, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Vpliv metabolizma estrogenov in aldo-keto reduktaz na kemorezistenco raka jajčnikov

89 | Svit Ferjančič Benetik, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Načrtovanje, sinteza in vrednotenje heteroaromatskih dvojnih zaviralcev butirilholin esteraze in z mitogenom aktivirane protein kinaze p38α

90 | Marija Gjorgoska, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Vloga androgenih hormonov in 11-oksiandrogenih metabolitov pri raku endometrija in raku jajčnikov

91 | Urh Pucihar, Krka, d. d., Novo mesto, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Samooptimizacija Claisen-Schmidtove kondenzacije na mikropretočnem reakcijskem sistemu

92 | Anja Tomazin, Katja Šketa, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Vpliv izpostavljenosti srca obsevanju na umrljivost po visokodoznem obsevanju raka pljuč

93 | Anja Pungartnik, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Fenotipska in genotipska karakterizacija mikrobne odpornosti ter filmotvornosti izbranih po Gramu pozitivnih in negativnih bakterij

94 | Tadej Humar, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Nove pretvorbe 3-azido-1-ciano-4-okso-4*H*-kinolizina in 3-azido-4-okso-4*H*-pirido[1,2-*a*]pirimidina

95 | Dominik Fendre, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Sinteza substituiranih ftalatov z Diels-Alderjevo reakcijo 2*H*-piran-2-onov, študija reaktivnosti in nadaljnje pretvorbe z dušikovimi nukleofili

96 | Jan Kogovšek, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Vzpostavitev bakterijskega sistema LexKan za selekcijo afiteles, ki inhibirajo tvorbo homodimerov proteaze M^{pro} iz SARS-CoV-2

97 | Samo Jaklin, Vid Ibic, Jan Hrovat, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Nevrotoksičnost uživanja konoplje

98 | Miha Berk Bevc, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru
Razvoj in optimizacija procesa sinteze furosemida

99 | Kaja Eržen, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Ugotavljanje kakovosti prehranskih dopolnil s tetrahidrofolno kislino

100 | Črt Krebs, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mikrofluidni model žilnega endotelija na čipu za kvantitativno spremljanje s peroksilnimi radikali povzročene endotelijske disfunkcije in antioksidativnega delovanja izbranih spojin

101 | Maša Mihelič, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Vpliv modifikacij 3-(pirolidin-1-il)piridinskega ogrodja zaviralcev C-končne domene proteina toplotnega šoka 90 na protirakavo delovanje

102 | Katja Pregeljc, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Primarna imunska trombocitopenija pri otrocih in mladostnikih: kroničnost bolezni, diagnostični izzivi in pristopi k zdravljenju

103 | Anja Drnovšek, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Primerjava metod izdelave nanodelcev s strukturo tekočih kristalov in optimizacija njihove sestave

104 | Valentina Vutolen, Institut Jožef Stefan, Ljubljana, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Razvoj piezoelektričnih nanovlaken polihidroksibutirata in poli-L-mlečne kisline za pospešeno celjenje kroničnih ran

105 | Kaja Zajc, Ekonomska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Dobro počutje zaposlenih in pripravljenost na spremembe: analiza vpliva spanja, stresa in intenzivnosti dela

106 | Patrik Hlebanja, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Karakterizacija tirozin dekarboksilaze iz *Methanocaldococcus janaschii* in imobilizacija v mikroreaktorje

107 | Jakob Trebše, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Vpliv prisotnosti bakterije *Staphylococcus epidermidis* na viskoznost človeške sinovialne tekočine v pogojih *in vitro*

108 | Jure Rebselj, Kemijski inštitut, Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Vloga večvalentnih nukleotidnih zaporedij pri negativni povratni regulaciji proteinov z intrinzično neurejenimi regijami

109 | Pia Bertoncelj, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Razvoj in optimizacija nabora označevalcev za karakterizacijo in fenotipizacijo celic gama delta T s pretočno citometrijo

110 | Neža Kastelec, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Razvoj formulacije albuminskih nanodelcev za dostavo slabo vodotopnih zdravilnih učinkovin

111 | Lina Krulec, Petra Kubelj, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Toksičnost aminoglikozidnih antibiotikov za okolje – odziv male vodne leče (*Lemna minor*)

112 | Hana Rakuša, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Povezava med dislipidemijo, sintezo holesterola in hipoksijo pri bolnikih z obstruktivno apnejo v spanju

113 | Katarina Velkov, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Napovedovanje topnosti spojin v vodi s protitočno nevronsko mrežo

114 | Ema Šimc, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Iskanje zaviralcev kaspaze-6 z biokemijskim rešetanjem knjižnice elektrofilnih fragmentov *in vitro*

115 | Lena Grošelj, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Uporaba 4-okso-4*H*-piridino[1,2-*a*]pirimidin-3-diazonijevega in 1-ciano-4-okso-4*H*-kinolizin-3-diazonijevega tetrafluoroborata v fluorescenčnem označevanju proteinov

116 | Anja Kores, Kemijski inštitut, Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Zaviranje delovanja ninjurina-1 z uporabo kratkih protismernih oligonukleotidov

117 | Lara Omahen, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Vloga citokinov v protimikrobnem delovanju humane amnijske membrane

118 | Monika Gregorič Tasić, Kemijski inštitut, Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Priprava in ovrednotenje delovanja majhnih vezavnih proteinskih posrednikov ninjurina 1

119 | Tilen Kralj, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Ovrednotenje granulatov mezoporozne silike z različnimi razgrajevali za izdelavo orodisperzibilnih tablet

120 | Iza Klemenčič, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Primerjava enačb za oceno hitrosti glomerulne filtracije: vloga merjenja koncentracije cistatina C pri izboljšanju natančnosti diagnostike kronične ledvične bolezni

121 | Eva Pinter, Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Učinki antagonistov tirozin kinaznega receptorja TGF-βRI in kemokinskega receptorja CCR5 v 3D celičnih modelih glioblastoma

122 | Jernej Birk, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Poskus selektivnega devteriranja nekaterih heteroaril karboksamidov

123 | Marcel Tušek, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Karakterizacija inhibicije treonin dehidrogenaze s specifičnimi derivati pirazola

124 | Manca Bajuk, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Kvalifikacije modularnega spektrometra na primerih merjenja fluorescence in absorbance spojin farmacevtskega pomena

125 | Jan Čagalj, Fakulteta za elektrotehniko, Univerza v Ljubljani
Vpogled v elektroporacijo celične membrane s simulacijami molekularne dinamike

126 | Tisa Lombar, Urban Perko, Gimnazija Vič
Dimerizacija lizocima T7 z antiparalelnimi obvitimi vijačnicami proteina Sso10a

127 | Eva Embreuš, Izabela Križanič, Prva gimnazija Maribor
Vpliv salicilne kisline v hidrokoloidnih obližih za akne: kemijska karakterizacija in klinična ocena

128 | Manca Boh, Zavod sv. Frančiška Saleškega, Gimnazija Želimlje
Dopolnitev literarnozgodovinske interpretacije opusa Srečka Kosovela s pomočjo naravoslovnih metod

129 | Brina Kramer, Živa Hutar, Gimnazija Novo mesto
Sinteza topoizomeraznih zaviralcev

130 | Ela Marčič, II. gimnazija Maribor
Od dišeče molekule do polimera z učinkom proti bakterijam

131 | Jaka Krošl, Julija Leva, Srednja šola Slovenska Bistrica
Enkapsulacija ekstraktov semen črne kumine in njihova gastrointestinalna stabilnost

132 | Nika Mihelčič, Manca Pišljar, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola
Identifikacija dolgih nekodirajočih RNA (lncRNA) s skritim kodirnim potencialom v temnih regijah transkriptoma raka dojke

133 | Tara Medved, Zavod Antona Martina Slomška, Škofijska gimnazija, Maribor
Od alg do bioaerogelov: priprava sferičnih nosilcev za peroralno dostavo deksametazona

134 | Lara Mrkela, III. gimnazija Maribor
Sladkor pod nadzorom – analiza učinka kvercetina na α-amilazo

135 | Zoja Šorn Vesel, Jan Arih, Neža Zupanec, Biotehniški center Naklo
Antibiotično in antimikotično delovanje zelnice na izolirane bakterije in plesni kože

136 | Pia Brcar, Neža Amon, Gimnazija in srednja šola za kemijo in farmacijo Ruše
Hemokompatibilni magnetni nanodelci s hondroitin sulfatom

137 | Vid Rožman, Katja Madjar, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Embrionalni in postembrionalni razvoj pitovnega in nepitovnega piščanca (*Gallus gallus domesticus*)

138 | Peter Stegu, Šolski center Celje, Srednja šola za kemijo, elektrotehniko in računalništvo
Vpliv svetlobe na koncentracijo vitamina D v bukovem ostrigarju

139 | Lana Medved, Lu Viola Perko, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola
Zaščitne lastnosti bioplastične embalaže pri zaviranju razrasti plesni na siru

140 | Eva-Arolea Trdan, Gimnazija Ledina
Razvoj funkcionalnih hidrofobnih bakrenih površin za izboljšano korozijsko odpornost in higiensko varnost

141 | Eva Dragovan, Manca Sladič, Sara Kopina, Šolski center Novo mesto, Srednja zdravstvena in kemijska šola
Izolacija, analiza in antibakterijsko delovanje piperina iz črnega popra (*Piper nigrum* L.)

142 | Lenka Rojs, Maruša Topolovec, Srednja šola Slovenska Bistrica
Analiza okoljskega stanja izbranih potokov severovzhodne Slovenije na podlagi abiotskih, kemijskih in biotskih dejavnikov

143 | Matevž Brulc, Zoja Špilar, Gimnazija Novo mesto
Priprava in karakterizacija kreatin citratnih sistemov

144 | Lara Bastar, Gimnazija Bežigrad
Vpliv načina pridelave (hidropon in substrat) na rast rastlin in kakovost pridelka vrtne solate

145 | Maša Muhič, III. gimnazija Maribor
Vpliv okolja na kvaliteto medu

146 | Taj Žmitek Pravst, Florijan Rauter, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola
Hranilna sestava in protibakterijski potencial skupnih fenolnih spojin izbranih sort v Sloveniji pridelanih jabolk

147 | Isidora Dinić, II. gimnazija Maribor
Učinki tekstilnih mikrovlaken iz sušilnih strojev na fiziološke parametre navadne redkvice (*Raphanus sativus*)

148 | Ana Kočnar, Strokovni izobraževalni center Alme M. Karlin, Celje
Antibakterijski učinek lesa

149 | Alja Pureber, Ema Lovrin, Špela Rukše, Šolski center Novo mesto, Srednja zdravstvena in kemijska šola
Uživanje protibolečinskih zdravil brez recepta pri dijakih Srednje zdravstvene in kemijske šole

150 | Arina Zhdanova, II. gimnazija Maribor
Od monomera do biokatalizatorja: sinteza polimernih zrn za imobilizacijo encima

151 | Matjaž Alič, II. gimnazija Maribor
Vpliv $MnCl_2$, $FeSO_4$ in K_2HPO_4 na nastanek ROS v kvasovkah *Saccharomyces cerevisiae* po obsevanju z UVB-žarki

152 | Eva Merklin, Anej Kramer, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola
Delovanje vodotopnih ionov redkih zemelj kot potencialnih okoljskih polutantov na kvasovko *Saccharomyces cerevisiae* in bakterije človeškega izvora v kontekstu trajnostnega razvoja novih materialov

153 | Jon Milič, Ivana Karolina Budna, Uroš Jocić, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Mikroplastika v prsti javnih, zasebnih in kmetijskih zemljišč

154 | Erik Šemen, Lara Osvaldič, II. gimnazija Maribor
Sinteza akrilatnih polimerov za odstranjevanje ostankov zdravil iz vodnih medijev

155 | Vid Lipovšek, Anže Cukrov, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola
Od semen do svetlobe

156 | Taja Ribič, Biotehniška šola Maribor
Primerjava protimikrobnega delovanja laktoferina na izbrane bakterijske vrste

157 | Mima Hren, Staš Nešić, Srednja šola Slovenska Bistrica
Vpliv splošne anestezije na vrednosti kreatin kinaze (CK) in aspartat aminotransferaze (AST) pri konjih

158 | Tija Gostiša, Tevž Papič, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola
Vezava naravnih in sintetičnih kanabinoidov na jedrne receptorje – *in silico* analiza endokrine motnje

159 | Primož Dornik, Gimnazija Jožeta Plečnika Ljubljana
Raziskava možnosti pretvorbe toplote v električno energijo s pomočjo zaprtega sistema z nizkim tlakom, medija in faznih sprememb

160 | Rahela Bograf, Gaja Bičič, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola
Ekstrakcija antioksidativnih spojin iz cimetovega čaja s pomočjo konvencionalnih in evtektičnih topil

161 | Sara Lovrenčič, Anja Vide, II. gimnazija Maribor
Vpliv načina pridelave na kakovost izbranih vrst listnate zelenjave (*Lactuca sativa, Cichorium endivia* in *Cichorium intybus*)

162 | Lučka Rotar, Gimnazija Ledina
Jan Knez, Srednja tehniška poklicna šola Trbovlje
Vsi delci v zraku niso enaki

163 | Tjaša Polutnik, II. gimnazija Maribor
Preverjanje skladnosti deklariranega števila mikroorganizmov v probiotičnih zdravilih in prehranskih dopolnilih z gojitveno metodo štetja

164 | Ana Cvelbar, Ana Štubljar, Gimnazija Novo mesto
Sinteza srebrovih nanodelcev (AgNP) z glukozo: vpliv stabilizatorja PVP na velikost, stabilnost in morfologijo koloidov

165 | Ana Iza Jaklin, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Vpliv kemijske sestave nikotinskih vrečk na zaznano in dejansko moč



Spoštovane nagrajenke in nagrajenci!

Krkine nagrade so z desetletji postale stalnica v našem prostoru, z njimi rastemo in se spreminjamo. Zanimivo je spremljati spremembe v znanosti in družbi, saj verjetno živimo v enem prelomnih obdobij. Ne moremo mimo velike vloge, ki jo imajo farmacevtska in sorodne stroke, znanost in industrija pri zagotavljanju kakovostnega in dolgega življenja. Mladi raziskovalci lahko zato optimistično zrete v prihodnost, v kateri bo za vas mnogo priložnosti. Razvoj znanosti in tehnologije ni le hitrejši, ampak sega na vsa prepletena področja družbe. Kar je bilo pred leti v laboratorijih, danes omogoča vse več ljudem ohranjati zdravje. Milijoni bolnikov in njihovih zdravnikov, farmacevtov in drugih strokovnjakov na številnih zelo različnih trgih pričakujejo najboljšo oskrbo. Zagotavljanje zdravil je prav tako odgovorna naloga kot njihovo odkrivanje, raziskovanje in razvoj. Znanost in nove tehnologije imajo pri tem odločilno vlogo.

A ob rasti in razcvetu se slej ko prej soočimo tudi z neizprosnimi zakoni narave. Odšel je prof. Miha Japelj, tvorec Krkinih nagrad. Z zamislijo, še bolj pa z vztrajnim in predanim vodenjem je omogočil prve korake mladih raziskovalcev ter spremljal njihovo rast in dosežke, ki so vpeti v življenje vsakega od nas. S Krkinimi nagradami bomo tudi v prihodnje uresničevali vizionarsko in plemenito vlogo: podpirati mlade raziskovalce v vseh obdobjih vstopanja v svet novih odkritij.

Dr. Aleš Rotar
predsednik Sveta Sklada Krkinih nagrad

Dear Prize winners,

Over the decades, Krka Prizes have become a cornerstone of our community, inspiring us to grow and evolve. The changes taking place in science and society are fascinating to observe, as we live in an era of profound transformation that is reshaping the world around us. The importance of pharmaceutical and related sciences, scientific disciplines, and industry in ensuring quality of life and longevity is undeniable. Therefore, the future holds great opportunities for you, young researchers. Scientific and technological progress is advancing at an unprecedented pace, transforming every aspect of society. What was once a domain of laboratory work now helps more and more people lead healthier lives. Millions of patients, along with their doctors, pharmacists and other experts across diverse markets, rely on the highest standards of care. Providing access to medicines is just as important as their discovery, research, and development, and science and new technologies have a crucial role in making this possible.

Yet even growth and advances inevitably face the limits and realities imposed by nature. Miha Japelj, the key figure behind Krka Prizes, is no longer with us. As an architect of the Prizes and a dedicated and passionate leader, he witnessed the first steps of young researchers and followed their progress and achievements, many of which have had a lasting impact on the life of each and everyone of us. Through Krka Prizes, we remain the advocates of his visionary and noble mission: supporting young researchers across all stages of their entry into the world of discoveries.

Dr Aleš Rotar
President of the Krka Prizes Council

KRKINI NAGRAJENCI 2026

KRKA PRIZE WINNERS 2026

VELIKE KRKINE NAGRADE
NAGRAJENCI

Nagrajenec	Naziv	Mentor, somentor	Številka
Alen Gabrič	doktor znanosti s področja farmacije	Stane Pajk Janez Ilaš Žiga Hodnik	3298
Sandi Svetič	doktor znanosti s področja farmacije	Franc Vrečer Klemen Korasa	3299
Armando Tratenšek	doktor znanosti s področja farmacije	Tomaž Vovk David Drobne	3300
Mercedes Vitek	doktorica znanosti s področja farmacije	Mirjam Gosenca Matjaž Alenka Zvonar Pobirk	3301
Eva Klara Merzel Šabović	doktorica znanosti s področja medicine	Miodrag Janić	3302

KRKINE NAGRADE S PRIZNANJEM ZA IZSTOPAJOČE RAZISKOVALNO DELO
NAGRAJENCI

Nagrajenec	Naziv	Mentor, somentor	Številka
Aljoša Škorjanc	študent	Nejc Umek	3303
Urška Jeršič	študentka	Tina Maver	3304
Filip Dugonik	študent	Tanja Zidarič	3305
Lejla Kač	študentka	Lidija Gradišnik	3306
Žiga Oražem	magister kemije	Janez Košmrlj	3307
Urban Barbič	magister kemije	Martin Gazvoda	3308
Vito Ham	magister molekularne in funkcionalne biologije	Bojana Žegura Martina Štampar	3309

KRKINE NAGRADE
NAGRAJENCI

Nagrajenec	Naziv	Mentor, somentor	Številka
Nina Katarina Grilc	doktorica znanosti s področja farmacije	Špela Zupančič Julijana Kristl	3310
Maria Laimou--Geraniou	doktorica znanosti s področja kemije	Ester Heath	3311
Sebastjan Kralj	doktor znanosti s področja kemije	Marko Jukič Urban Bren	3312
Martin Ljubič	doktor znanosti s področja farmacije	Jure Borišek Andrej Perdih Marija Sollner Dolenc	3313
Žan Testen	doktor znanosti s področja kemije	Marjan Jereb	3314
Elvira Boršić Mlinarič	doktorica znanosti s področja biokemije in molekularne biologije	Iva Hafner Bratkovič	3315
Eirini Andreasidou	doktorica znanosti s področja kemije	Ester Heath Ana Kovačič	3316
Selena Horvat	doktorica znanosti s področja klinične biokemije in laboratorijske biomedicine	Anja Pišlar	3317
Ana Siljanovska Virant	doktorica znanosti s področja kemije	Janez Cerkovnik	3318
Veronika Weiss	doktorica znanosti s področja farmacije	Žiga Jakopin Martina Gobec	3319
Edvin Purić	doktor znanosti s področja farmacije	Marko Anderluh	3320
Tadej Ojsteršek	doktor znanosti s področja farmacije	Franc Vrečer Grega Hudovornik	3321
Nika Marolt	doktorica znanosti s področja biokemije in molekularne biologije	Tea Lanišnik Rižner	3322
Svit Ferjančič Benetik	doktor znanosti s področja farmacije	Aleš Obreza Urban Košak	3323
Marija Gjorgoska	doktorica znanosti s področja biokemije in molekularne biologije	Tea Lanišnik Rižner	3324

Nagrajenec	Naziv	Mentor, somentor	Številka
Urh Pucihar	doktor znanosti s področja kemije	Tilen Kopač	3325
Anja Tomazin	doktorica medicine	Jasna But Hadžić	3326
Katja Šketa	doktorica medicine	Ivica Ratoša	3327
Anja Pungartnik	magistrica biotehnologije	Anja Klančnik Martina Hrast Rambaher	3328
Tadej Humar	magister kemije	Jurij Svete	3329
Dominik Fendre	magister kemije	Krištof Kranjc	3330
Jan Kogovšek	magister biokemije	Marko Novinec	3331
Samo Jaklin	študent	Damijana Mojca Jurič	3332
Vid Ibic	študent	Miran Brvar	3333
Jan Hrovat	študent		3334
Miha Berk Bevc	magister kemije	Sebastjan Kovačič Darja Pečar Aleksander Saša Markovič	3335
Kaja Eržen	magistrica industrijske farmacije	Robert Roškar Žane Temova Rakuša	3336
Črt Krebs	magister farmacije	Lovro Žiberna Klemen Kirbus	3337
Maša Mihelič	magistra farmacije	Tihomir Tomašič Jaka Dernovšek	3338
Katja Pregeljc	doktorica medicine	Barbara Faganel Kotnik	3339
Anja Drnovšek	magistra farmacije	Mirjam Gosenca Matjaž Monika Prašnikar	3340
Valentina Vutolen	magistrica industrijske farmacije	Špela Zupančič Marija Vukomanović	3341
Kaja Zajc	magistrica poslovnih ved, diplomirana inženirka laboratorijske biomedicine	Miha Škerlavaj Matej Černe	3342
Patrik Hlebanja	magister inženir kemijskega inženirstva	Polona Žnidaršič Plazl	3343
Jakob Trebše	magister biotehnologije	Marija Nika Lovšin Maja Bjeloševič Žiberna	3344

Nagrajenec	Naziv	Mentor, somentor	Številka
Jure Rebselj	magister biotehnologije	Jernej Ule Klara Kuret Hodnik	3345
Pia Bertoncelj	magistrica biotehnologije	Anže Smole Katja Leben Zupet	3346 3347
Neža Kastelec	magistra farmacije	Petra Kocbek Klemen Kirbus	3348
Petra Kubelj **Lina Krulec**	študentka študentka	Tomaž Snoj	3349
Hana Rakuša	doktorica medicine	Leja Dolenc Grošelj Damjana Rozman	3350
Katarina Velkov	magistrica kemije	Katja Venko Miha Lukšič	3351
Ema Šimc	magistra farmacije	Damijan Knez	3352
Lena Grošelj	magistrica kemije	Jurij Svete	3353
Anja Kores	magistrica biotehnologije	Taja Železnik Ramuta	3354
Lara Omahen	študentka	Mateja Erdani Kreft Aleksandar Janev	3355
Monika Gregorič Tasić	magistrica biotehnologije	Iva Hafner Bratkovič	3356
Tilen Kralj	magister farmacije	Odon Planinšek	3357
Iza Klemenčič	magistra farmacije	Joško Osredkar Bojan Knap	3358
Eva Pinter	magistrica molekularne in funkcionalne biologije	Barbara Breznik Vittori Metka Novak	3359
Jernej Birk	univerzitetni diplomirani kemik	Janez Košmrlj	3360
Marcel Tušek	univerzitetni diplomirani biokemik	Marko Novinec	3361
Manca Bajuk	univerzitetna diplomirana kemičarka	Nataša Gros	3362
Jan Čagalj	diplomirani inženir elektrotehnike	Lea Rems	3363
Tisa Lombar **Urban Perko**	dijakinja dijak	Marko Novinec Alenka Mozer Ana Obaha	3364 3365

Nagrajenec	Naziv	Mentor, somentor	Številka
Eva Embreuš	dijakinja	Denis Čuček	3366
Izabela Križanič	dijakinja	Vesna Breznik Roman Kranvogl	3367
Manca Boh	dijakinja	Eva Lajevec Jana Kolar Hend Mahgoub	3368
Brina Kramer	dijakinja	Branka Klemenčič	3369
Živa Hutar	dijakinja	Janez Ilaš Matevž Turk	3370
Ela Marčič	dijakinja	Natalija Jančič Muzafera Paljevac Gašper Vrečer	3371
Jaka Krošl	dijak	Damijana Gregorič	3372
Julija Leva	dijakinja	Petra Kotnik	3373
Nika Mihelčič	dijakinja	Marko Jeran	3374
Manca Pišljar	dijakinja	Luka Irenej Pečan Minja Zorc Anja Tanšek Lidija Zavasnik	3375
Tara Medved	dijakinja	Nika Atelšek Hozjan Andreja Navršnik Kačič	3376
Lara Mrkela	dijakinja	Tamara Šiško	3377
Zoja Šorn Vesel	dijakinja	Marjetka Kastelic Švab	3378
Jan Arih	dijak		3379
Neža Zupanec	dijakinja		3380
Pia Brcar	dijakinja	Andreja Dobaj Štiglic	3381
Neža Amon	dijakinja	Matej Bračič Olivija Plohl	3382
Vid Rožman	dijak	Nataša Horvatić Dolamič	3383
Katja Madjar	dijakinja	Jasmina Kozar Alenka Mujdrica Rožman	3384
Peter Stegu	dijak	Aleksandra Ferenc	3385
Lana Medved	dijakinja	Metod Kovačič	3386
Lu Viola Perko	dijakinja		3387
Eva-Arolea Trdan	dijakinja	Nika Cebin Peter Rodič Matic Može	3388

Nagrajenec	Naziv	Mentor, somentor	Številka
Eva Dragovan	dijakinja	Mojca Višček	3389
Manca Sladič	dijakinja	Matej Pegam	3390
Sara Kopina	dijakinja	Matjaž Retelj	3391
Lenka Rojs	dijakinja	Vera Cunk Manić	3392
Maruša Topolovec	dijakinja		3393
Matevž Brulc	dijak	Branka Klemenčič	3394
Zoja Špilar	dijakinja	Primož Benkič	3395
Lara Bastar	dijakinja	Nina Kacjan Maršić	3396
Maša Muhič	dijakinja	Simona Pečnik Posel Maša Knez Marevci	3397
Taj Žmitek Pravst	dijak	Marko Jeran	3398
Florijan Rauter	dijak	Martina Oder Anita Kušar Lidija Zavasnik	3399
Isidora Dinić	dijakinja	Helena Bajec	3400
Ana Kočnar	dijakinja	Mitja Suvajac Darja Rizmal Liza Zagožen	3401
Alja Pureber	dijakinja	Ema Novinec	3402
Ema Lovrin	dijakinja	Špela Vičič	3403
Špela Rukše	dijakinja		3404
Arina Zhdanova	dijakinja	Natalija Jančič Muzafera Paljevac	3405
Matjaž Alič	dijak	Katja Holnthaner Zorec	3406
Eva Merklin	dijakinja	Marko Jeran	3407
Anej Kramer	dijak	Patricija Lap Maja Ponikvar-Svet Lidija Zavasnik	3408
Jon Milič	dijak	Marija Meznarič	3409
Ivana Karolina Budna	dijakinja	Manca Kovač Viršek	3410
Uroš Jocić	dijak		3411
Erik Šemen	dijak	Sanja Cvar	3412
Lara Osvaldič	dijakinja	Muzafera Paljevac Maša Islamčević Razboršek	3413
Vid Lipovšek	dijak	Damijana Urankar	3414
Anže Cukrov	dijak	Tomaž Žigon	3415

Nagrajenec	Naziv	Mentor, somentor	Številka
Taja Ribič	dijakinja	Uroš Mikolič Tadeja Vajdič Maksimiljan Brus	3416
Mima Hren	dijakinja	Vera Cunk Manić	3417
Staš Nešić	dijak	Nina Klobasa Štrucl	3418
Tija Gostiša	dijakinja	Miha Slapničar	3419
Tevž Papič	dijak	Janez Mavri	3420
Primož Dornik	dijak	Grega Celcar	3421
Rahela Bograf	dijakinja	Miša Mojca Cajnko	3422
Gaja Bičič	dijakinja	Tomaž Žigon	3423
Sara Lovrenčič	dijakinja	Helena Bajec	3424
Anja Vide	dijakinja	Jure Škraban	3425
Jan Knez	dijak	Nika Cebin	3426
Lučka Rotar	dijakinja	Stana Kovač Hace Ana Kroflič	3427
Tjaša Polutnik	dijakinja	Sabina Fijan Katja Holnthaner Zorec	3428
Ana Cvelbar	dijakinja	Alenka Dražić	3429
Ana Štubljar	dijakinja	Goran Dražić	3430
Ana Iza Jaklin	dijakinja	Nina Žuman	3431

KRKINA PRIZNANJA
PREJEMNIKI

Prejemnik	Naziv	Mentor, somentor
Ana Ambrož	doktorica znanosti s področja kemijskega inženirstva	Irena Petrinić Armin Gölzhäuser
Lara Smrdel	doktorica znanosti s področja farmacije	Martina Gobec
Jan Kejžar	doktor znanosti s področja nanoznanosti	Nataša Poklar Ulrih Ilja Gasan Osojnik Črnivec
Urška Češarek	doktorica znanosti s področja kemije	David Pahovnik
Janez Smerkolj	doktor znanosti s področja biokemije in molekularne biologije	Marko Goličnik Miha Pavšič

Prejemnik	Naziv	Mentor, somentor
Peter Lombergar	doktor znanosti s področja elektrotehnike	Bor Kos
Nataša Medved	doktorica znanosti s področja kemije	Janez Plavec
Anja Blažič	doktorica znanosti s področja biokemije in molekularne biologije	Lea Rems
Vesna Kokondoska Grgič	doktorica znanosti s področja biotehnologije	Maša Sinraih Tisnikar Ivana Jovčevska
Matea Maruna	doktorica znanosti s področja biokemije in molekularne biologije	Roman Jerala
Erika Jesenko	doktorica znanosti s področja živilstva	Emil Zlatić
Teja Lavrin	doktorica znanosti s področja biokemije in molekularne biologije	Metka Lenassi
Gloria Krapež	doktorica znanosti s področja biokemije in molekularne biologije	Ivana Jovčevska
Alenka Dražić	doktorica znanosti s področja kemijskega izobraževanja	Iztok Devetak
Sanja Toplak	magistrica inženirka kemijskega inženirstva	Maša Knez Marevci Rita Isabel Dias Pacheco
Maruša Dolinšek	magistrica inženirka tehnologije polimerov	Kaja Kupnik Irena Pulko
Saša Razpotnik	magistra farmacije	Andrej Emanuel Cotman Zala Kulovec
Živa Bračič	magistra mikrobiologije	Polonca Štefanič Irena Zdovc
Ema Faganeli	magistra farmacije	Marko Anderluh
Ana Klinc	doktorica medicine	Mojca Jensterle Sever Rok Herman
Neja Žnidaršič	magistrica biotehnologije	Marko Goličnik
Martina Lenček	magistra farmacije	Mirjam Gosenca Matjaž Monika Prašnikar
Vid Sever	magister farmacije	Stanislav Gobec Alen Krajnc
Zala Gorenjšček	magistrica industrijske farmacije	Martina Hrast Rambaher Majda Golob

Prejemnik	Naziv	Mentor, somentor
Timotej Šuman	magister kemije	Uroš Grošelj
Martin Podlipec	magister kemije	Marjan Jereb
Tara Hrastel	magistra farmacije	Joško Osredkar
Tilen Papec	študent	Damijan Knez
Neža Šavs Vračar	magistra farmacije	Mitja Kos
Eva Špelko	magistrica sanitarnega inženirstva	Rok Fink Manca Lunder
Katja Fingušt	magistrica kemije	Urban Bren Veronika Furlan
Mia Mlakar	magistra farmacije	Mirjam Gosenca Matjaž Monika Prašnikar
John Paul Turk	magister farmacije	Nina Kočevar Glavač Katja Schoss
Kaja Adamek	magistrica biotehnologije	Anja Klančnik Majda Golob
Anita Golob	magistra farmacije	Damijan Knez
Krištof Kepic	magister inženir živilstva	Anja Klančnik Manca Kovač Viršek
Gašper Možina	magister biokemije	Taja Železnik Ramuta Vera Župunski
Špela Blaznik	magistrica inženirka kemijskega inženirstva	Aleš Podgornik
Tajda Klemen	magistrica kemije	Bogdan Štefane
Neja Turk	magistrica poslovnih ved	Matej Černe
Nik Perko	univerzitetni diplomirani kemik	Urban Bren Zala Štukovnik
Maša Klarič	magistra farmacije	Janez Mravljak Andraž Lamut
Eva Šalamon	magistra farmacije	Stane Pajk Hana Kokot
Ema Mujakić	magistrica inženirka prehrane	Evgen Benedik Marko Kavčič

Prejemnik	Naziv	Mentor, somentor
Manca Dostal	magistrica mikrobiologije	Anja Klačnik Aleš Berlec
Matic Jelen	magister fizioterapije	Renata Vauhnik Nataša Kejžar Daša Weber
Katarina Resnik	magistrica laboratorijske biomedicine	Marija Sollner Dolenc Tijana Markovič
Jan Gojkovič	magister farmacije	Matej Sova
Liza Habjan	magistra farmacije	Anja Pišlar Selena Horvat
Marina Poznič	magistra farmacije	Tihomir Tomašič Marzia Fois
Maša Kambič	magistrica inženirka kemijskega inženirstva	Gabriela Kalčíková
Nika Fortuna	magistrica kemije	Janez Košmrlj
Tim Orin Orešič	magister mikrobiologije	Uroš Petrovič Tuulia Hyötyläinen
Jure Martinuzzi	magister inženir kemijskega inženirstva	Zoran Novak Milica Pantić
Marko Pavlović	magister inženir biokemijskega inženirstva	Zoran Novak Amra Perva
Amadeja Mencin	magistrica laboratorijske biomedicine	Urša Pečar Fonović Jernej Cingl
Maša Starman	magistrica biotehnologije	Miha Modic
Žiga Duša	magister farmacije	Urša Pečar Fonović Jernej Cingl
Neža Japelj	univerzitetna diplomirana kozmetologinja	Maja Bjelošević Žiberna
Blaž Kuster	magister inženir prehrane	Evgen Benedik Uroš Godnov
Patricia Luštek	magistra farmacije	Jurij Trontelj Tomaž Vovk
Urban Hrovatič	magister inženir hortikulture	Maja Mikulič Petkovšek Zlata Luthar

Prejemnik	Naziv	Mentor, somentor
Katarina Breznik	magistrica fizioterapije	Maja Frangež Maja Marija Potočnik
Špela Plestenjak	študentka	Katja Goričar
Manca Pirc	študentka	Tanja Marinko
Manca Škulj	doktorica medicine	Mateja Dolenc Voljč Bor Hrvatin Stančič
Patricija Lakner	magistrica inženirka živilstva	Primož Treven Sabina Fijan
Daša Čebulj	univerzitetna diplomirana kemičarka	Janez Košmrlj
Maša Julija Melinc	študentka	John van der Schaaf Judith van Gorp
Maša Jagodič	univerzitetna diplomirana kemičarka	Matja Zalar Urban Bren
Maja Klemen	univerzitetna diplomirana kozmetologinja	Nataša Karas Kuželički Tijana Markovič
Marija Ristovska	univerzitetna diplomirana inženirka kemije	Blaž Likozar Giorgio Tofani
Anej Kos	diplomirani inženir kemijskega inženirstva	Darko Goričanec Klemen Rola
Aleksandar Sarić	diplomirani inženir elektrotehnike	Lea Rems Lana Balentović
Andrej Milisavljević	diplomirani bioinformatik	Marko Jukić Jure Pražnikar
Lea Lončar	diplomirana inženirka materialov	Andraž Kocjan Boštjan Markoli
Haris Fejzuli	diplomirani inženir kemijske tehnologije	Maša Knez Marevci Vesna Postružnik
Julija Jošt	dijakinja	Andreja Kerin
Ameja Lesizza Mencin	dijakinja	Majda Golob
Primož Marinč	dijak	Jerica Sabotič
Hana Terezija Hlede	dijakinja	Marjetka Kastelic Švab
Nuša Grašič	dijakinja	
Polona Lešnjak	dijakinja	

Prejemnik	Naziv	Mentor, somentor
Luna Nagode	dijakinja	Denis Korady
Hana Jurjavčič	dijakinja	Miha Slapničar
Loti Černe Bergant	dijakinja	Darja Silan Vital Mihelčič Aleksander Trajbarič
Nikolina Obradović	dijakinja	Eva Homšak-Godler
David Merela	dijak	Andraž Dolar
Katarina Jovič	dijakinja	Cirila Jeras
Maja Pisnik	dijakinja	Katja Holnthaner Zorec Sanja Cvar Eneko Jose Madorran Esteiro
Marcel Lovšin	dijak	Matjaž Dlouhy
Luka Škerlavaj	dijak	Ana Kroflič
Nina Kavčič	dijakinja	Alenka Dražić
Živa Kastelic	dijakinja	Aleš Gasparič
Blažka Prelog	dijakinja	Nina Žuman
Lana Serdt	dijakinja	
Zala Pregl Breznik	dijakinja	Zdravka Hajdinjak
Lara Pregl Breznik	dijakinja	Michael Schenk Martina Hörmann-Kröpfl
Mihael Hozjan	dijak	Nataša Horvatić Dolamič
Žan Glavač	dijak	Nina Žuman
Eva Župevc	dijakinja	Eva Homšak-Godler
Vita Žigart Rubelj	dijakinja	Katja Holnthaner Zorec Maja Duh Lidija Križančić Bombek Andraž Stožer
Katjuša Žumer	dijakinja	Tadeja Polajnar
Zala Kelbič	dijakinja	
Peter Medič	dijak	Barbara Pipan
Enej Lah Pečnik	dijak	Živa Jurič Zala Bohar Metod Kovačič
Lana Ocvirk	dijakinja	Janez Gorenc
Zoja Jurečič	dijakinja	Branka Klemenčič
Anže Vogrinc	dijak	Jana Škrlep Katja Zdešar Kotnik

Prejemnik	Naziv	Mentor, somentor
Monja Žumer	dijakinja	Eva Homšak-Godler Kristina Polc
Asja Serdt	dijakinja	Marija Meznarič Martina Vida
Gaia Hladin	dijakinja	Irena Drofenik Tajda Remic
Neža Pesrl	dijakinja	Nina Žuman Nataša Horvatić Dolamič
Metka Velikonja	dijakinja	Nina Paučič Eva Homšak-Godler
Zoja Badjuk **Maša Zupančič** **Špela Škof**	dijakinja dijakinja dijakinja	Matej Pegam Jasna Kos Majda Jožef
Taja Leber	dijakinja	Marija Mojca Pirh
Maja Levec **Jaka Matjan**	dijakinja dijak	Andraž Dolar Rafaela Kožlakar
Alen Pukšič **Marko Žižek**	dijak dijak	Alenka Mujdrica Rožman Robert Janža Maša Knez Marevci
Emilija Šebök	dijakinja	Marija Meznarič Pegi Zakrajšek Stergar
Zala Hajdič **Maruša Podrzavnik** **Albert Kozamernik**	dijakinja dijakinja dijak	Sonja Kitak Borut Kosec
Deja Baša	dijakinja	Marija Meznarič Karmen Balažic
Špela Makoter	dijakinja	Mateja Godec
Špela Štepec	dijakinja	Aleksandra Ferenc
Maja Potočnik **Rebeka Strnad**	dijakinja dijakinja	Marija Mojca Pirh
Ana-Mari Jezernik	dijakinja	Aleksandra Ferenc
Špela Ratajec **Mojca Kunc**	dijakinja dijakinja	Metod Kovačič Taja Jeseničnik

Prejemnik	Naziv	Mentor, somentor
Zala Udir	dijakinja	Neža Šulc
Eva Kovačič	dijakinja	Marija Mojca Pirh Eva Homšak-Godler
Izabela Zala Kranfogel	dijakinja	Nina Žuman
Kaja Šeruga	dijakinja	
Ema Novak	dijakinja	Marija Meznarič
Alina Bedrač	dijakinja	
Adam Zver	dijak	
Eman Botonjić	dijak	Rajko Premović
Žan Črnivec Kalar	dijak	
Kristjan Ceglar	dijak	
Mark Kalšek	dijak	Darja Silan



Nepredvidljivost današnjega časa skupaj z nenehnim pretokom informacij ustvarja stalne dražljaje, ki nam sčasoma postajajo bolj domači kot umirjeno in stabilno okolje. V sodobni dinamiki nam digitalna orodja vse večkrat ponudijo odgovore, še preden nam uspe oblikovati pravo vprašanje. Posledično si vse redkeje vzamemo čas za daljši razmislek. Hitro se znajdemo v situaciji, ko se utapljamo v informacijah, a hkrati pozabljamo misliti.

Nova odkritja, tehnologije in napredna orodja so od nekdaj premikala meje znanosti, danes pa se zdi, da lahko njen pravi preboj tudi zavirajo. Zato je treba spodbujati okolje, v katerem si vzamemo čas za temeljit in kritičen razmislek. In ravno to počnejo Krkine nagrade, ki mlade že več desetletij spodbujajo k lastni ustvarjalnosti, raziskovanju in razvoju. Prav zato me zelo veseli, da smo na letošnji razpis prejeli rekordno število dijaških in študentskih raziskovalnih nalog. Seveda si raziskovalci pri njihovi pripravi pomagajo z novimi digitalnimi orodji, a najboljši se od drugih ločijo tudi po tem, da temelje svojih raziskav gradijo na lastnem razmisleku.

Tudi Krkine nagrade stojijo na trdnih temeljih, ki so jih pred več kot petimi desetletji postavili njihovi očetje. Eden med njimi je bil prof. dr. Mihael Japelj, ki je kot prvi predsednik Sveta Sklada Krkinih nagrad svojo nalogo opravljal s predanostjo, vizijo in vero v mlade raziskovalce. Profesor Japelj se ni ustavil pri temeljih, temveč je še dolgo ostal prijatelj Krkinih nagrad in znanstvene skupnosti. S svojimi premišljenimi komentarji je dolga leta bogatil simpozije in podelitve Krkinih nagrad. Profesor Japelj, dragi Miha, prepričani smo, da boš ostal v lepem spominu vsem, ki smo povezani s Krkinimi nagradami in danes po svojih najboljših močeh nadaljujemo poslanstvo, ki si ga pomagal začeti.

In letos bomo prav to poslanstvo razširili na še mlajše generacije, pri katerih bosta mladostna svežina in igrivost v kombinaciji s stroko zagotovo vodili do številnih novih idej. V Svetu Sklada Krkinih nagrad bomo namreč prvič organizirali Krkin raziskovalni izziv za osnovnošolce.

Glede na številne odlične raziskovalne naloge, ki smo jih prejeli na letošnji razpis, verjamem, da bodo mladi raziskovalci tudi v prihodnje s tehtnim in kritičnim razmislekom skrbeli za odgovorno in kakovostno znanost. V imenu Znanstvenega odbora Sveta Sklada Krkinih nagrad se zahvaljujem vsem sodelujočim raziskovalcem in mentorjem ter čestitam vsem prejemnikom Krkinih nagrad in priznanj.

Doc. dr. Klemen Korasa

predsednik Znanstvenega odbora Sveta Sklada Krkinih nagrad

Today's unpredictable world, coupled with a relentless flow of information, exposes us to a constant stream of stimuli that slowly make calm and stability feel unfamiliar. In the current dynamic environment, digital tools often provide answers before we have even formulated the right questions, making us less inclined to pause and engage in deeper reflection. Surrounded by an abundance of information, we too often forget the importance of thinking.

Discoveries, new technologies, and advanced tools that have long propelled scientific advancement now, at times, seem to impede genuine breakthroughs. It is, therefore, essential to foster an environment that values profound and critical thinking. For decades, Krka Prizes have promoted this vision by encouraging young people to be creative, pursue research, and contribute to development. I am delighted that this year's Krka Prizes call attracted a record number of secondary school and student research papers. While young researchers rely on the advantages of new digital tools, the best among them excel because they build their research on their own critical reflection and contemplation.

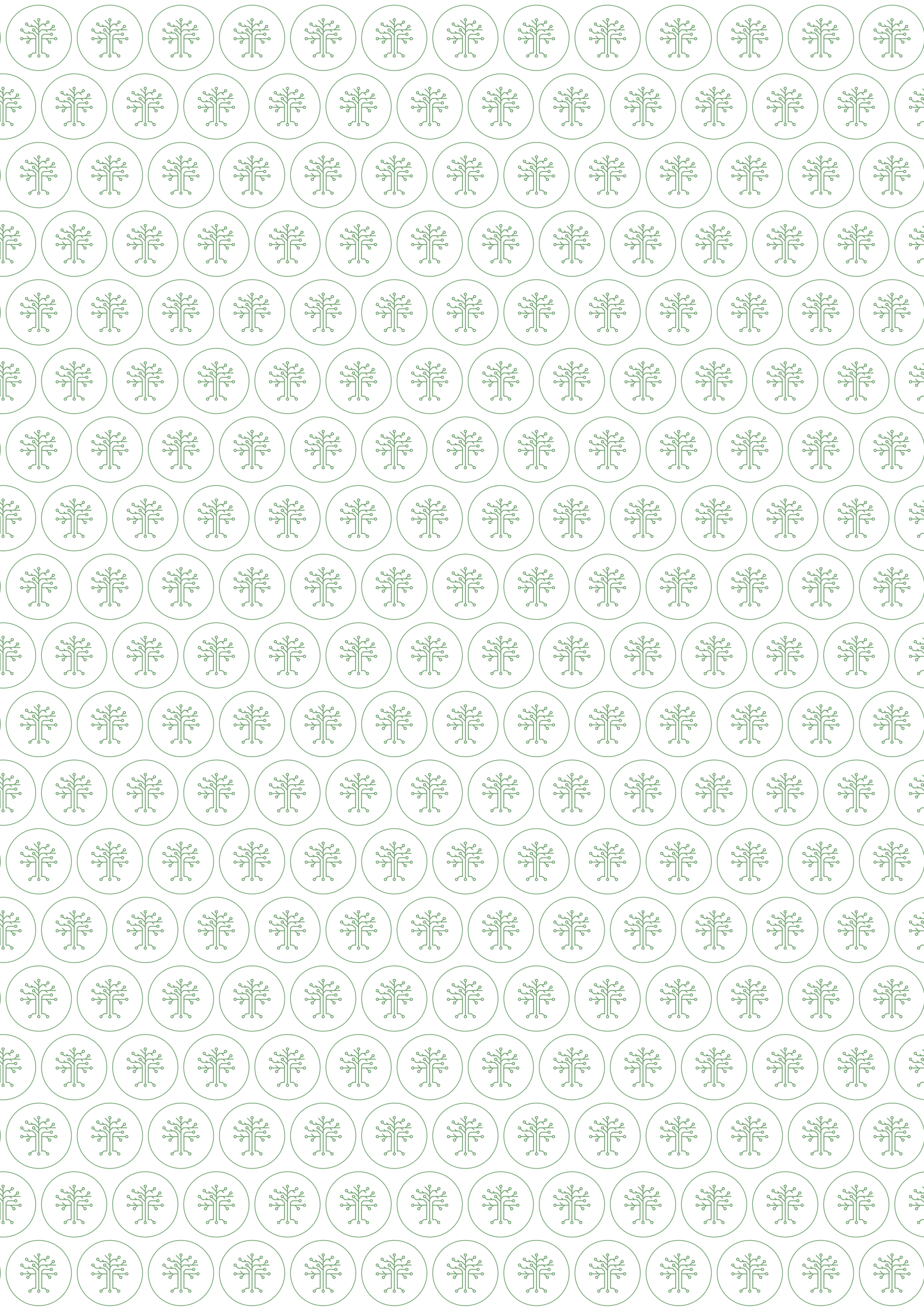
Krka Prizes also rest on the solid foundations laid more than five decades ago by their visionary founders. Among them was Prof. Dr Mihael Japelj, the first President of the Krka Prizes Council, who pursued the vision of the Prizes with dedication and strong belief in young researchers. In addition to his founding role, he remained a steadfast supporter of Krka Prizes and the scientific community. His thoughtful remarks have made an invaluable contribution to Krka Prizes symposia and ceremonies. Dear Prof. Japelj, dear Miha, all of us involved in the Prizes, striving to carry forward the mission you helped create, will cherish your memory with gratitude.

This year, to advance the mission, we are extending participation to even younger generations to explore how youthful curiosity and playfulness, combined with scientific perspective, can spark new ideas. The Krka Prizes Council is launching a first-time research challenge for primary school pupils.

The numerous outstanding research papers submitted in this year's call for papers give me the confidence that young researchers will continue to cultivate responsible and robust scientific work, guided by their thoughtful and critical thinking. On behalf of the Scientific Committee of the Krka Prizes Council, I would like to congratulate all recipients of Krka Prizes and recognitions. I would also like to express my sincere gratitude to all researchers who submitted their papers and to their supervisors.

Assist. Prof. Dr Klemen Korasa

President of the Scientific Committee of the Krka Prizes Council



56. KRKINE NAGRADE
56th KRKA PRIZES

VELIKE KRKINE NAGRADE

KRKA GRAND PRIZES

PREDSTAVITEV NAGRAJENCEV
PRIZE WINNERS

DR. ALEN GABRIČ

Prihaja iz Brestanice, kjer je obiskoval osnovno šolo. Šolanje je nadaljeval na Gimnaziji Brežice. Že zgodaj so ga pritegnili naravoslovni predmeti, njegov vsakdan pa je krojil tudi šport, ki ostaja pomemben del njegovega življenja. Za farmacijo se je odločil, ker povezuje različne znanstvene discipline. Med študijem je odkril posebno veselje do laboratorijskega dela in se vključil v raziskovalno delo pod vodstvom izr. prof. dr. Staneta Pajka, ki ga je pozneje kot mentor spremljal pri magistrskem in doktorskem študiju. Po magisteriju leta 2019 se je kot Krkin štipendist zaposlil v laboratoriju za masno spektrometrijo pod vodstvom dr. Žige Hodnika in se podal na raziskovalno pot na področju, ki ga navdušuje še danes.



Vsak rezultat ti nekaj pove, tudi tisti, ki ga nisi pričakoval

RAZUMEVANJE STABILNOSTI ZDRAVIL

Moje raziskovalno področje je analitika, natančneje proučevanje stabilnosti zdravil in procesov, ki vplivajo na njihov razpad. Že med študijem in raziskovalnim delom sem ugotovil, da me najbolj zanima analizna kemija, zato sem se z velikim navdušenjem pridružil delu v laboratoriju za masno spektrometrijo. Pri predformulacijskih študijah se ukvarjam predvsem z identifikacijo nečistot in prvim vpogledom v stabilnost zdravil. Prav tam je v sodelovanju z dr. Žigo Hodnikom vzklila ideja za doktorsko raziskavo na področju oksidacij, ki imajo pomembno vlogo pri razgradnji zdravilnih učinkovin in obnašanju pomožnih snovi, hkrati pa v zvezi z njimi še vedno ostajajo številna neodgovorjena vprašanja.

NOVA SPOZNANJA O OKSIDACIJI ZDRAVIL

Osnovno sporočilo moje raziskave je, da na stabilnost zdravil ne vplivajo le zdravilne učinkovine, temveč tudi pomožne snovi, ki jih uporabljamo pri izdelavi tablet. Te lahko vsebujejo sledi peroksidov, ki sprožajo oksidativno razgradnjo učinkovin in posledično vplivajo na kakovost zdravil. Na primeru famotidina smo razvili novo analizno metodo, ki omogoča ločeno določanje dveh vrst peroksidov v pomožnih snoveh. Pokazali smo, da količina in vrsta peroksidov neposredno vplivata na obseg razgradnje zdravilne učinkovine. Pomembno odkritje raziskave je tudi ugotovitev, da lahko askorbinska kislina oz. vitamin C v določenih okoliščinah deluje ravno nasprotno od pričakovanj in oksidacijo celo pospeši. Raziskava prinaša občutljivejše in selektivnejše analizno orodje ter novo razumevanje mehanizmov oksidativne razgradnje zdravil. Rezultati imajo neposredno uporabno vrednost v farmacevtski industriji, saj omogočajo izbiro stabilnejših kombinacij učinkovin in pomožnih snovi ter prispevajo k daljšemu roku uporabnosti in večji kakovosti zdravil.

IZMENJAVA ZNANJA ZA NAJBOLJŠE IDEJE

Pri raziskovalnem delu me najbolj navdihujejo sodelavci. Ko skupaj obravnavamo različne izzive, vsak prispeva svoj pogled in idejo, pri takem sodelovanju pa pogosto nastanejo najboljše rešitve. Prav izmenjava znanja in različnih izkušenj je po mojem mnenju eden ključnih dejavnikov raziskovalnega napredka.

NEPRECENLJIVA POMOČ MENTORJEV

Pri delu sem imel kar tri mentorje. Pomembno vlogo je imel moj mentor v Krki dr. Žiga Hodnik, ki vedno najde čas za strokovno razpravo ter je bil s svojim poznavanjem analitike in stabilnosti zdravil ter bogatimi izkušnjami nepogrešljiv pri iskanju rešitev. Pomemben prispevek sta dodala tudi mentorja s Fakultete za farmacijo izr. prof. dr. Stane Pajk in prof. dr. Janez Ilaš, ki sta pomagala povezovati akademska spoznanja z industrijsko prakso. Skupaj so bili odlična kombinacija mentorjev.

VZTRAJNO DO POSTAVLJENEGA CILJA

Doktorski študij ob rednem delu je zahteval veliko odrekanja. Velik del prostega časa je bil namenjen branju literature, raziskovanju in delu v laboratoriju. Kljub temu mi motivacije nikoli ni zmanjkalo, saj sem ves čas jasno vedel, kaj želim doseči. Tudi sicer se imam za človeka, ki si postavi cilj in vztraja, dokler ga ne doseže. Ob vztrajnosti bi med svoje pomembnejše lastnosti uvrstil še radovednost in veselje do dela v skupini, saj verjamem, da največji napredek dosežemo prav s sodelovanjem.

PRENAŠANJE ZNANJA V PRAKSO

Profesionalno pot želim nadaljevati v Krki, kjer lahko znanje in izkušnje, pridobljene med študijem, neposredno uporabljam pri vsakodnevnem delu. Prav prenos raziskovalnih spoznanj v prakso vidim kot enega najpomembnejših vidikov svojega poklica.

DEL KRKINE TRADICIJE RAZISKOVALNE ODLIČNOSTI

Kot zaposleni v Krki sem vrsto let spremljal predstavitve Krkinih nagrajencev in občudoval njihovo kakovost. Že ob začetku doktorskega študija sem vedel, da želim svoje delo prijaviti na razpis. Prejeta nagrada mi pomeni veliko priznanje in potrditev, da je bilo raziskovalno delo prepoznano kot pomemben prispevek k razvoju farmacevtske stroke.

DRZNITE SI POSTAVITI VISOKE CILJE

Novim generacijam raziskovalcev bi sporočil, naj si upajo postaviti visoke cilje in naj pri njih vztrajajo tudi takrat, ko rezultati niso takoj vidni. Potrpežljivost je v raziskovanju pogosto ključna za preboj. Prav tako naj ne podcenjujejo moči sodelovanja, saj se največ dobrih idej rodi v pogovoru s sodelavci in mentorji.

NAJBOLJŠI NASVET

Vsak rezultat ti nekaj pove, tudi tisti, ki ga nisi pričakoval.

ŽIVLJENJSKO VODILO

Konstantnost premaga odličnost.

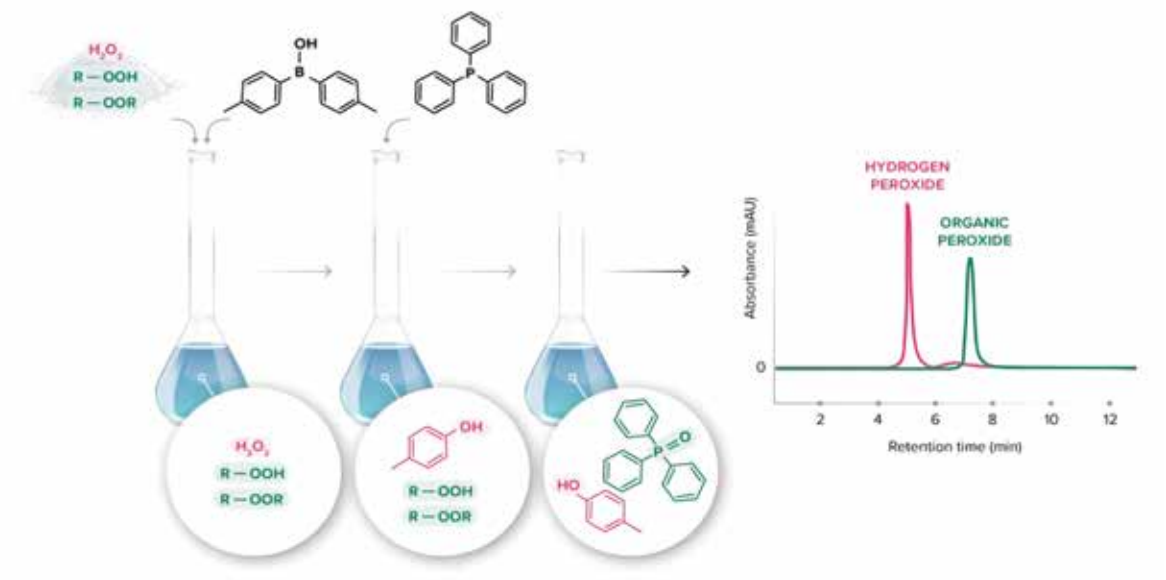
Alen Gabrič, Krka, d. d., Novo mesto, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Stane Pajk, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: Janez Ilaš, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: Žiga Hodnik, Krka, d. d., Novo mesto

Razvoj analiznih metod in stresnih testov za študij oksidacije famotidina v prisotnosti pomožnih snovi

Varnost in učinkovitost sta ključna vidika v razvoju in raziskavah zdravil. Formulacije so zato zasnovane tako, da dosegajo ustrezno biološko uporabnost in fizikalno-kemično stabilnost do predpisanega roka hranjenja. Na kemično stabilnost zdravila poleg lastnosti učinkovine vplivajo pomožne snovi, ki lahko vsebujejo reaktivne nečistote in tako vplivajo na stabilnost končne farmacevtske oblike. V tem kontekstu je stabilnost zelo pomembno področje razvoja in raziskav, in to ne samo za nova zdravila, ampak tudi za generična zdravila.

Glavni cilj raziskave je bil proučiti vpliv oksidacijskih procesov na famotidin ter vzpostaviti povezavo med vsebnostjo peroksidnih nečistot v pomožnih snoveh in oksidativno stabilnostjo učinkovine. V okviru raziskave je bila razvita analizna metoda za sočasno selektivno določanje vodikovega peroksida in organskih peroksidov v pomožnih snoveh. Ker predhodno opisane metode večinoma določajo skupne peroksidne nečistote, je razvoj temeljil na selektivni reakciji boronske kisline z vodikovim peroksidom. Uporabljen je bil hidroksi-di-p-tolilboran, ki z vodikovim peroksidom tvori p-krezol. Po odstranitvi vodikovega peroksida trifenilfosfin (TPP) reagira s preostalimi organskimi peroksidi in tvori trifenilfosfin oksid (TPPO).

Na tej podlagi je bila razvita enolončna (*one-pot*) metoda HPLC, pri kateri se v enem analiznem postopku kvantificirata p-krezol in TPPO ter tako ločeno določita obe skupini peroksidnih nečistot. Metoda je bila validirana v skladu z zahtevami ICH: ovrednotene so bile točnost, ponovljivost, linearnost, meja zaznavnosti in določitve ter stabilnost standardov in vzorcev. Uporabnost metode je bila potrjena tudi v kompleksnejših matriksih, kot so med, mleko in olje.

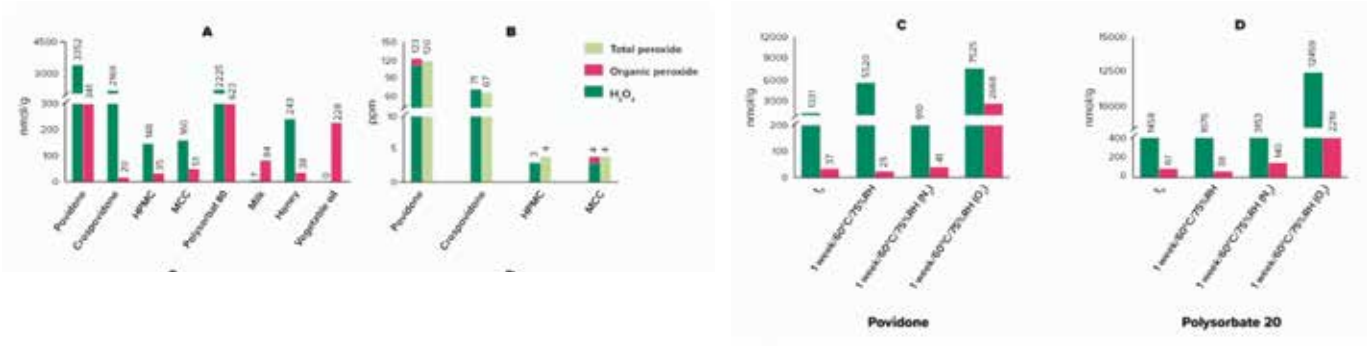


Slika 1. Shematski prikaz enolončne (*one-pot*) metode HPLC za določanje vodikovega peroksida in organskih peroksidov.

Nastajanje in dinamiko peroksidnih nečistot smo proučevali v mikrokristalni celulozi (MCC), hidroksipropilcelulozi (HPC) ter povidonu z nizko in visoko začetno vsebnostjo peroksidnih nečistot. Vzorci so bili izpostavljeni stresnim pogojem v atmosferi zraka, dušika in kisika. V MCC in HPC, kjer so bile začetne vsebnosti peroksidov nizke, med skladiščenjem ni bilo pomembnih sprememb. Pri povidonu z nizkimi

začetnimi peroksidi je med peroksidnimi nečistotami prevladoval vodikov peroksid, katerega vsebnost se je v odprtih pogojih zvišala, zlasti pri višjih temperaturah in ob prisotnosti vlage. Nastanek organskih peroksidov je bil izrazitejši pri zvišani temperaturi in izpostavljenosti kisiku.

Povidon z visoko začetno vsebnostjo peroksidnih nečistot je imel že na začetku višjo skupno vsebnost peroksidnih nečistot, predvsem organskih peroksidov. Tudi pri njem sta na njihovo nastajanje pomembno vplivala temperatura in kisik, vendar se je v odprtih pogojih vsebnost peroksidov s časom zniževala, medtem ko se je pri povidonu z nižjimi začetnimi vsebnostmi peroksidov zviševala. Različno obnašanje kaže na kompleksno ravnotežje med nastajanjem in razgradnjo peroksidov, mehanizem pa ni bil dokončno pojasnjen. Po šestih mesecih skladiščenja v zaprtih vsebnikih pri 25 °C in 60-odstotni relativni vlažnosti se je vsebnost peroksidnih nečistot pri obeh vrstah povidona zvišala za približno 10 %. Rezultati kažejo na pomembnost nadzorovanja temperature, vlage in izpostavljenosti kisiku ter omejevanja odpiranja embalaže.



Slika 2. Primerjava vsebnosti vodikovega peroksida in organskih peroksidov v različnih pomožnih snoveh, mleku, olju in medu (A); primerjava vsebnosti vodikovega peroksida in organskih peroksidov, določenih z novo metodo in z uveljavljeno metodo TPP/TPPO (B); primerjava vsebnosti vodikovega peroksida in organskih peroksidov v stresiranih in nestresiranih vzorcih povidona (C); primerjava vsebnosti vodikovega peroksida in organskih peroksidov v stresiranih in nestresiranih vzorcih polisorbata 20 (D).

Proučen je bil tudi vpliv antioksidantov butilhidroksitoluen (BHT), butilhidroksianizol (BHA), etilendiamintetraocetna kislina (EDTA), askorbinske kisline in propil galata. BHT, BHA in EDTA pri prvotno uporabljenih koncentracijah niso bistveno vplivali na vsebnost peroksidnih nečistot, medtem ko sta askorbinska kislina in propil galat povzročila njeno zvišanje. Pri nižjih koncentracijah sta propil galat in EDTA pokazala stabilizacijski učinek, zlasti v povidonu z nizko začetno vsebnostjo peroksidov. Askorbinska kislina je tudi pri nižji koncentraciji ostala povezana z zvišanimi ravnmi peroksidnih nečistot, kar kaže, da lahko v določenih pogojih deluje kot pospeševalec oksidacijskih procesov.

V zaključni fazi smo vpliv peroksidnih nečistot proučili neposredno v tabletah s famotidinom. Uporabljen je bil povidon z nizkimi in visokimi vsebnostmi peroksidnih nečistot, in sicer samostojno ali v kombinaciji z askorbinsko kislino, propil galatom in EDTA. Vzorci so bili izpostavljeni stresnim pogojem v odprtem in zaprtem okolju ter analizirani s HPLC s poudarkom na famotidin sulfoksidu kot glavnem oksidativnem razgradnem produktu. Formulacije s povidonom z visoko vsebnostjo peroksidnih nečistot so pokazale izrazitejšo oksidacijo famotidina kot formulacije s povidonom z nizko vsebnostjo teh nečistot, kar potrjuje neposredno povezavo med vsebnostjo peroksidnih nečistot v pomožni snovi in oksidativno stabilnostjo učinkovine. Najizrazitejši učinek je bil opažen pri kombinaciji povidona z visoko vsebnostjo peroksidnih nečistot in askorbinske kisline, pri kateri je vsebnost oksidativnih razgradnih produktov v odprtem okolju dosegla najvišje vrednosti. Nasprotno je kombinacija istega povidona in propil galata povzročila bistveno nižjo vsebnost famotidin sulfoksida, kar potrjuje njegov stabilizacijski potencial.

Raziskava je pokazala, da sta za obvladovanje tveganja oksidativne razgradnje famotidina pomembna selektivno spremljanje posameznih skupin peroksidnih nečistot in njihovo nadzorovanje v pomožnih snoveh. Posebno pomembni so pogoji skladiščenja ter izpostavljenost vlagi in kisiku, pomembna pa je tudi izbira antioksidantov. Rezultati potrjujejo povezavo med peroksidnimi nečistotami v pomožnih snoveh in oksidativno stabilnostjo famotidina ter podpirajo uporabo razvite metode za celovitejšo oceno oksidativnega tveganja v formulacijah.

Alen Gabrič, Krka, d. d., Novo mesto, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: Stane Pajk, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: Janez Ilaš, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: Žiga Hodnik, Krka, d. d., Novo mesto

Development of Analytical Methods and Stress Tests for Study of Famotidine Oxidation in Presence of Excipients

Safety and efficacy are key aspects of drug development and research. Formulations are therefore designed to achieve adequate bioavailability and physicochemical stability throughout the prescribed shelf life. In addition to the properties of the active substance, the chemical stability of a drug product is also influenced by excipients, which may contain reactive impurities and thereby affect the stability of the final pharmaceutical form. In this context, the stability of drug products is a highly important area of development and research, not only for new medicines but also for generic medicines.

The main aim of the research was to study the effect of oxidative processes on famotidine and to establish a link between the peroxide impurity content of excipients and the oxidative stability of the active substance.

As part of the research, an analytical method was developed for the simultaneous, selective determination of hydrogen peroxide and organic peroxides in excipients. Since previously described methods mostly determine total peroxide impurities, the new method was based on the selective reaction of boronic acid with hydrogen peroxide. Hydroxy-di-p-tolylborane was used, which reacts with hydrogen peroxide to form p-cresol. After the removal of hydrogen peroxide, triphenylphosphine (TPP) reacts with the remaining organic peroxides to form triphenylphosphine oxide (TPPO).

Based on this principle, a 'one-pot' HPLC method was developed, in which p-cresol and TPPO are quantified within a single analytical procedure, thereby separately determining both groups of peroxide impurities. The method was validated in accordance with ICH requirements; accuracy, repeatability, linearity, limit of detection and quantification, and the stability of standards and samples were all evaluated. The applicability of the method was also confirmed in more complex matrices, such as honey, milk, and oil.

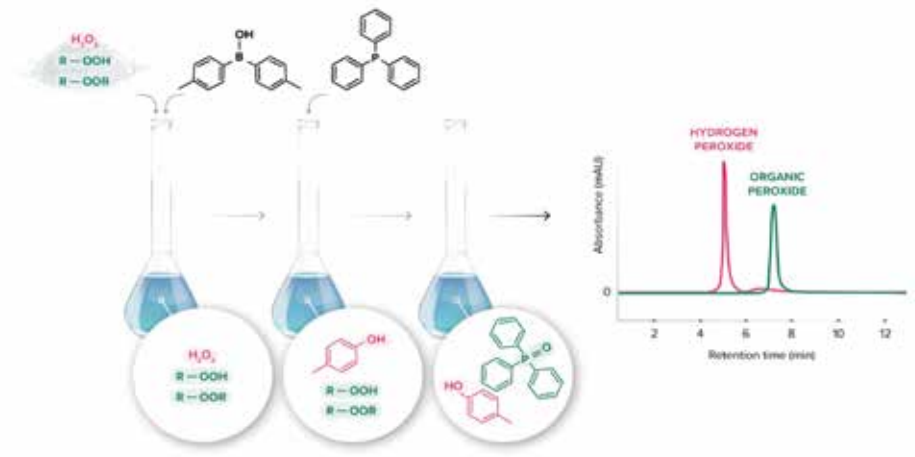


Figure 1. Schematic representation of the 'one-pot' HPLC method for determining hydrogen peroxide and organic peroxides.

The formation and dynamics of peroxide impurities were studied in microcrystalline cellulose (MCC), hydroxypropyl cellulose (HPC), and povidone with low and high initial peroxide content. Samples were exposed to stress conditions under air, nitrogen, and oxygen atmospheres. In MCC and HPC, where the initial peroxide content was low, no significant changes occurred during storage. In low-peroxide

povidone, most of the peroxide impurities consisted of hydrogen peroxide, and its content increased under open conditions, particularly at higher temperatures and in the presence of moisture. The formation of organic peroxides was more pronounced at elevated temperature and oxygen exposure.

Povidone with a high initial peroxide content already had a higher total peroxide content at the outset, mainly in the form of organic peroxides. In this case as well, temperature and oxygen significantly influenced their formation; however, under open conditions the peroxide content decreased over time, whereas it increased in povidone with lower initial peroxide levels. This differing behaviour indicates a complex equilibrium between the formation and degradation of peroxides, the mechanism of which was not fully elucidated. After six months of storage in closed containers at 25 °C and 60% relative humidity, the peroxide impurity content increased by approximately 10% for both types of povidone. The results highlight the importance of controlling temperature, humidity, and oxygen exposure, as well as limiting frequent opening of the packaging.

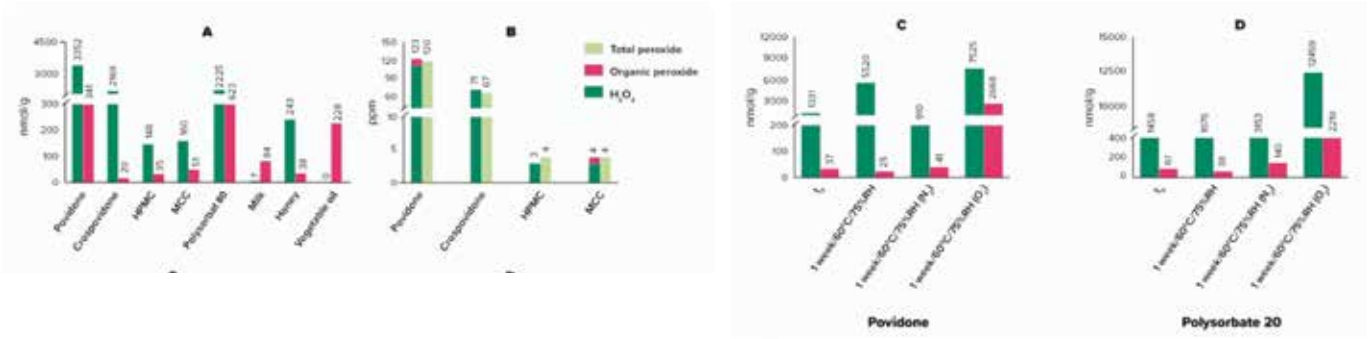


Figure 2. A) Content of hydrogen peroxide and organic peroxides in various excipients, milk, oil, and honey. B) Comparison of hydrogen peroxide and organic peroxide content determined by the new method versus the established TPP/TPPO method. C) Comparison of hydrogen peroxide and organic peroxide content in stressed and non-stressed povidone samples. D) Comparison of hydrogen peroxide and organic peroxide content in stressed and non-stressed polysorbate 20 samples.

The effect of the antioxidants butylated hydroxytoluene (BHT)/butylated hydroxyanisole (BHA), EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid), ascorbic acid, and propyl gallate was also investigated. BHT, BHA, and EDTA, at the initially used concentrations, did not significantly affect peroxide impurity content, whereas ascorbic acid and propyl gallate caused an increase. At lower concentrations, propyl gallate and EDTA showed a stabilising effect, particularly in povidone with low initial peroxide content. Even at a lower concentration, ascorbic acid remained associated with elevated peroxide levels, indicating that under certain conditions it can act as a pro-oxidant.

In the final phase, the effect of peroxide impurities was studied directly in famotidine tablets. Povidone with low and high peroxide content was used, either alone or in combination with ascorbic acid, propyl gallate, and EDTA. Samples were exposed to stress conditions in open and closed environments and analysed by HPLC, with a focus on famotidine sulfoxide as the main oxidative degradation product. Formulations containing povidone with high peroxide content showed more pronounced famotidine oxidation than formulations with low-peroxide povidone, confirming a direct link between the peroxide content of the excipient and the oxidative stability of the active substance. The most pronounced effect was observed with the combination of high-peroxide povidone and ascorbic acid, where the content of oxidative degradation products in the open environment reached the highest values. Conversely, the combination of the same povidone with propyl gallate resulted in a substantially lower content of famotidine sulfoxide, confirming its stabilising potential.

The study showed that, in order to manage the risk of oxidative degradation of famotidine, selective monitoring of individual groups of peroxide impurities and their control in excipients are important. Storage conditions and exposure to moisture and oxygen are particularly important, as is the appropriate choice of antioxidants. The results confirm the link between peroxide impurities in excipients and the oxidative stability of famotidine and support the use of the developed method for a more comprehensive assessment of oxidative risk in pharmaceutical formulations.

DR. SANDI SVETIČ

Prihaja iz Črnomlja, kjer je obiskoval Osnovno šolo Mirana Jarca in Gimnazijo Črnomelj. Kot otrok je veliko časa preživel ob knjigah, risanju, slikanju, v naravi in na taborjenju. V gimnazijskih letih je resno razmišljal o študiju arhitekture, vendar ga je pot nazadnje vodila na Fakulteto za farmacijo Univerze v Ljubljani. Leta 2019 je magistriral in se kot raziskovalec v Farmacevtskem razvoju zaposlil v Krki. Ob delu se je odločil še za doktorski študij, v okviru katerega se je posvetil raziskavam procesno analiznih tehnologij. Tako je v zadnjih letih raziskovanje zaznamovalo njegove delovne in tudi številne proste ure.



Vprašanja, na katera še ni odgovora, so najboljša motivacija za raziskovanje

VPOGLED V IZDELEK MED NJEGOVIM NASTAJANJEM

Moje raziskovalno področje so procesno analizne tehnologije, ki so nekakšna dodatna »očala« za spremljanje nastajanja izdelka med proizvodnim procesom. Na to področje me je med študijem pripeljalo naključje, saj sem se v okviru magistrske naloge vključil v doktorsko raziskavo ene od sodelavk v Krki. Področje me je hitro pritegnilo, ker omogoča širši in globlji vpogled v procese, kot ga ponujajo tradicionalni pristopi. Pri klasičnem spremljanju procesa nastajanje izdelka večinoma spremljamo prek procesnih parametrov in posameznih meritev, procesno analizne tehnologije pa nam omogočajo tudi neposredno ali posredno spremljanje lastnosti izdelka, ki bi jih sicer lahko določili šele po koncu njegove izdelave.

SODOBNI PRISTOPI S STANDARDNO OPREMO

Osnovno sporočilo moje raziskovalne naloge je, da je mogoče najsodobnejše tehnološke pristope razvijati tudi z uporabo standardne procesne in analizne opreme. S premišljeno kombinacijo obstoječih tehnologij je mogoče vzpostaviti procese, ki zagotavljajo boljše razumevanje razvoja farmacevtskih izdelkov. Moje ugotovitve povezujejo več aktualnih raziskovalnih področij farmacevtske tehnologije v rešitev, uporabno tako v raziskovanju kot farmacevtskem razvoju in proizvodnji.

NAVDIHUJEJO ME NEPRIČAKOVANI REZULTATI

Največji zagon pri raziskovalnem delu mi dajejo rezultati, ki sprva niso logični. Takšnim trenutkom običajno sledi frustracija, nato pa poglobljena analiza podatkov, pregled literature ter načrtovanje dodatnih poskusov in analiz. Prav vprašanja, na katera še ni odgovora, so največji vir mojega raziskovalnega navdiha.

MENTORSTVO JE TEMELJ RAZISKOVALNE RASTI

Pri svojem doktoratu sem imel privilegij sodelovati z mentorjem prof. dr. Francem Vrečerjem, mag. farm., in somentorjem doc. dr. Klemnom Koraso, mag. farm. Njuna vloga je bila ključna čez celoten doktorski študij, od načrtovanja raziskav do objavljanja znanstvenih člankov. Pri tem moram poudariti visoke strokovne standarde, ki jih je postavljal prof. Vrečer. Prav zahtevnost, strokovnost in nenehno spodbujanje k izboljšavam so pomembno prispevali h kakovosti mojega raziskovalnega dela in k mojemu osebnemu razvoju.

PODPORA DRUŽINE IN RAVNOVESJE

Živim na Tanči Gori v Beli krajini, zaposlen pa sem v Novem mestu. Doktorski študij ob rednem delu je zahteval veliko usklajevanja med poklicnimi in zasebnimi obveznostmi. Z ženo sva se že na začetku dogovorila, da bo doktorat najin skupni projekt, saj bi bila brez podpore najbližjih pot bistveno težja. Velik del prostega časa sem namenjal raziskovanju, nekaj pa sem ga vedno našel tudi za dejavnosti, ki me sproščajo. Rad tečem, hodim v naravo, potujem in se družim s prijatelji.

ZNANJE ZA NOVE RAZVOJNE IZZIVE

Tudi v prihodnje želim svoje znanje čim bolje uporabiti pri delu v farmacevtskem razvoju. Raziskovanje razumem kot sestavni del razvoja sodobnih farmacevtskih izdelkov, zato želim pridobljene izkušnje in znanje še naprej nadgrajevati ter jih prenašati v prakso.

MIREN TUDI V ZAHTEVNIH SITUACIJAH

Med svoje pomembnejše osebnostne lastnosti uvrščam mirnost, vztrajnost in timsko naravnanost. Tudi v stresnih okoliščinah skušam ostati zbran in motiviran. Posebno uživam v delu v skupini. Sodelavci pa radi izpostavijo moj nasmeh, ki me le redko zapusti.

DEL 56-LETNE ZGODBE RAZISKOVALNE ODLIČNOSTI

Krkine nagrade so pomemben prispevek k promociji znanosti in raziskovalne kulture v slovenski družbi. S spodbujanjem mladih raziskovalcev podjetje jasno sporoča, da so znanje, radovednost in sistematično raziskovalno delo ključne vrednote sodobnega časa. Krkino nagrado sem prejel že za magistrsko nalogo, hkrati pa sem obdan s številnimi sodelavci, ki so prav tako prejemniki Krkinih nagrad. Takšno okolje potrjuje, da Krka prepoznava in spodbuja raziskovalno odličnost. Prejeta nagrada mi predstavlja pomembno priznanje za leta raziskovalnega dela, predvsem pa veliko čast in ponos, da sem postal del zgodbe, ki že več kot pol stoletja povezuje generacije raziskovalcev.

ZNANJE OSTAJA KLJUČNA VREDNOTA

Novim generacijam raziskovalcev sporočam, da znanje tudi v času umetne inteligence ostaja ena najpomembnejših vrednot. Zato berite, raziskujte in razvijajte svoje ideje. Tehnologija naj pomaga pri delu, uspeh pa še vedno temelji na radovednosti, vztrajnosti in želji po ustvarjanju boljših rešitev.

NAJBOLJŠI NASVET

Če vsak dan napišeš vsaj en stavek, bo to slej ko prej zraslo v disertacijo.

ŽIVLJENJSKO VODILO

Vse, kar se moramo odločiti, je, kaj storiti s časom, ki nam je dan.

J. R. R. Tolkien

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

Vrednotenje uporabnosti orodij procesno analizne tehnologije med procesom tvorbe amorfne trdne disperzije z vrtinčnoslojnim granuliranjem

Amorfne trdne disperzije (ATD) so med novo registriranimi zdravili najpogosteje uporabljen pristop za izboljšanje topnosti slabo topnih zdravilnih učinkovin. V njih je zdravilna učinkovina v amorfni obliki vgrajena v polimerni nosilec. Ob stiku z vodnim medijem se polimerni nosilec raztopi, zdravilna učinkovina pa se sprosti v obliki posameznih molekul ali amorfnih delcev. Tako nastane prenasičena raztopina, v kateri koncentracija zdravilne učinkovine presega ravnotežno topnost kristalinične oblike. Raztopljeni polimer hkrati zavira nukleacijo in rast kristalov ter prenasičeno stanje ohranja dovolj dolgo, da se zdravilna učinkovina lahko absorbira.

Za izdelavo ATD v industrijskem merilu sta po literaturnih podatkih najpogosteje uporabljeni tehnologija sušenja z razprševanjem in tehnologija iztiskanja talin. Manj razširjen pristop je izdelava ATD z razprševanjem na trdni nosilec v vrtinčnoslojnem granulatorju. Ta pristop je za farmacevtsko industrijo posebno privlačen, saj temelji na opremi, ki je že v proizvodnih obratih. Izdelava ATD je tako mogoča brez večjih investicij v novo tehnološko opremo.

V raziskavi smo amlodipinijev maleat (AM) vgradili v ATD, v kateri je bil polivinilpirolidon (PVP) polimerni nosilec, mikrokristalna celuloza (MCC) pa trdni nosilec. Raztopino AM in PVP smo med granuliranjem v vrtinčnoslojnem granulatorju razpršili na MCC (slika 1). Klasično vodenje tega procesa temelji na spremljanju procesnih parametrov, ki neposredno ne odražajo kritičnih atributov kakovosti granulata. Zato smo se v raziskovalnem delu osredotočili na razvoj in vrednotenje metod procesno analizne tehnologije (PAT) na osnovi ramanske in bližnje infrardeče (NIR) spektroskopije za določanje dveh kritičnih atributov kakovosti ATD – koncentracije AM in koncentracije kristalinične oblike AM. Za spremljanje procesa smo uporabili ramansko sondo za *at-line* meritve in tri NIR-sonde za *in-line*, *at-line* in *off-line* meritve.

Za uspešno tvorbo ATD z vrtinčnoslojnim granuliranjem je ključno popolno raztapljanje zdravilne učinkovine in polimera v ustreznem topilu pri optimalni temperaturi ter razprševanje tako pripravljene raztopine na trdni nosilec. Med razprševanjem lahko pride do različnih zapletov, ki vplivajo na vsebnost učinkovine v formulaciji. Primer je selektivna izguba trdnega nosilca skozi distribucijsko ploščo ali filtre, kar relativno poveča vsebnost zdravilne učinkovine. Poleg tega lahko pride do razprševanja po stenah procesne komore ali do sušenja kapljic, še preden dosežejo trdni nosilec, zaradi česar se skozi filtre procesne komore izgubijo majhni delci ATD. To vodi v manjšo vsebnost zdravilne učinkovine. Zato je pri klasičnem vodenju procesa, pri katerem razpršujemo vnaprej določeno količino granulirne tekočine, doseganje ciljne vsebnosti lahko izziv.

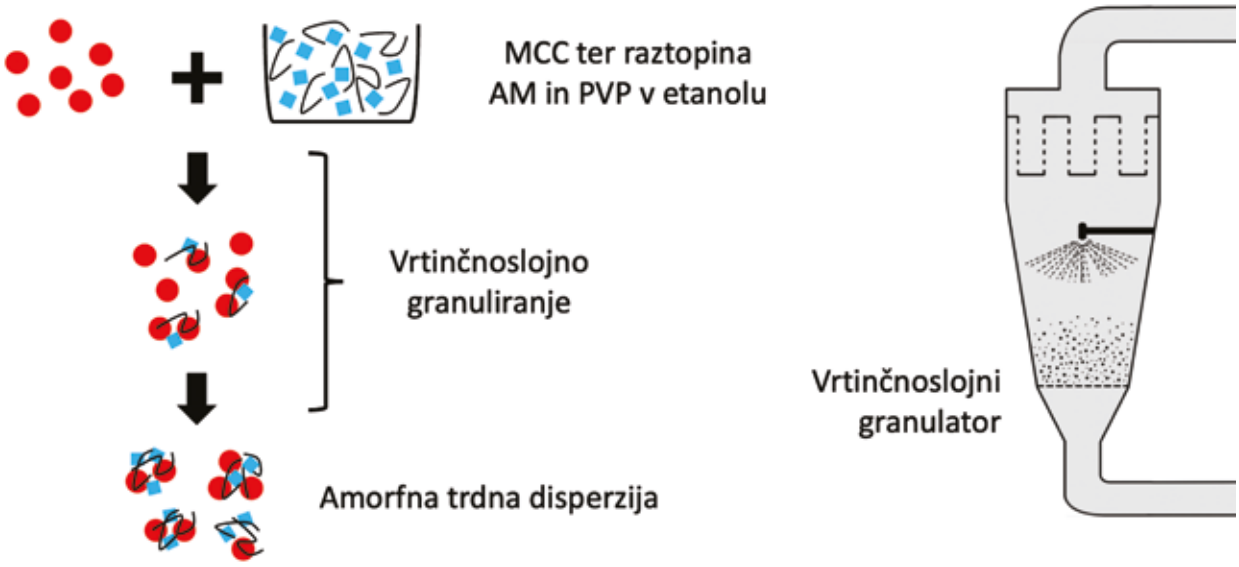
V prvem delu raziskave smo na podlagi ramanskih in NIR-meritev razvili napovedne modele za določanje koncentracije AM v granulatu med granuliranjem. Modeli so temeljili na metodi delnih najmanjših kvadratov (PLS). Z analizo regresijskih uteži smo pokazali, da napovedi temeljijo na spektralnih pasovih, značilnih za AM, kar potrjuje specifičnost metod. Ustreznost modelov smo ovrednotili s statističnimi kazalniki. Ramanski model smo uspešno uporabili za določitev končne točke razprševanja med granuliranjem, in sicer ob doseženi ciljni vsebnosti AM.

Kljub prednostim, ki jih ATD prinašajo z izboljšanjem topnosti in hitrosti raztapljanja zdravilnih učinkovin, lahko njihova termodinamska nestabilnost vodi v kristalizacijo zdravilne učinkovine. Že posamezni kristalni delci lahko sprožijo nadaljnjo kristalizacijo, zato je pri izdelavi ATD pomembno, da v formulacijo

ne vnesemo zdravilne učinkovine v kristalinični obliki. V drugem delu raziskave smo na podlagi ramanskih in NIR-meritev razvili napovedne modele za določanje koncentracije kristalinične oblike AM v granulatu. Po naših merilih sta ustrezno napovedno zmogljivost pokazala *at-line* ramanski in *off-line* NIR-model. Najnižjo mejo detekcije (2,8 %) smo dosegli z *off-line* NIR-modelom.

V tretjem delu raziskave smo se osredotočili na zaznavanje kristalinične oblike AM v ATD med shranjevanjem. Za razvoj napovednih modelov smo uporabili meritve *at-line* ramanske sonde in *off--line* NIR-sonde. V stabilnostno študijo smo vključili vzorce ATD z različnimi začetnimi koncentracijami kristalinične oblike AM. Z razvitimi modeli smo lahko kvalitativno spremljali kristalizacijske trende, za natančno kvantitativno napovedovanje koncentracije kristalinične oblike pa niso bili dovolj zanesljivi.

Z raziskavo smo pokazali, da sta ramanska in NIR-spektroskopija kot PAT-orodji uporabni na več stopnjah izdelave ATD z vrtinčnoslojnim granuliranjem. Z razvitimi modeli smo med granuliranjem določali koncentracijo AM in tako proces zaključili ob doseženi ciljni vsebnosti AM. Poleg tega smo razvili modele za kvantifikacijo kristalinične oblike AM v granulatu po koncu granuliranja ter kvalitativno spremljali kristalizacijske trende med shranjevanjem. S tem smo potrdili, da lahko vodenje vrtinčnoslojnega granuliranja nadgradimo z neposrednim spremljanjem kritičnih atributov kakovosti ATD, pri čemer od granuliranja do shranjevanja uporabimo enak PAT-pristop.



Slika 1. Izdelava ATD s tehnologijo vrtinčnoslojnega granuliranja.

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

Assessment of Process Analytical Technology Tool Applicability in Manufacturing Amorphous Solid Dispersion Using Fluidised Bed Granulation

Among newly registered medicines, amorphous solid dispersions (ASDs) are the most frequently used approach for improving the solubility of poorly soluble active pharmaceutical ingredients (APIs). In ASDs, the API is incorporated in amorphous form into a polymeric carrier. Upon contact with an aqueous medium, the polymeric carrier dissolves and the API is released as individual molecules or amorphous particles. This generates a supersaturated solution in which the API concentration exceeds the equilibrium solubility of the crystalline form. At the same time, the dissolved polymer inhibits nucleation and crystal growth and maintains the supersaturated state long enough for the API to be absorbed.

According to literature, spray drying and hot-melt extrusion are the most common technologies used for manufacturing ASDs on an industrial scale. A less widespread approach is the manufacture of ASDs by spraying onto a solid carrier in a fluidised bed granulator. This approach is particularly attractive for the pharmaceutical industry, as it relies on equipment that is already well established in production facilities. It thus enables existing facilities to manufacture ASDs without major investment in new technological equipment.

In this study, we incorporated amlodipine maleate (AM) into an ASD in which polyvinylpyrrolidone (PVP) served as the polymeric carrier and microcrystalline cellulose (MCC) as the solid carrier. During granulation in a fluidised bed granulator, we sprayed the AM and PVP solution onto the MCC (Figure 1). Conventional control of this process relies on monitoring process parameters that do not directly reflect the critical quality attributes of the granulate. We therefore focused our research on the development and evaluation of process analytical technology (PAT) methods based on Raman and near-infrared (NIR) spectroscopy for determining two critical quality attributes of the ASD – the AM concentration and the concentration of crystalline AM. To monitor the process, we used a Raman probe for at-line measurements and three NIR probes for in-line, at-line and off-line measurements.

Successful formation of an ASD by fluidised bed granulation requires complete dissolution of the API and the polymer in a suitable solvent at an optimal temperature, followed by spraying the resulting solution onto a solid carrier. During spraying, various complications may arise that affect the API content of the formulation. One example is the selective loss of the solid carrier through the distribution plate or filters, which increases the API content. In addition, the solution may be sprayed onto the walls of the process chamber or the droplets may dry before reaching the solid carrier, with subsequent loss of small ASD particles through the process chamber filters. This leads to a lower API content. With conventional process control, in which a predetermined amount of granulation liquid is sprayed, achieving the target content can therefore be challenging.

In the first part of the study, we developed partial least squares (PLS) prediction models based on Raman and NIR measurements to determine the AM concentration in the granulate during granulation. By analysing the regression coefficients, we showed that the predictions were based on spectral bands characteristic of AM, which confirms the specificity of the methods. We evaluated the performance of the models using statistical indicators. We successfully applied the Raman model to determine the spraying end point during granulation, i.e. when the target AM content was reached.

Despite the advantages that ASDs offer in terms of improved solubility and dissolution rate of APIs, their thermodynamic instability can lead to crystallisation of the API. As even individual crystalline particles can

trigger further crystallisation, it is important not to introduce crystalline API into the formulation during ASD manufacture. In the second part of the study, we developed prediction models based on Raman and NIR measurements to determine the concentration of crystalline AM in the granulate. According to our criteria, the at-line Raman model and the off-line NIR model showed adequate predictive performance. We achieved the lowest limit of detection (2.8%) with the off-line NIR model.

In the third part of the study, we focused on detecting crystalline AM in the ASD during storage. To develop the prediction models, we used measurements from the at-line Raman probe and the off-line NIR probe. The stability study included ASD samples with different initial concentrations of crystalline AM. The developed models enabled us to monitor crystallisation trends qualitatively, but they were not sufficiently reliable for an accurate quantitative prediction of the crystalline form concentration.

With this study, we demonstrated that Raman and NIR spectroscopy are useful PAT tools at several stages of ASD manufacture by fluidised bed granulation. Using the developed models, we determined the AM concentration during granulation and thus terminated the process once the target AM content was reached. Furthermore, we developed models for quantifying crystalline AM in the granulate after granulation and qualitatively monitored crystallisation trends during storage. We thereby confirmed that the control of fluidised bed granulation can be enhanced by direct monitoring of the ASD's critical quality attributes, using the same PAT approach from granulation through to storage.

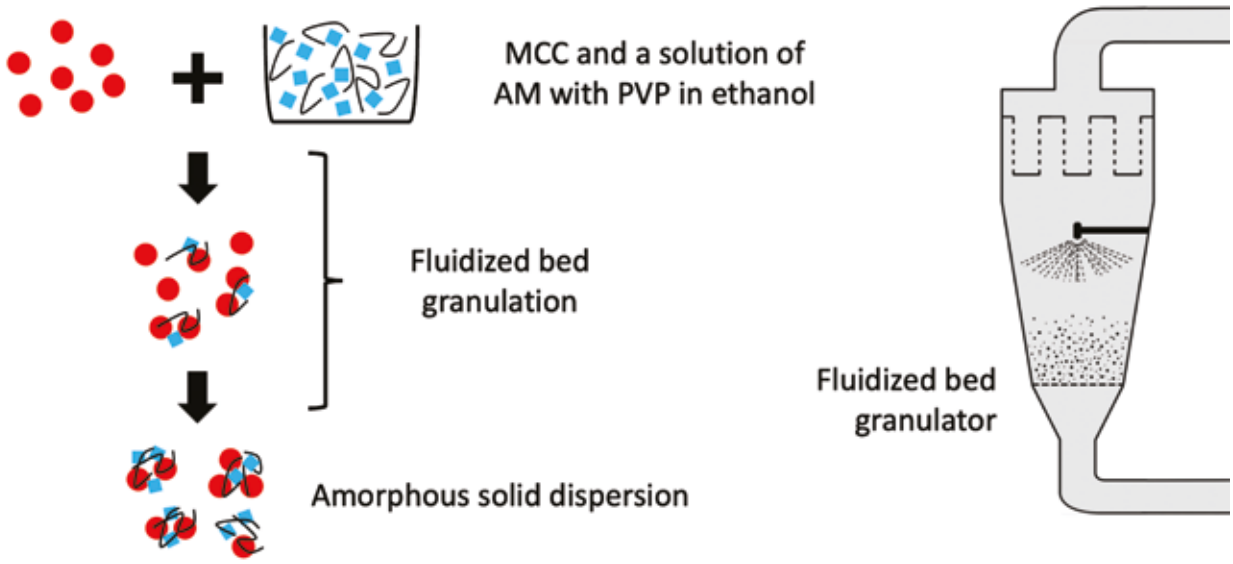
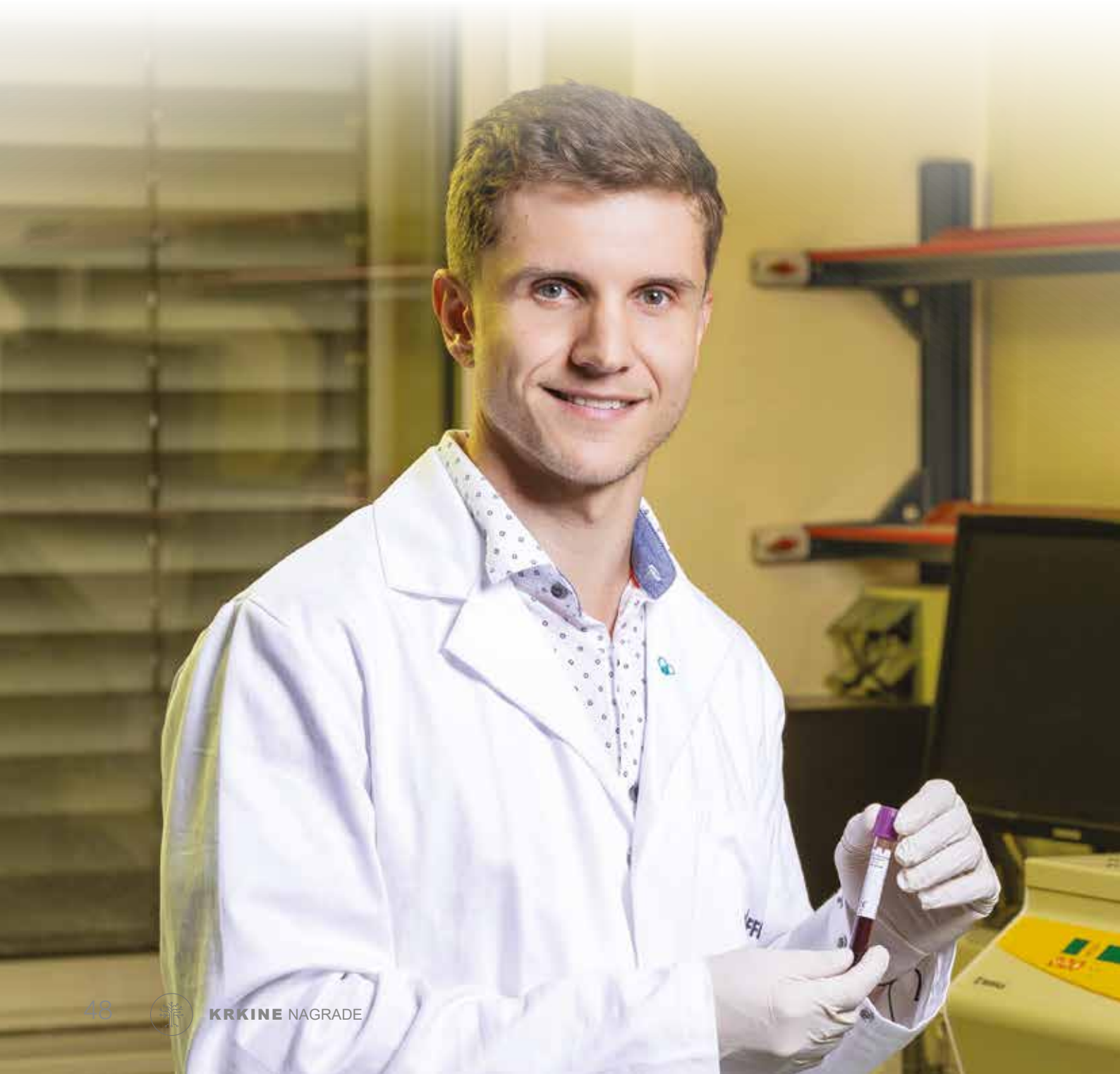


Figure 1. Manufacture of an ASD by fluidised bed granulation.

DR. ARMANDO TRATENŠEK

Že kot otroka so ga najbolj privlačile naravoslovne vede. Med odraščanjem v Rogaški Slatini je vzljubil matematiko, kasneje pa tudi kemijo, ki je pomembno zaznamovala njegovo nadaljnjo izobraževalno pot. Po končani gimnaziji se je vpisal na Fakulteto za farmacijo Univerze v Ljubljani, kjer je združil zanimanje za kemijo, medicino in matematiko. Po koncu študija je raziskovalno pot nadaljeval na Univerzi v Mariboru, danes pa kot raziskovalec in asistent deluje na Katedri za biofarmacijo in farmakokinetiko Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani, kjer se posveča predvsem farmakometriji.



Podatki dobijo pravi pomen takrat, ko pomagajo bolniku

FARMAKOMETRIJA ZA BOLJŠE ZDRAVLJENJE

Moje raziskovalno področje je farmakometrija, predvsem populacijsko farmakokinetično-farmakodinamično modeliranje za optimizacijo in individualizacijo zdravljenja. V sodelovanju s Kliničnim oddelkom za gastroenterologijo Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana raziskujem vlogo oksidativnega stresa pri kronični vnetni črevesni bolezni in možnosti natančnega odmerjanja ustekinumaba pri zdravljenju ulceroznega kolitisa. S farmakometrijo sem se prvič resneje spoznal med Erasmusovo izmenjavo v Londonu, kjer sem se pridružil raziskovalni skupini prof. dr. Oscarja Delle Pasque, enega vodilnih svetovnih strokovnjakov za farmakometrijo in klinično farmakologijo. Področje me je hitro navdušilo, saj lahko analiza kliničnih podatkov neposredno prispeva k boljšemu zdravljenju bolnikov.

BOLJŠE RAZUMEVANJE BOLEZNI, BOLJŠI IZIDI ZDRAVLJENJA

Osnovno sporočilo moje raziskave je, da lahko z boljšim razumevanjem bolezni in bolniku prilagojenim zdravljenjem izboljšamo izide zdravljenja pri kronični vnetni črevesni bolezni. Dokazali smo povezavo med kazalniki oksidativnega stresa in aktivnostjo bolezni ter pokazali, da je večja zgodnja izpostavljenost ustekinumabu povezana z remisijo in boljšo kakovostjo življenja bolnikov. Razvili smo tudi populacijski farmakokinetično-farmakodinamični model, ki povezuje značilnosti bolnikov, izpostavljenost zdravilu in odziv na zdravljenje. Ugotovitve pomembno prispevajo k razumevanju bolezni in imajo velik potencial za prenos v klinično prakso.

NAVDIHUJEJO ME BOLNIKI

Največji navdih pri raziskovalnem delu mi pomenijo bolniki. Med doktorskim študijem sem veliko časa preživel na Kliničnem oddelku za gastroenterologijo Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana, kjer sem spoznal številne ljudi s kronično vnetno črevesno boleznijo. Njihove zgodbe so mi pokazale, kako močno lahko bolezen vpliva na vsakodnevno življenje. Posebno me navdušuje njihova pripravljenost sodelovati v raziskavah in prispevati k napredku znanosti tudi takrat, ko jim rezultati ne bodo neposredno koristili. Prav to zaupanje v znanost je ena mojih največjih motivacij.

PRAVI MENTOR JE NEPRECENLJIV

Izbira mentorja je po mojem mnenju vsaj tako pomembna kot izbira raziskovalne teme. Raziskovalna pot je polna izzivov, zato je pomembno imeti ob sebi nekoga, ki zna usmerjati, predajati znanje in ohranjati zaupanje v uspeh. Mentor prof. dr. Tomaž Vovk in somentor izr. prof. dr. David Drobne sta pomembno zaznamovala mojo raziskovalno pot. Prav preplet akademskega in kliničnega okolja je bil ena najdragocenejših izkušenj mojega doktorskega študija.

POMEMBNO JE RAVNOVESJE

Živim in delam v Ljubljani. Prosti čas namenjam plezanju, alpinizmu in petju v pevskem zboru, kar mi pomaga skrbeti za telesno in duševno zdravje. Ravnovesje med raziskovalnim delom in zasebnim življenjem se mi zdi zelo pomembno, zato se ga trudim ohranjati.

ZNANJE ŽELIM PRENAŠATI V PRAKSO

V prihodnje želim nadaljevati delo na področju farmakometrije ter še naprej povezovati akademsko in klinično okolje. Posebno me zanimata razvoj modelno podprtega natančnega odmerjanja zdravil in njegova uporaba v vsakodnevni klinični praksi, kjer vidim velik potencial za izboljšanje zdravljenja bolnikov. Veselilo bi me tudi sodelovanje pri industrijskih projektih, kjer bi lahko svoje znanje uporabil pri razvoju novih zdravil.

RAD DO KONCA RAZUMEM STVARI

Če bi moral izpostaviti eno osebnostno lastnost, bi bila to vztrajnost. Ko me neka tema pritegne, želim razumeti vse podrobnosti in nalogo kar najbolje opraviti. Raziskovalno delo je zame maraton, ne sprint. Rezultati redko pridejo čez noč, zato sta vztrajnost in doslednost pomembnejši od trenutnega navdiha.

KRKINA NAGRADA JE POMEMBNO PRIZNANJE

Krkine nagrade že desetletja spodbujajo raziskovalno odličnost v Sloveniji. Za prijavo sem se odločil, ker verjamem, da lahko raziskave na področju oksidativnega stresa in farmakometrije pomembno prispevajo k optimizaciji in individualizaciji zdravljenja bolnikov. Nagrado razumem kot pomembno potrditev kakovosti opravljenega dela in priznanje raziskavam, ki povezujejo akademsko znanje, klinično prakso in korist za bolnike.

BODITE POGUMNI IN VZTRAJNI

Uspeh ne pride čez noč, neuspeh pa človeka ne definira. Raziskovalna pot je polna izzivov in dvomov, vendar prav vztrajnost in pripravljenost učiti se iz napak pogosto vodita do največjih dosežkov. *Per aspera ad astra.*

NAJBOLJŠI NASVET

Manj se obremenjuj.

ŽIVLJENJSKO VODILO

Vrh je šele polovica poti.

Armando Tratenšek, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Tomaž Vovk, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: David Drobne, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Univerzitetni klinični center Ljubljana

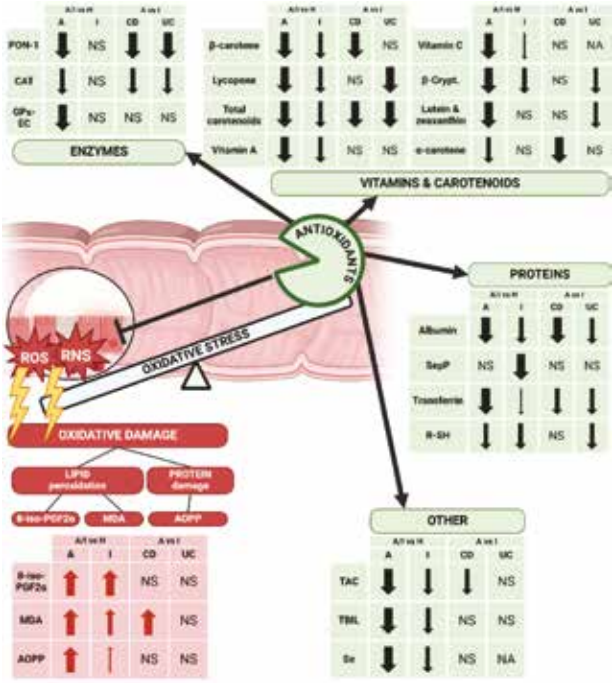
Razvoj in uporaba farmakometričnega modela ustekinumaba ter vrednotenje kazalnikov oksidativnega stresa pri bolnikih s kronično vnetno črevesno boleznijo

Kronična vnetna črevesna bolezen (KVČB), v katero uvrščamo Crohnovo bolezen (CD) in ulcerozni kolitis (UK), je dolgotrajno vnetje prebavil z izmeničnimi obdobji zagonov bolezni in remisij. Etiopatogeneza bolezni še ni povsem razjasnjena. Pomembno vlogo naj bi imeli genetski, imunološki in okoljski dejavniki, novejše raziskave pa vse večji pomen pripisujejo tudi oksidativnemu stresu. Kljub napredku na področju diagnostike in zdravljenja bolezen še vedno ni pravočasno diagnosticirana ter ustrezno nadzorovana in zdravljena, kar lahko vodi v trajne okvare organov in resne zaplete osnovne bolezni. Zlati standard za oceno aktivnosti bolezni ostajajo endoskopske in histološke preiskave, vendar so drage, zaradi invazivnosti pa tudi manj primerne za pogosto spremljanje bolnikov. Z rutinsko uporabo manj invazivnih laboratorijskih kazalnikov, ki zanesljivo kažejo stopnjo vnetja, bi lahko hitreje zaznali zagone bolezni in ustrezno prilagodili farmakoterapijo. V okviru doktorske disertacije smo želeli ovrednotiti uporabnost sistemskih kazalnikov oksidativnega stresa pri oceni aktivnosti KVČB ter razviti in uporabiti farmakometrični model za optimizacijo in individualizacijo zdravljenja z ustekinumabom.

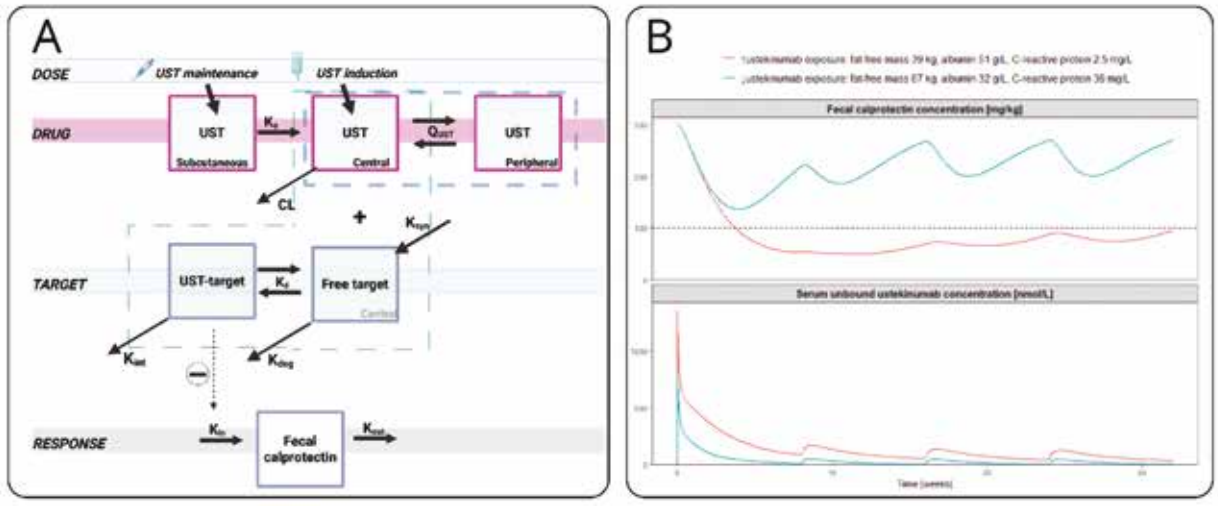
Prvi smo izvedli metaanalizo vseh v literaturi dostopnih kazalnikov oksidativnega stresa pri KVČB ter pokazali, da se vrednosti kazalnikov pri aktivni bolezni in v remisiji pomembno razlikujejo od vrednosti pri zdravih posameznikih, kar nakazuje vključenost oksidativnega stresa v patogenezo. Pri bolnikih se kazalniki oksidativnih poškodb lipidov (malondialdehid, izoprostani) in proteinov (napredni oksidirani proteinski produkti) kopičijo, medtem ko se aktivnost encimskih in neencimskih antioksidantov zmanjšuje (slika 1). Te spremembe so bile izrazitejše pri aktivni bolezni kot v remisiji, kar je temelj za uporabo kazalnikov oksidativnega stresa kot nadomestnih kazalnikov aktivnosti KVČB. Nadalje smo v klinični študiji za najperspektivnejše kazalnike preverili njihovo sposobnost ločevanja med bolniki v aktivni fazi bolezni in tistimi v remisiji glede na klinična, biokemična in endoskopska merila. Ugotovili smo, da lahko s sistemskimi kazalniki oksidativnega stresa učinkovito zaznamo vnetje, ki se biokemično odraža tudi v krvnem obtoku, vendar pa niso dovolj občutljivi za prepoznavanje lokaliziranega vnetja v črevesju. Bolniki, ki biokemične remisije niso dosegli, so imeli značilno povečan oksidativni stres že ob uvedbi biološke terapije. Kazalniki oksidativnega stresa nam tako poleg vpogleda v trenutno aktivnost bolezni omogočajo tudi prepoznavo bolnikov z večjim tveganjem za neuspeh zdravljenja.

Ustekinumab je monoklonsko protitelo, indicirano za indukcijo in vzdrževanje remisije pri zmerno do hudo aktivnem ulceroznem kolitisu, vendar pri standardnem odmerjanju pomemben delež bolnikov ne doseže remisije. Razumevanje bolnikovih značilnosti in njihovega vpliva na izpostavljenost ustekinumabu je ključno pri optimizaciji in individualizaciji odmerjanja. V okviru klinične raziskave smo prvi pokazali, da večja izpostavljenost ustekinumabu v začetnem obdobju zdravljenja vodi do boljših kliničnih, biokemičnih in endoskopskih izidov, hkrati pa je povezana z boljšo kakovostjo življenja bolnikov z UK. Z razvojem novega populacijskega farmakokinetično-farmakodinamičnega modela smo želeli preseči omejitve klasičnega terapevtskega spremljanja koncentracij ter tako identificirati in kvantificirati bolnikove demografske, klinične in farmakogenetske značilnosti, ki vplivajo na farmakokinetiko in farmakodinamiko ustekinumaba. Farmakokinetiko je najbolje opisal dvoprostorski model tarčno pogojene farmakokinetike z aproksimacijo ravnotežnega stanja vezave, povezavo med farmakokinetiko ustekinumaba in časovnim

potekom fekalnega kalprotektina pa model posrednega odgovora (slika 2A). Ugotovili smo, da so večja telesna masa brez maščob, nižje vrednosti serumskega albumina in višje vrednosti C-reaktivnega proteina povezane z manjšo izpostavljenostjo ustekinumabu (slika 2B). Bolniki s temi značilnostmi imajo tako manjšo verjetnost za odziv na zdravljenje in so kandidati za intenzivnejše odmerjanje. Razviti model nam omogoča tudi napovedovanje vrednosti kalprotektina v blatu, ta pa je merilo biokemične aktivnosti bolezni. Naše ugotovitve podpirajo zgodnje terapevtsko spremljanje koncentracij in z modelom podprto natančno odmerjanje kot del proaktivne optimizacije odmerjanja ustekinumaba. Tako lahko povečamo delež bolnikov, ki dosežejo remisijo, in izboljšamo njihovo kakovost življenja.



Slika 1. Pregled kazalnikov oksidativnega stresa pri bolnikih s KVČB. Pomembna znižanja (↓), zvišanja (↑), neznačilne spremembe (NS) in pomanjkljivi podatki (NA) so prikazani za CD in UC ter primerjani med aktivno boleznijo (A), neaktivno boleznijo (I) in zdravimi kontrolami (H). Širina puščice odraža velikost učinka.



Slika 2. Shematski prikaz razvitega populacijskega farmakokinetično-farmakodinamičnega modela ustekinumaba (A) ter simuliran časovni potek plazemskih koncentracij ustekinumaba in fekalnega kalprotektina pri bolniku z ugodnimi in neugodnimi značilnostmi (B).

Raziskava pomembno prispeva k razumevanju kompleksnosti KVČB ter odpira nove možnosti za natančnejše spremljanje aktivnosti bolezni ter učinkovitejše, varnejše in bolniku bolj prilagojeno zdravljenje z ustekinumabom.

Armando Tratenšek, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: Tomaž Vovk, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: David Drobne, Faculty of Medicine, University of Ljubljana, University Medical Centre Ljubljana

Development and Application of Pharmacometric Model of Ustekinumab and Assessment of Oxidative Stress Markers in Patients with Inflammatory Bowel Disease

Inflammatory bowel disease (IBD), encompassing Crohn's disease and ulcerative colitis (UC), is a chronic inflammatory disorder of the gastrointestinal tract characterised by alternating periods of disease flares and remission. Its etiopathogenesis remains incompletely understood, although genetic, immunological, and environmental factors are known contributors, and increasing evidence supports a role of oxidative stress. Despite advances in diagnosis and treatment, an objective assessment of disease activity remains challenging. Endoscopic and histological examinations are the gold standard for disease monitoring but are invasive and therefore not well suited for frequent follow-up. Less invasive laboratory biomarkers that accurately reflect inflammation could enable earlier detection of disease flares and more timely treatment adjustment. The aim of this doctoral dissertation was to evaluate the utility of systemic oxidative stress-related biomarkers for assessing disease activity and to develop a pharmacometric model to support the optimisation and individualisation of ustekinumab treatment.

We were the first to perform a meta-analysis of all oxidative stress-related biomarkers investigated in IBD. We demonstrated that biomarkers of oxidative damage to lipids and proteins accumulate in patients with IBD, whereas enzymatic and non-enzymatic antioxidant defences are reduced (Figure 1). These alterations were more pronounced in active disease than in remission, supporting the use of oxidative stress-related biomarkers as surrogate markers of disease activity. In a subsequent clinical study, we evaluated the most promising biomarkers for their ability to distinguish active disease from remission according to clinical, biochemical, and endoscopic criteria. Systemic oxidative stress-related biomarkers effectively reflected the inflammation present in the systemic circulation but were unable to detect localised intestinal inflammation. Patients who failed to achieve biochemical remission already exhibited a significantly elevated oxidative stress at the initiation of biological therapy. These findings suggest that oxidative stress-related biomarkers provide insight into current disease activity status and may help identify patients at an increased risk of treatment failure.

Ustekinumab is a monoclonal antibody indicated for the induction and maintenance of remission in moderately to severely active UC, yet a substantial proportion of patients do not achieve remission under standard dosing regimens. Understanding patient characteristics that influence ustekinumab exposure is therefore essential for treatment optimisation. In a prospective clinical study, we were the first to demonstrate that greater early ustekinumab exposure is associated with improved clinical, biochemical, and endoscopic outcomes, as well as better quality of life. To support individualised treatment, we developed a population pharmacokinetic-pharmacodynamic model linking ustekinumab exposure, patient characteristics, and faecal calprotectin dynamics. Ustekinumab pharmacokinetics was best described by a two-compartment target-mediated drug disposition model, while the relationship between drug exposure and faecal calprotectin was characterised using an indirect-response model (Figure 2A). Higher fat-free mass, lower serum albumin concentrations, and higher C-reactive protein levels were associated with lower ustekinumab exposure and a reduced likelihood of treatment response (Figure 2B). The model also enables prediction of faecal calprotectin concentrations, an established marker of biochemical disease activity. Our findings support early therapeutic drug monitoring and model-informed precision dosing as part of a proactive strategy for ustekinumab treatment optimisation. By enabling timely dose adjustment, this approach may increase remission rates and improve patients' quality of life.

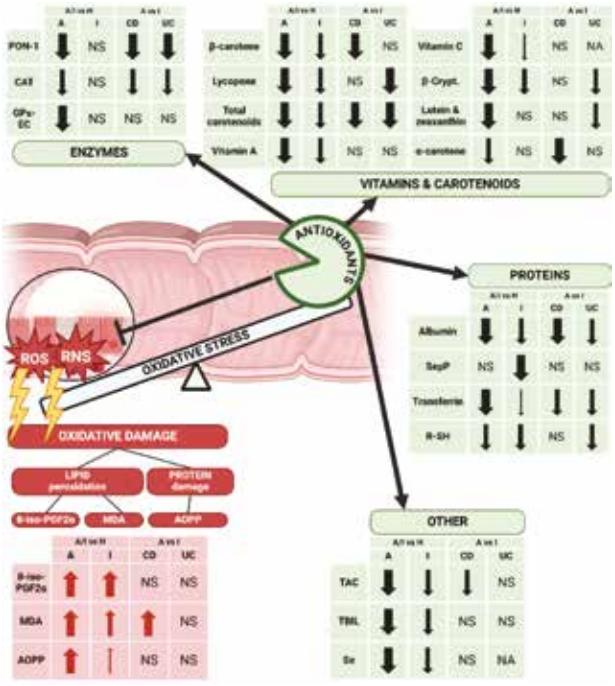


Figure 1. Overview of oxidative stress-related biomarkers in patients with inflammatory bowel disease (IBD). Significant decreases (↓), increases (↑), non-significant changes (NS), and insufficient data (NA) are shown for both Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC) in comparisons between active disease (A), inactive disease (I), and healthy controls (H). Arrow width reflects the magnitude of the effect size.

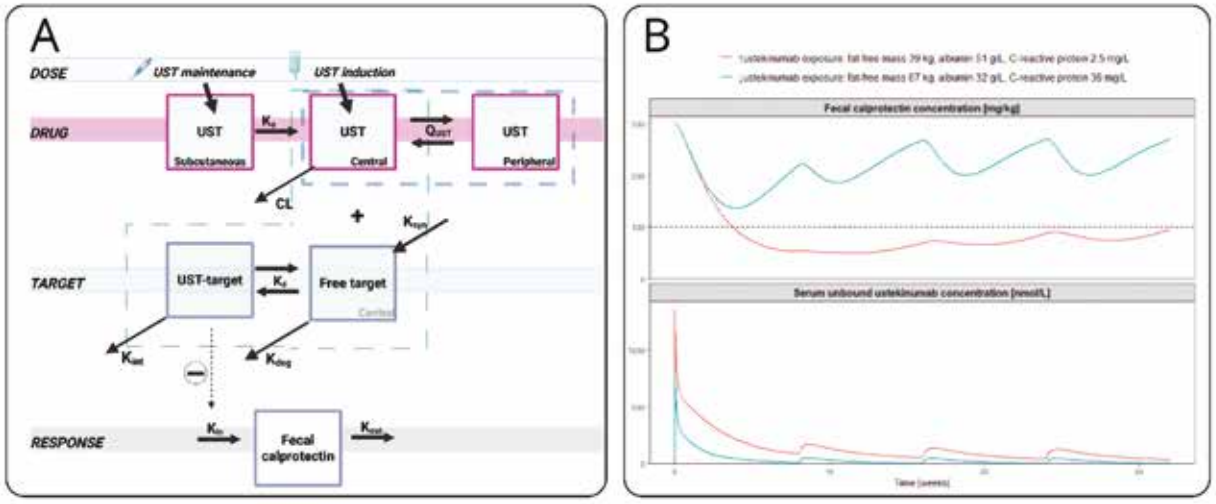


Figure 2. (A) Schematic representation of the developed population pharmacokinetic–pharmacodynamic model for ustekinumab. (B) Simulated time courses of plasma ustekinumab concentrations and faecal calprotectin levels in patients with favourable and unfavourable characteristics.

This research contributes to a better understanding of the complexity of IBD and opens new opportunities for more accurate disease monitoring and more effective, safer, and individualised ustekinumab therapy.

DR. MERCEDES VITEK

Novomeščanka po rodu pravi, da je imela že v otroštvu in mladosti zelo rada naravo in živali. Na Gimnaziji Novo mesto, ki jo je končala kot zlata maturantka, sta ji bili najbolj pri srcu kemija in biologija – še posebno teme, povezane z delovanjem človeškega telesa. Svojo raziskovalno žilico je nadgrajevala na enovitem magistrskem študiju farmacije na Fakulteti za farmacijo Univerze v Ljubljani, raziskovalni del zaključne magistrske naloge pa je opravila na Inštitutu za farmacijo Univerze v Bonnu. Po študiju se je kot asistentka zaposlila na Katedri za farmacevtsko tehnologijo na ljubljanski Fakulteti za farmacijo, se vpisala na doktorski študij Biomedicina, smer Farmacija, in ga tudi uspešno končala. Danes svoj znanstveni potencial še naprej usmerja v raziskovalno in pedagoško delo na fakulteti.



Izzive je najbolje reševati korak za korakom

FARMACEVTSKA TEHNOLOGIJA ME NAVDUŠUJE

Moje osnovno raziskovalno področje je farmacevtska tehnologija. Ukvarjam se z razvojem naprednih formulacij, predvsem na osnovi liotropnih tekočih kristalov, za dermalno in subkutano aplikacijo zdravilnih učinkovin. Za farmacevtsko tehnologijo sta me prvi navdušili izr. prof. dr. Mirjam Gosenca Matjaž in asist. dr. Tanja Potrč, ki sta bili moji asistentki na vajah pri predmetu Farmacevtska tehnologija I. Kasnejše raziskovalno delo pri magistrski nalogi je to usmeritev še dodatno utrdilo. Pritegnilo me je predvsem to, da sta razumevanje lastnosti zdravilnih učinkovin in pomožnih snovi ter premišljeno načrtovanje formulacije ključna za razvoj kakovostnih, varnih in učinkovitih zdravil.

PRISPEVEK K ZDRAVLJENJU ATOPIJSKEGA DERMATITISA

Najpomembnejši prispevek svojega dela vidim v razvoju inovativnih formulacij z načrtno razvitimi lastnostmi za zdravljenje atopijskega dermatitisa. Razvili smo formulacije za dermalno uporabo, ki poleg dostave protivnetne zdravilne učinkovine vlažijo kožo in podpirajo obnovo kožne bariere ter tako omogočajo večtarčni pristop k zdravljenju. Vzporedno smo razvili tudi formulacije za subkutano uporabo, ki po injiciranju v podkožje tvorijo depo za podaljšano sproščanje biološke učinkovine, s čimer omogočajo manj pogosto aplikacijo zdravila. S svojim raziskovalnim delom tako prispevamo k razvoju naprednih terapevtskih rešitev.

REZULTATE POVEZUJEM V ŠIRŠO ZGODBO

Pri raziskovalnem delu me najbolj navdihujeta želja po novem znanju in dober občutek, ko nekaj, kar je bilo sprva nejasno ali zapleteno, postopoma začne dobivati smisel. Všeč mi je iskanje rešitev in povezovanje rezultatov v širšo zgodbo. Posebno me motivira možnost, da lahko raziskovalno delo prispeva k izboljšanju zdravljenja in kakovosti življenja bolnikov. Najboljše ideje so pogosto rezultat prepleta dela v laboratoriju, prebrane literature in pogovorov s sodelavci. Včasih pa se rešitev pojavi šele takrat, ko se od problema nekoliko odmaknem in nanj pogledam z drugega zornega kota.

MENTORSTVO Z ZAUPANJEM IN PODPORO

Pri raziskovalnem delu je vloga mentorja zelo pomembna. Hvaležna sem, da sta me mentorica izr. prof. dr. Mirjam Gosenca Matjaž in somentorica prof. dr. Alenka Zvonar Pobirk znali usmeriti, ko sem to potrebovala, hkrati pa sta mi omogočili dovolj svobode za razvoj lastnih idej. Zelo cenim njuno zaupanje v moje sposobnosti in delo. Njuna podpora je bila še posebno dragocena v posameznih trenutkih, ko rezultati niso bili takšni, kot smo pričakovali, in je bilo treba premisliti, kako naprej.

OSREČUJEJO ME PREPROSTE STVARI

Verjamem, da izpolnjeno zasebno življenje pozitivno vpliva tudi na profesionalno delo. Hvaležna sem partnerju in družini za podporo, predvsem v intenzivnejših obdobjih doktorskega študija. V prostem času me navdušujejo potovanja in spoznavanje novih kultur, okusov in pokrajin, hkrati pa mi veliko pomenijo preprosti trenutki z bližnjimi ter čas v naravi, na primer vzpon na kakšen bližnji hrib. Svojo kreativnost izražam z ustvarjanjem unikatnih voščilnic in peko raznovrstnih sladic.

CENIM DOBRE MEDSEBOJNE ODNOSE

Če izpostavim le nekaj svojih lastnosti, bi se opisala kot odgovorna, vztrajna in empatična oseba, ki ceni dobre medsebojne odnose. Pri delu sem natančna in analitična, hitro opazim podrobnosti, hkrati pa stvari poskušam razumeti tudi v širšem kontekstu.

ZAVEDAM SE ŠIRŠEGA POMENA KRKE

Krkine nagrade imajo v slovenskem prostoru pomembno vlogo pri spodbujanju mladih raziskovalcev. Posebno veljavo ima povezovanje akademskega okolja z gospodarstvom. Ker prihajam iz Novega mesta, se še bolj zavedam širšega pomena Krke za mesto, regijo in družbo. Prvo Krkino nagrado sem prejela že leta 2010 za srednješolsko raziskovalno nalogo, zato ima zame dejstvo, da sem se med nagrajence vrnila z doktorskim delom, poseben pomen. Velika Krkina nagrada, na katero sem zelo ponosna, je priznanje kakovosti za opravljeno raziskovalno delo in spodbuda za naprej.

POMEMBNO JE VZTRAJATI

Moje sporočilo novim generacijam raziskovalcev je, naj pri svojem delu ohranijo zanimanje in veselje, tudi ko ne gre vse po načrtih. Pomembno je vztrajati, ostati odprt za nove ideje in si dovoliti, da se pot do rešitve včasih pokaže drugače, kot smo sprva pričakovali.

NAJBOLJŠI NASVET

Izzive je najbolje reševati korak za korakom in pri tem presoditi, čemu je vredno namenjati svojo energijo.

ŽIVLJENJSKO VODILO

Bistvo je očem nevidno.

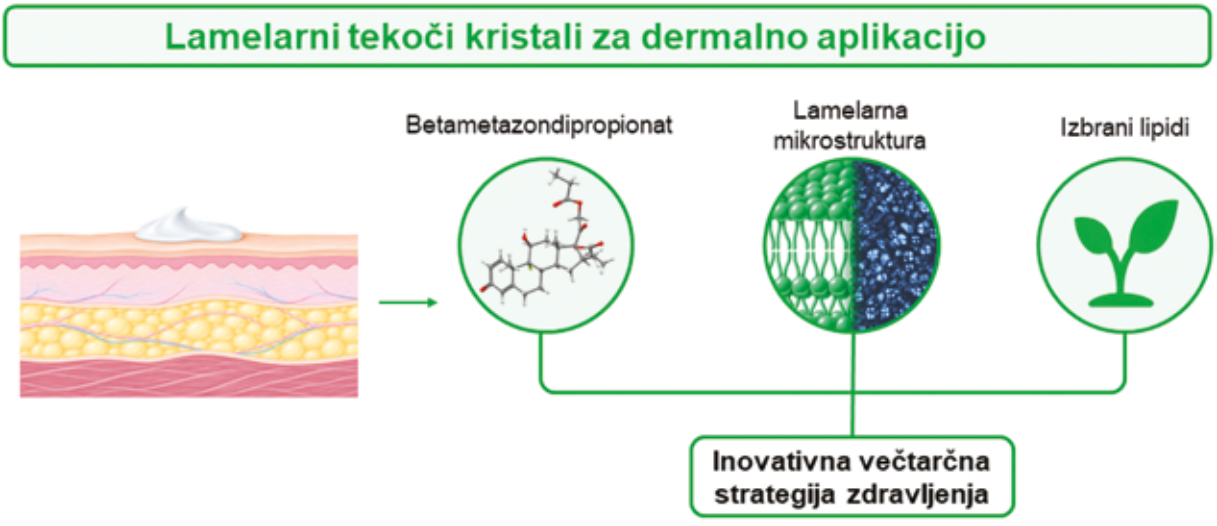
Antoine de Saint-Exupéry

Mercedes Vitek, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Mirjam Gosenca Matjaž, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentorica: Alenka Zvonar Pobirk, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Razvoj in vrednotenje inovativnih na lipidih osnovanih dostavnih sistemov za dermalno in subkutano terapijo atopijskega dermatitisa

Inovativni formulacijski pristopi na področju farmacevtske tehnologije, ki bolniku olajšajo zdravljenje, odpirajo nove možnosti za učinkovitejše obvladovanje kroničnih bolezni. V doktorski disertaciji smo obravnavali potencial inovativnih na lipidih osnovanih dostavnih sistemov na primeru atopijskega dermatitisa, najpogostejše kronične vnetne kožne bolezni v razvitem svetu. Njena kompleksna patofiziologija in omejitve sedanjega zdravljenja spodbujajo razvoj novih, izboljšanih terapevtskih rešitev. Pri tem imajo pomembno vlogo sodobne formulacije za dermalno aplikacijo klasičnih sinteznih zdravilnih učinkovin in za subkutano aplikacijo bioloških učinkovin. V okviru lipidnih dostavnih sistemov smo se osredotočili na liotropne tekoče kristale, ki so zaradi specifičnih strukturnih lastnosti obetavni sistemi za dermalno in subkutano aplikacijo.

Za dermalno aplikacijo sinteznih zdravilnih učinkovin smo razvili platformo na osnovi lamelarnih tekočih kristalov, ki temelji na inovativni večtarčni strategiji zdravljenja (slika 1). Takšen pristop k dermalni terapiji atopijskega dermatitisa doslej še ni bil predstavljen. Lamelarne tekoče kristale smo izbrali zaradi njihove strukturne podobnosti z medceličnimi lipidi v roženi plasti kože, zaradi česar so posebno primerni za dermalno uporabo. Sedaj dostopna zdravila za dermalno terapijo so večinoma na voljo v klasičnih farmacevtskih oblikah, kot so kreme, losjoni in mazila. Praviloma gre za enostavne strukture, ki imajo predvsem vlogo nosilnega sistema za aplikacijo zdravilne učinkovine. Novorazvite formulacije smo zato zasnovali kot funkcionalno nadgrajen dostavni sistem, v katerega smo vgradili betametazondipropionat, ki deluje protivnetno, dodatne učinke pa smo dosegli z biomimetično lamelarno mikrostrukturo in namensko izbrano lipidno sestavo, bogato z esencialnimi maščobnimi kislinami. Mikrostruktura omogoča dolgotrajno vlaženje kože, lipidi pa prispevajo k obnovi poškodovane kožne bariere. Takšno večtarčno delovanje je pomembno za prekinitev kroničnega cikla suhe in razdražene atopijske kože ter za celostno in vzročno obravnavo bolezni.

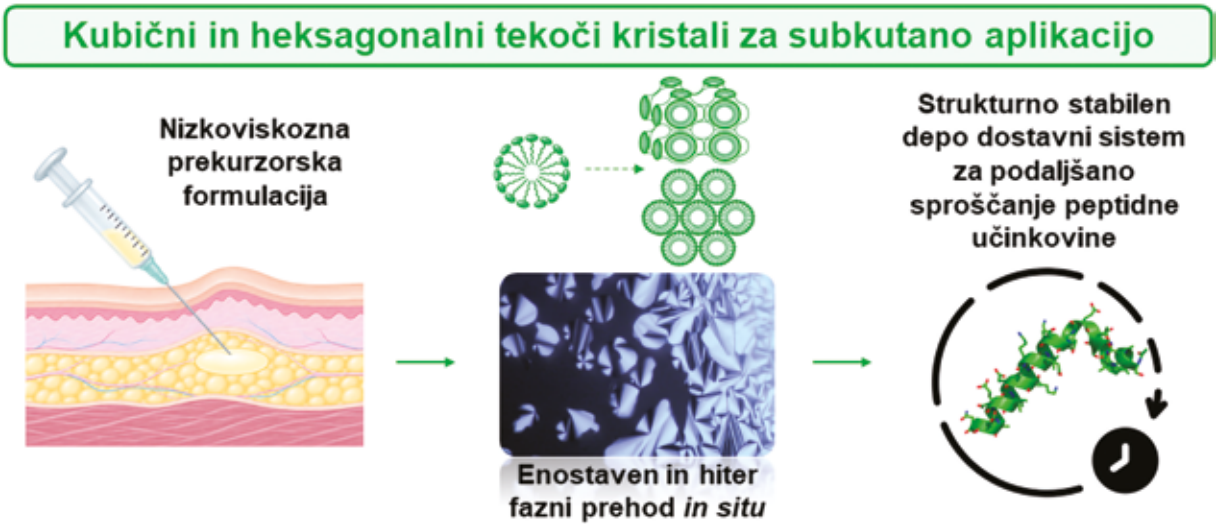


Slika 1. Shematski prikaz glavnih dosežkov v razvoju formulacij na osnovi lamelarnih tekočih kristalov.

Dokazali smo izboljšano dermalno absorpcijo vgrajenega betametazondipropionata glede na referenčno zdravilo, kar omogoča doseganje terapevtskega učinka z manjšim odmerkom in zmanjšuje tveganje za

neželene učinke, značilne za topikalne kortikosteroide. Kemijska stabilnost betametazondipropionata je bila primerljiva z referenčnim zdravilom. Z več komplementarnimi metodami smo dokazali tudi izjemno biokompatibilnost izbranih lamelarnih tekočih kristalov na humani celični liniji keratinocitov, brez opaznih morfoloških sprememb, z ohranjeno celično integriteto in spodbudnim regenerativnim potencialom. Razvite formulacije smo ovrednotili tudi v dvojno slepi enoskupinski intervencijski raziskavi na zdravih prostovoljcih. Po enkratni in 14-dnevni aplikaciji so izbrane formulacije izrazito zmanjšale transepidermalno izgubo vode in s tem potrdile učinkovito krepitev kožne bariere, obenem pa so zagotavljale ustrezno hidratacijo rožene plasti kože.

Vzporedno smo za subkutano aplikacijo bioloških učinkovin razvili platformo na osnovi kubičnih in heksagonalnih tekočih kristalov, ki po injiciranju v podkožje nastanejo *in situ* (slika 2). Zaradi velike strukturne urejenosti omogočajo podaljšano sproščanje zdravilnih učinkovin, zato so primerni kot depo dostavni sistemi. Med biološkimi učinkovinami so za takšne sisteme posebno relevantni terapevtski peptidi, saj zaradi kratkega razpolovnega časa in nizke intrinzične stabilnosti zahtevajo pogosto odmerjanje, ki ga je mogoče zmanjšati s podaljšanim sproščanjem. Kot modelno peptidno zdravilno učinkovino smo izbrali timozin alfa 1. Pri depo dostavnih sistemih, ki nastanejo *in situ*, je pomemben tehnološki izziv, kako zagotoviti ustrezne reološke lastnosti formulacije za injiciranje, saj je visoka viskoznost lahko povezana z bolečo aplikacijo, ter doseči zadostno strukturno stabilnost depoja po aplikaciji. V okviru doktorskega dela nam je uspelo razviti nove nizkoviskozne prekurzorske formulacije z optimalnimi reološkimi lastnostmi za subkutano injiciranje. Hkrati je zagotovljen enostaven in hiter fazni prehod *in situ* v kubične in heksagonalne tekoče kristale, sprožen izključno z absorpcijo vode kot najmanj invazivnim stimulusom. Pri tem spontano nastane strukturno stabilen biorazgradljiv depo dostavni sistem.



Slika 2. Shematski prikaz glavnih dosežkov v razvoju formulacij na osnovi kubičnih in heksagonalnih tekočih kristalov.

Razvite formulacije zagotavljajo podaljšano sproščanje modelne peptidne zdravilne učinkovine v obdobju dveh tednov, kar omogoča zmanjšanje pogostosti odmerjanja glede na referenčno zdravilo, ki se aplicira subkutano dvakrat na teden. Obenem nam je uspelo ohraniti tudi konformacijsko stabilnost modelne peptidne zdravilne učinkovine. Pri vrednotenju biokompatibilnosti smo ugotovili, da *in situ* nastali kubični in heksagonalni tekoči kristali izkazujejo zelo veliko biokompatibilnost na humanih celičnih linijah dermalnih fibroblastov in keratinocitov, brez opaznih morfoloških sprememb. Zato so te formulacije perspektivni depo dostavni sistemi za podaljšano sproščanje peptidnih zdravilnih učinkovin.

Nove formulacije s ciljno razvitimi lastnostmi predstavljajo osrednji znanstveni dosežek doktorske disertacije. Rezultati prispevajo k boljšemu razumevanju povezav med sestavo, mikrostrukturo ter funkcionalnimi in biološkimi lastnostmi liotropnih tekočih kristalov kot dostavnih sistemov zdravilnih učinkovin. Enostavna izdelava, velika prilagodljivost ter obetavne lastnosti teh formulacij so dobro izhodišče za njihov prihodnji razvoj. Pridobljeno znanje obenem podpira nadaljnje raziskave na področju farmacevtskih oblik, ki bolnikom olajšajo zdravljenje, njihov dolgoročni potencial pa se odraža v zmanjševanju bremena kroničnih bolezni za posameznika in družbo.

Mercedes Vitek, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: Mirjam Gosenca Matjaž, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: Alenka Zvonar Pobirk, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Development and Evaluation of Innovative Lipid-Based Delivery Systems for Dermal and Subcutaneous Treatment of Atopic Dermatitis

Innovative formulation approaches in pharmaceutical technology that enable patient-friendly treatment are opening new opportunities for more effective management of chronic diseases. In this doctoral dissertation, we explored the potential of innovative lipid-based delivery systems in the context of atopic dermatitis, the most common chronic inflammatory skin disease in the developed world. The complex pathophysiology of the disease and the limitations of current therapies call for the development of new, improved therapeutic solutions. In this context, advanced formulations for the dermal delivery of classical synthetic drugs and the subcutaneous delivery of biological drugs play an important role. Among lipid--based delivery systems, we focused on lyotropic liquid crystals, which, owing to their specific structural properties, represent promising systems for dermal and subcutaneous application.

For the dermal application of synthetic drugs, we developed a lamellar liquid crystal platform founded on an innovative multi-target treatment strategy (Figure 1). Such an approach to the dermal therapy of atopic dermatitis has not yet been described. Lamellar liquid crystals were selected because of their structural similarity to the intercellular lipids of the *stratum corneum*, a feature that makes them particularly suitable for dermal application. Currently available drugs for dermal therapy are predominantly formulated in conventional dosage forms, such as creams, lotions, and ointments. These generally have a relatively simple structure and primarily serve as carrier systems for drug delivery. The newly developed formulations were therefore designed as functionally advanced delivery systems. Betamethasone dipropionate, a drug with anti-inflammatory activity, was incorporated, while additional functional effects were achieved through the biomimetic lamellar microstructure and a purposefully selected lipid composition rich in essential fatty acids. The microstructure enables prolonged skin hydration, while the selected lipids contribute to restoring the impaired skin barrier. Such multi-target action is important for disrupting the chronic cycle of dry and irritated atopic skin and for enabling a comprehensive and causal approach to disease management.

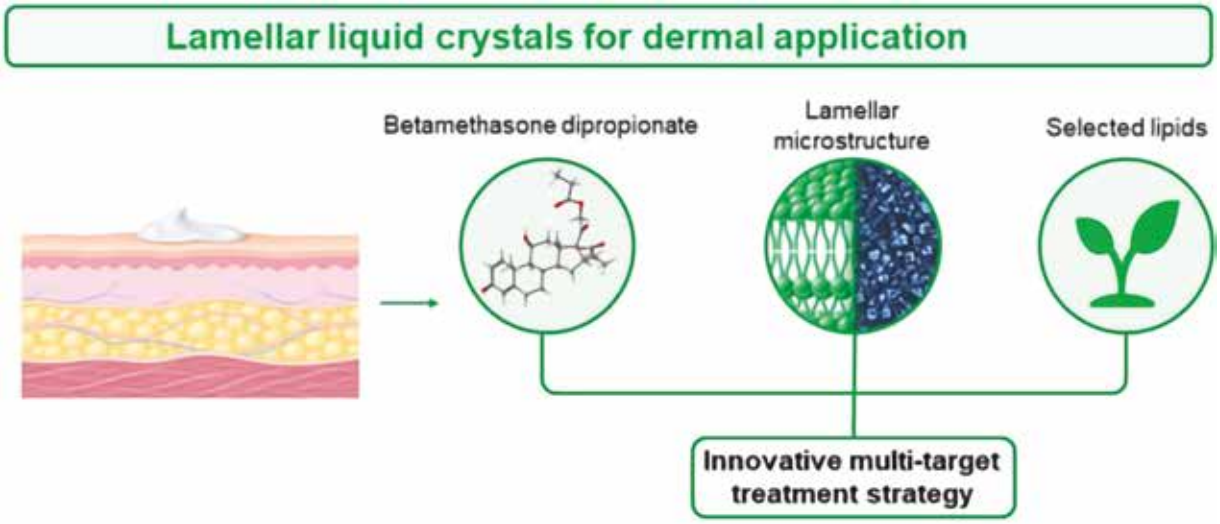


Figure 1. Schematic overview of key advances in development of formulations based on lamellar liquid crystals.

We demonstrated improved dermal absorption of the incorporated betamethasone dipropionate compared with the reference medicine, potentially enabling a therapeutic effect at a lower dose and reducing

the risk of adverse effects typical of topical corticosteroids. The chemical stability of betamethasone dipropionate was comparable to that of the reference medicine. Using several complementary methods, we also demonstrated excellent biocompatibility of the selected lamellar liquid crystals in a human keratinocyte cell line, with no observable morphological changes, preserved cellular integrity, and promising regenerative potential. The developed formulations were also evaluated in a double-blind, single-group interventional study in healthy volunteers. Following both single and 14-day application, the selected formulations markedly reduced transepidermal water loss, confirming effective strengthening of the skin barrier, while also providing adequate hydration of the *stratum corneum*.

In parallel, we developed a platform based on cubic and hexagonal liquid crystals for the subcutaneous delivery of biological drugs, which form *in situ* after injection into the subcutaneous tissue (Figure 2). Owing to their highly ordered structure, these systems enable prolonged drug release and are therefore suitable as depot delivery systems. Among biological drugs, therapeutic peptides are particularly relevant for such systems, as their short half-life and low intrinsic stability are often associated with the need for frequent dosing, which can be reduced through prolonged release. As a model peptide drug, thymosin alpha 1 was selected. For depot delivery systems that form *in situ*, important technological challenges include achieving suitable rheological properties for injection, as high viscosity may be associated with painful administration, and ensuring sufficient structural stability of the depot after application. Within the doctoral research, we successfully developed novel low-viscosity precursor formulations with optimal rheological properties for subcutaneous injection. At the same time, a simple and rapid *in situ* phase transition into cubic and hexagonal liquid crystals was achieved, triggered exclusively by water absorption as the least invasive stimulus. This results in the spontaneous formation of a structurally stable, biodegradable depot delivery system.

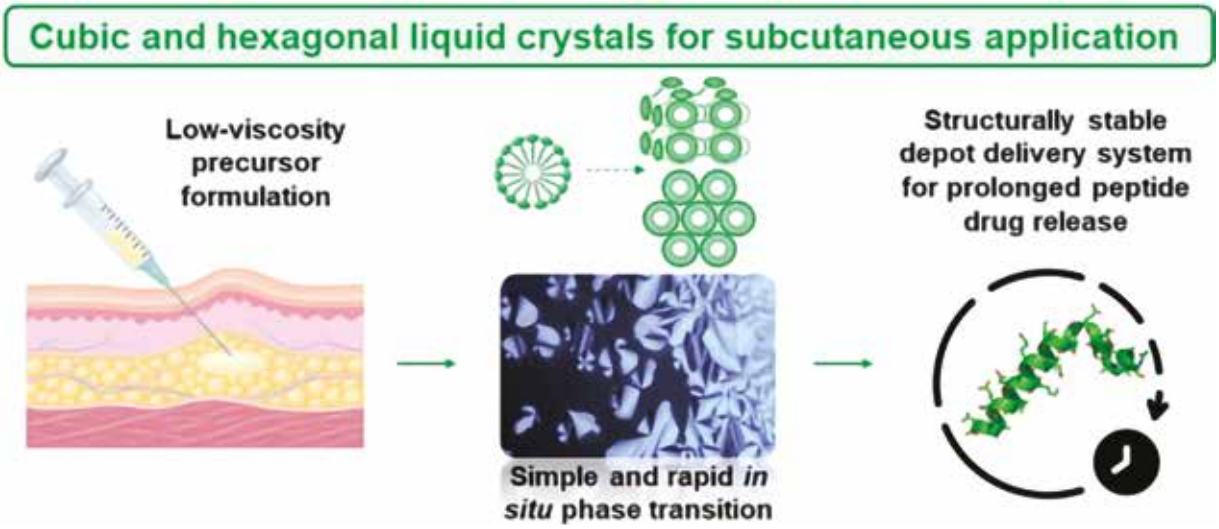


Figure 2. Schematic overview of key advances in development of formulations based on cubic and hexagonal liquid crystals.

The developed formulations provide prolonged release of the model peptide drug over a period of two weeks, enabling a reduction in dosing frequency compared with the reference medicine, which is administered subcutaneously twice weekly. The conformational stability of the model peptide drug was also preserved. Biocompatibility studies demonstrated that the *in situ* formed cubic and hexagonal liquid crystals exhibit very high biocompatibility in human dermal fibroblast and keratinocyte cell lines, with no observable morphological changes. The formulations therefore represent promising depot delivery systems for the prolonged release of peptide drugs.

The novel formulations with rationally designed properties represent the key achievement of this doctoral dissertation. The results contribute to a better understanding of the relationships between composition, microstructure, and the functional and biological properties of lyotropic liquid crystals as drug delivery systems. Their simple preparation, high adaptability, and promising characteristics provide a strong basis for the further development of these formulations. The knowledge gained also supports further research into patient-friendly dosage forms, while their long-term potential is reflected in reducing the burden of chronic diseases at both the individual and societal levels.

DR. EVA KLARA MERZEL ŠABOVIĆ

Odločitev za študij medicine je bila zanjo logična, saj so ji bile naravoslovne znanosti, posebno spoznavanje človeškega telesa, od nekdaj blizu. Tako ji je bila tudi specializacija iz dermatovenerologije pravzaprav pisana na kožo – pa ne le zaradi širine področja, temveč tudi zaradi hitrega napredka v obravnavi in zdravljenju bolezni ter raznolikosti dela. Kot specialistka se je na Dermatovenerološki kliniki v Univerzitetnem kliničnem centru Ljubljana zaposlila v začetku leta 2025. Njena velika želja po raziskovanju je botrovala tudi odločitvi za doktorski študij, v sklopu katerega je proučevala subklinično okvaro srčno-žilnega sistema pri bolnikih z luskavico.



Vztrajnost pogosto idejo pripelje do novega spoznanja

LUSKAVICA JE INTERDISCIPLINARNA BOLEZEN

Osnovno področje mojega raziskovanja je luskavica in njena povezava z drugimi boleznimi. Že med študijem me je navduševalo prepletanje različnih vej medicine, k odločitvi za luskavico pa je prispevalo več dejavnikov, predvsem je bila v ospredju osebna zgodba mojega moža. Ko sem začela raziskovati, sem prek zgodb bolnikov spoznavala, kako velik vpliv ima luskavica nanje in na njihove bližnje. Vesela sem, da sem lahko predstavila nove ideje, ki bodo morda omogočile spremembe v obravnavi teh bolnikov. Za to področje sem se odločila tudi zato, ker je luskavica interdisciplinarna bolezen, kar mi je omogočilo izbiro mentorja, ki je specialist interne medicine in diabetolog.

REZULTATI SO OSNOVA ZA NADALJNJE RAZISKOVANJE

Osnovno sporočilo mojega raziskovanja je, da pri luskavici uspešno zdravljena koža še ne pomeni, da so umirjeni tudi procesi drugod v telesu. Kljub uspešnemu zdravljenju kože lahko pri nekaterih bolnikih vztrajajo vnetne, presnovne in hemostatske spremembe. Naše ugotovitve dopolnjujejo razumevanje luskavice kot sistemske bolezni in odpirajo možnost, da zdravljenje v prihodnje še bolj prilagodimo posameznemu bolniku. Rezultati še ne pomenijo neposredne spremembe vsakodnevne klinične prakse, saj je treba predlagani koncept preveriti v večjih raziskavah. Predstavljajo pa osnovo za nadaljnje raziskovanje zdravljenja bolnikov z luskavico, pri katerem ni cilj le čista koža, temveč dolgoročno in celostno zdravje.

NAVDIHUJEJO ME NOVA DOGNANJA

Pri raziskovalnem delu me navdihujejo nova dognanja oz. postavljanje in testiranje hipotez. Čeprav je ob rednem kliničnem delu naporno, je hkrati zanimivo, saj z opažanji, ki jih lahko preveriš z raziskovalnim delom, izboljšaš življenje bolnikov. Najboljše ideje pa se mi običajno porodijo med sproščeno hojo v naravi, ko sem sama s svojimi mislimi.

TUDI MENTOR JE BIL PREJEMNIK KRKINE NAGRADE

Vloga mentorja je izjemna, saj se pri raziskovalnem delu podajamo na težko pot. Kljub doktorskemu študiju nimamo dovolj konkretnih izkušenj, kako se soočiti z izzivi. Mentorju izr. prof. dr. Miodragu Janiću, dr. med., spec. interne medicine, sem zelo hvaležna, saj me je ves čas podpiral in mi predajal svoje znanje, raziskovanje pa še nadaljujeva. Še posebno me veseli, da sta bila tako moj mentor kot njegov mentor nekoč prejemnika Krkine nagrade.

POMEMBNA JE PODPORA

Ko sem pripravljala doktorsko nalogo, mi je bil v največjo oporo soprog. Večino meritev v sklopu raziskave sem naredila med nosečnostjo, nato pa sta sledila pisanje člankov in zagovor disertacije – in to ob hčerki, ki ima danes že dobra tri leta. Večkrat sem se vprašala, ali je vredno truda, vendar me je za nadaljevanje opogumila misel dermatologinje Sabrine Fabi: »Pravi uspeh ni v tem, da se odpoveš svojim sanjam zaradi otroka, ampak da skupaj z njim zgradiš življenje, ki mu pokaže, kaj vse je mogoče.«

BOLNIKI SO NAŠA MOTIVACIJA

Svoj znanstveni potencial bom usmerila v nadaljnje proučevanje kliničnih opažanj. Čeprav umetna inteligenca lahko podpre raziskovalno delo, ne more nadomestiti naše radovednosti in vprašanj bolnikov. Na Dermatovenerološki kliniki vsak dan obravnavamo ogromno bolnikov, ki so naš glavni navdih. Čeprav je Slovenija majhna država, verjamem, da lahko s svojim znanjem in vztrajnostjo veliko dosežemo, saj vsako novo dognanje prinaša novo upanje za bolnike.

OSTAJAM AVTENTIČNA

Če pomislim na lastnosti, ki me osebnostno gradijo, sta to poštenost in vztrajnost. Jasno imam določene prioritete, ki so postale še pomembnejše, odkar sem mama. Predana sem zdravemu načinu življenja in si vsak trenutek prizadevam ostati avtentična.

VELIKA POTRDITEV ZA MOJE DELO

Ob sporočilu, da sem prejemnica velike Krkine nagrade, so se mi ulile solze. V doktorsko nalogo sem vložila ogromno dela, časa in energije, zato lahko rečem, da je nagrada velika potrditev za opravljeno delo. Spodbudno je, da mi nagrado podeljuje Krka, dodana vrednost pa je tudi, da sem jo prejela kot zdravnica, ki se z raziskovanjem ukvarja ob rednem delu na kliniki.

BODITE RADOVEDNI IN VZTRAJNI

Raziskovalna pot je polna neuspehov, zavrnitev in trenutkov dvoma, vendar je prav vztrajnost pogosto tista, ki idejo pripelje do novega spoznanja. Ni treba, da z eno raziskavo spremenimo svet – dovolj je, da vsak doda kamenček v mozaik znanja. Bodite radovedni in vztrajni, upajte si postavljati vprašanja.

NAJBOLJŠI NASVET

Zmoreš vse in še več.

ŽIVLJENJSKO VODILO

Ko si nečesa zares želiš, se vse vesolje poveže, da bi ti to pomagalo uresničiti.

Paulo Coelho, Alkimist

Eva Klara Merzel Šabović, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentor: Miodrag Janić, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

Subklinična okvara srčno-žilnega sistema pri bolnikih z luskavico

Sodobna biološka zdravila omogočajo učinkovito zdravljenje luskavice in pri številnih bolnikih popolno ali skoraj popolno izginotje kožnih sprememb. Toda ali umiritev kože pomeni tudi umiritev bolezenskih procesov drugod v telesu? In če nekateri procesi ostajajo dejavni, kdaj in kako se jim pridružijo spremembe v drugih sistemih? Ti vprašanji sta nas vodili pri raziskovanju v okviru doktorskega dela. Luskavica prizadene približno 3 % prebivalstva in večinoma zahteva dolgotrajno, pogosto vseživljenjsko zdravljenje. Širši pogled na bolezen je zato posebno pomemben pri mladih bolnikih in bolnikih srednjih let. Pred njimi so desetletja življenja z boleznijo, zato uspeha zdravljenja ni dovolj presojati zgolj po stanju kože.

Luskavico smo obravnavali kot nedokončano sestavljanko s še nepojasnjenimi povezavami. V presečno raziskavo smo vključili 80 mlajših bolnikov in bolnikov srednjih let brez znanih pridruženih bolezni ter 20 zdravih preiskovancev primerljive starosti. Bolniki so bili zgodaj po diagnozi ustrezno zdravljeni, med raziskavo pa učinkovito in stabilno zdravljeni z lokalnimi zdravili, metotreksatom, adalimumabom, sekukinumabom ali guselkumabom. Sočasno smo proučevali preostalo sistemsko vnetje, presnovo, delovanje žil, zgodnjo aterosklerozo, debelost, strjevanje krvi, trombocite in psihološko stanje. S povezovanjem ugotovitev smo želeli razumeti možno časovno zaporedje sprememb v teh sistemih. Takšen pristop nam je omogočil celovitejši vpogled v bolezen in prepoznavanje različnih vzorcev odstopanj pri posameznih bolnikih.

Kljub učinkovitemu zdravljenju, ob katerem so kožne spremembe povsem izginile ali ostale le v omejenem obsegu, smo ugotovili znake preostalega sistemskega vnetja. Prisotne so bile zvišane ravni vnetnih citokinov, povezanih z luskavico: TNF, IFN-γ, IL-1β, IL-6, IL-12p70 in IL-17. Posebnost tega vzorca je bila, da IL-23 ni bil zvišan. Zlasti pri bolnikih z zvišanim indeksom telesne mase smo ugotovili tudi subklinično hiperkoagulabilno stanje, torej povečano nagnjenost krvi k strjevanju, povezano predvsem z zmanjšano fibrinolizo oz. razgradnjo krvnih strdkov.

Za razumevanje teh ugotovitev je pomemben koncept t. i. psoriatičnega marša, ki pojasnjuje možno povezavo med luskavico in razvojem srčno-žilnih bolezni. Po tem modelu sistemsko vnetje spodbuja razvoj inzulinske rezistence, torej zmanjšane odzivnosti na inzulin, in motenj delovanja endotelija, notranje plasti žilne stene. Ti procesi se medsebojno povezujejo in se lahko še stopnjujejo ter tako prispevajo k razvoju ateroskleroze. V naši skupini zgodaj in učinkovito zdravljenih bolnikov nismo zaznali vseh členov tega procesa. Kljub preostalemu sistemskemu vnetju nismo ugotovili inzulinske rezistence, z meritvami endotelijske funkcije in hitrosti pulznega vala pa tudi ne motenj delovanja endotelija niti povečane togosti arterij. Ugotovljeni vzorec zato odpira vprašanje, ali zdravljenje upočasni napredovanje psoriatičnega marša in nastanek povezav med vnetnimi, presnovnimi in žilnimi spremembami, ki se med seboj krepijo.

Na tej podlagi smo oblikovali hipotezo o časovnem oknu za dodatno ukrepanje, torej o obdobju, ko je sistemsko vnetje še prisotno, zaznavne presnovne in žilne motnje pa se še niso razvile. Z dodatnim zmanjšanjem preostalega vnetja bi morda lahko vplivali na nadaljnji potek bolezni, še preden bi se ti procesi tesneje povezali in začeli medsebojno stopnjevati. Ker je bila raziskava presečna, predlaganega časovnega zaporedja in zaščitnega učinka zdravljenja nismo mogli neposredno dokazati; preveriti ju bo treba z dolgoročnim spremljanjem bolnikov. Hipotetični potek prikazuje slika 1. Ugotovljeni vzorec preostalega vnetja odpira tudi vprašanje, ali bi z njegovim dodatnim, usmerjenim zmanjšanjem lahko dosegli globljo in trajnejšo umiritev luskavice. Pri tem je zanimiva odsotnost zvišanja IL-23 ob zvišanih ravneh več drugih citokinov, povezanih z boleznijo. To sicer ne izključuje vloge IL-23 v tkivih, nakazuje pa potrebo po boljšem razumevanju vnetnih poti, ki ostajajo dejavne kljub uspešnemu zdravljenju kože. Morebitni vpliv takšnega pristopa na dolgotrajno remisijo, tudi po prenehanju zdravljenja, ostaja vprašanje za prihodnje raziskave.

Pri predlaganem poteku ima lahko pomembno vlogo debelost. Predpostavili smo, da bi debelost lahko skrajšala časovno okno in pospešila povezovanje vnetnih, presnovnih in žilnih sprememb, kar bi lahko prispevalo k zgodnejšemu razvoju ateroskleroze in težjemu obvladovanju luskavice. Klinično vrednost sočasnega zdravljenja debelosti in luskavice je potrdila nedavno objavljena velika raziskava TOGETHER-PsO.

Pri bolnikih z luskavico in čezmerno telesno maso ali debelostjo je kombinacija iksekizumaba in tirzepatida omogočila boljše očiščenje kože kot zdravljenje samo z iksekizumabom. To podpira možnost, da obravnava debelosti izboljša zdravljenje luskavice.

Na podlagi ugotovljenih povezav in predlaganega časovnega poteka sprememb smo oblikovali koncept obravnave, ki poleg stanja kože upošteva preostalo sistemsko vnetje in prizadetost tarčnih sistemov (slika 2). Izhodišče je sočasna ocena preostalega vnetnega profila, zlasti IL-6 in IL-23, stopnje debelosti ter presnovnih, žilnih, hemostatskih in psiholoških odstopanj. S povezovanjem podatkov bi za posameznega bolnika opredelili dejavne procese, zaznavna odstopanja in možnosti dodatnega ukrepanja. Obravnavo bi prilagodili posamezniku, ob tem pa upoštevali povezave in možno časovno zaporedje sprememb. Poleg učinkovitega zdravljenja kože bi glede na odstopanja vključili zdravljenje debelosti, obravnavo presnovnih dejavnikov tveganja, psihološko podporo ter spremljanje žilnega in hemostatskega stanja. Prilagajanje protivnetnega zdravljenja glede na preostali vnetni profil, vključno z IL-6 in IL-23, ostaja raziskovalna možnost, ki jo je treba preveriti v prospektivnih raziskavah. Cilja sta boljše dolgoročno obvladovanje luskavice in individualno prilagojeno zmanjševanje srčno-žilnega tveganja. Razumevanje povezav in časovnega poteka sprememb bi pomagalo določiti, pri kom, kdaj in na kateri proces je smiselno dodatno vplivati.

Z raziskavo smo nekoliko dopolnili nedokončano sestavljanko luskavice in odprli nova vprašanja o povezavah med bolezenskimi procesi ter njihovem časovnem poteku. Osrednja hipoteza doktorskega dela je, da pri zgodaj in učinkovito zdravljenih bolnikih med preostalim vnetjem ter razvojem presnovnih in žilnih motenj lahko obstaja časovno okno, ki ponuja možnost dodatnega ukrepanja. Izsledke doktorskega dela smo objavili v sedmih izvirnih raziskovalnih člankih v mednarodnih znanstvenih revijah.



Slika 1. Hipotetični prikaz časovnega poteka zgodnje ateroskleroze pri mladih učinkovito zdravljenih bolnikih z luskavico. Preostalemu sistemskemu vnetju lahko sledijo zgodnje motnje hemostaze, predvsem zmanjšana fibrinoliza, medtem ko se motnje delovanja endotelija in presnovne spremembe pojavijo z zamikom. Takšen potek kaže na možno obdobje za zgodnje preventivno ukrepanje, še preden se razvije klinično izražena aterosklerotična bolezen.

FMD – od pretoka odvisna dilatacija (flow-mediated dilation); HOMA-IR – homeostatski model za oceno inzulinske rezistence (Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance); IFN-γ – interferon gama; IL – interlevkin; OCP – skupni koagulacijski potencial (overall coagulation potential); OFP – skupni fibrinolitični potencial (overall fibrinolytic potential); OHP – skupni hemostatski potencial (overall hemostatic potential); PWV – hitrost pulznega vala (pulse wave velocity); TNF – dejavnik tumorske nekroze; β – indeks togosti arterijske stene



Slika 2. Predlog celostne in individualno prilagojene obravnave bolnikov z luskavico, starih od 18 do 45 let. Poleg ocene učinkovitosti zdravljenja luskavice predlagani pristop vključuje oceno preostalega sistemskega vnetja ter morebitne prizadetosti drugih sistemov, vključno s presnovnimi in hemostatskimi odstopanji, visceralno debelostjo, psihološkimi dejavniki in delovanjem endotelija. Na podlagi celostne ocene se individualizirata zdravljenje luskavice in pridruženih bolezni ter pristop k preprečevanju prihodnjih srčno-žilnih dogodkov.

BSA – telesna površina, prizadeta z luskavico (Body Surface Area); DLQI – dermatološki indeks kakovosti življenja (Dermatology Life Quality Index); FMD – od pretoka odvisna dilatacija (flow-mediated dilation); HADS-A – podlestvica bolnišnične lestvice anksioznosti in depresije za anksioznost; HADS-D – podlestvica bolnišnične lestvice anksioznosti in depresije za depresijo; HOMA-IR – homeostatski model za oceno inzulinske rezistence (Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance); IL – interlevkin; OFP – skupni fibrinolitični potencial (overall fibrinolytic potential); OHP – skupni hemostatski potencial (overall hemostatic potential); PASI – indeks površine in resnosti luskavice (Psoriasis Area and Severity Index); PWV – hitrost pulznega vala (pulse wave velocity); TNF – dejavnik tumorske nekroze; VAI – indeks visceralne zamaščenosti (Visceral Adiposity Index); β – indeks togosti arterijske stene

Eva Klara Merzel Šabović, Faculty of Medicine, University of Ljubljana
Supervisor: Miodrag Janić, Faculty of Medicine, University of Ljubljana

Subclinical Impairment of Cardiovascular System in Patients with Psoriasis

Modern biologic therapies have transformed the treatment of psoriasis, enabling many patients to achieve complete or near-complete skin clearance. But does clearing the skin also mean that disease processes elsewhere in the body have subsided? And if some processes remain active, when and how do changes in other systems begin to emerge? These questions formed the starting point of this doctoral research.

Psoriasis affects approximately 3% of the population and usually requires long-term, often lifelong treatment. Looking beyond the skin is therefore particularly important in young and middle-aged patients. With decades of life with the disease ahead of them, treatment success cannot be judged solely by the appearance of the skin.

We approached psoriasis as an unfinished puzzle, still missing important connections between its different components. Our cross-sectional study included 80 young and middle-aged patients without known comorbidities and 20 healthy individuals of comparable age. Patients had received appropriate treatment early after diagnosis and, at the time of the study, were effectively and stably treated with topical therapies, methotrexate, adalimumab, secukinumab, or guselkumab. Rather than examining individual aspects of the disease in isolation, we simultaneously investigated residual systemic inflammation, metabolism, vascular function, early atherosclerosis, obesity, coagulation, platelet-related parameters, and psychological status. By integrating these findings, we sought to understand not only which abnormalities were present, but also how they might be connected and in what sequence they might emerge. This approach provided a more comprehensive view of psoriasis and revealed different patterns of abnormalities among individual patients.

Despite effective treatment, with skin lesions either completely cleared or reduced to a minimal extent, we found evidence of residual systemic inflammation. Levels of several inflammatory cytokines associated with psoriasis – including TNF, IFN-γ, IL-1β, IL-6, IL-12p70, and IL-17 – remained elevated. Interestingly, IL-23 was not elevated. Particularly among patients with a higher body mass index, we also identified a subclinical hypercoagulable state, indicating an increased tendency toward blood clotting, driven primarily by impaired fibrinolysis, or reduced breakdown of blood clots.

An important framework for interpreting these findings is the concept of the 'psoriatic march', which describes a possible pathway linking psoriasis to cardiovascular disease. According to this model, systemic inflammation promotes insulin resistance – a reduced response to insulin – and endothelial dysfunction affecting the inner lining of blood vessels. These processes may interact and reinforce one another, ultimately contributing to the development of atherosclerosis.

In our cohort of patients treated early and effectively, however, we did not observe all stages of this proposed process. Despite persistent systemic inflammation, there was no evidence of insulin resistance. Similarly, measurements of endothelial function and pulse wave velocity showed neither endothelial dysfunction nor increased arterial stiffness. This pattern raises an important question: could early and effective treatment slow the progression of the psoriatic march and delay the emergence of mutually reinforcing links between inflammatory, metabolic, and vascular abnormalities?

These findings led us to propose the existence of a potential 'window of opportunity' for additional intervention – a period during which systemic inflammation persists, but detectable metabolic and vascular abnormalities have not yet developed. Further reducing residual inflammation during this window might influence the subsequent course of the disease before these processes become more closely interconnected and begin to reinforce one another. However, as our study was cross-sectional, we could not directly establish this temporal sequence or demonstrate a protective effect of treatment. Both hypotheses will need to be tested in longitudinal studies. The proposed course of events is illustrated in Figure 1.

The pattern of residual inflammation also raises another question: could a further, targeted suppression of the inflammation achieve deeper and more sustained control of psoriasis? Particularly intriguing was the absence of elevated IL-23 despite increased levels of several other cytokines associated with the disease. This finding does not exclude an important role of IL-23 within tissues, but it highlights the need to better understand which inflammatory pathways remain active despite successful treatment of the skin. Whether targeting these pathways could contribute to a more durable remission, potentially even after treatment discontinuation, remains an important question for future research.

Obesity may play a pivotal role in this proposed sequence of events. We hypothesised that obesity could shorten the window of opportunity by accelerating the interaction between inflammatory, metabolic, and vascular abnormalities, potentially contributing to earlier atherosclerosis and making psoriasis more difficult to control. The clinical relevance of simultaneously addressing obesity and psoriasis has recently been supported by the large TOGETHER-PsO study. In patients with psoriasis and overweight or obesity, treatment with ixekizumab combined with tirzepatide resulted in greater skin clearance than with ixekizumab alone. These findings support the concept that addressing obesity may improve psoriasis treatment outcomes.

Based on the associations observed in our research and the proposed temporal sequence of abnormalities, we developed a broader concept for the management of psoriasis – one that considers not only the skin but also residual systemic inflammation and the involvement of other target systems (Figure 2). The proposed approach begins with the simultaneous assessment of the residual inflammatory profile, particularly IL-6 and IL-23, the degree of obesity, and metabolic, vascular, haemostatic, and psychological abnormalities. Integrating these data could help identify which processes remain active in an individual patient, which abnormalities are already detectable, and where additional intervention might be beneficial.

Management could then be tailored to the individual patient, taking into account both the relationships between these processes and their possible temporal sequence. Alongside effective treatment of the skin, additional measures could include treatment of obesity, management of metabolic risk factors, psychological support, and monitoring of vascular and haemostatic status, depending on the abnormalities identified. Adapting anti-inflammatory treatment according to the residual inflammatory profile, including IL-6 and IL-23, remains an investigational concept that requires prospective evaluation. The ultimate goals are improved long-term control of psoriasis and a more individualised approach to reducing cardiovascular risk. A better understanding of how these processes are connected and how they evolve over time could help determine which patients require additional intervention, when to intervene, and which process should be targeted.

Our research has added several pieces to the unfinished puzzle of psoriasis while, at the same time, revealing new gaps that remain to be explored. The central hypothesis emerging from this doctoral work is that, in patients treated early and effectively, a window of opportunity may exist between persistent residual inflammation and the subsequent development of metabolic and vascular abnormalities – a period during which additional intervention might alter the longer-term course of the disease.

The findings of this doctoral research have been published in seven original research articles in international scientific journals.



Figure 1. Hypothetical representation of the temporal course of early atherogenesis in young, effectively treated patients with psoriasis. Residual systemic inflammation may be followed by early haemostatic abnormalities, particularly impaired fibrinolysis, while endothelial dysfunction and metabolic alterations may develop later. This temporal sequence suggests a potential window for early preventive intervention before clinically manifest atherosclerotic disease develops.

FMD, flow-mediated dilation; HOMA-IR, Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance; IFN-γ, interferon gamma; IL, interleukin; OCP, overall coagulation potential; OFP, overall fibrinolytic potential; OHP, overall haemostatic potential; PWV, pulse wave velocity; TNF, tumour necrosis factor; β, arterial stiffness index.

Figure 2. Proposed comprehensive and individualised management of patients with psoriasis aged 18–45 years. In addition to assessing the effectiveness of psoriasis treatment, the proposed approach includes the evaluation of residual systemic inflammation and potential involvement of other systems, including metabolic and haemostatic abnormalities, visceral adiposity, psychological factors, and endothelial function. Based on this comprehensive assessment, both the treatment of psoriasis and associated comorbidities and the approach to preventing future cardiovascular events can be individualised.



BSA, Body Surface Area; DLQI, Dermatology Life Quality Index; FMD, flow-mediated dilation; HADS-A, anxiety subscale of the Hospital Anxiety and Depression Scale; HADS-D, depression subscale of the Hospital Anxiety and Depression Scale; HOMA-IR, Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance; IL, interleukin; OFP, overall fibrinolytic potential; OHP, overall haemostatic potential; PASI, Psoriasis Area and Severity Index; PWV, pulse wave velocity; TNF, tumour necrosis factor; VAI, Visceral Adiposity Index; β, arterial stiffness index.



56. KRKINE NAGRADE
56th KRKA PRIZES

KRKINE NAGRADE S PRIZNANJEM ZA IZSTOPAJOČE RAZISKOVALNO DELO

KRKA SPECIAL RECOGNITION PRIZES FOR REMARKABLE RESEARCH WORK

POVZETKI
ABSTRACTS

Aljoša Škorjanc, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentor: Nejc Umek, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

Identifikacija s fenotipi povezanih genov kot podpora odkrivanju terapevtskih tarč z uporabo uveljavljenih podatkovnih zbirk

Klasične obogatitvene analize Genske ontologije izhajajo iz izbranih genov in ne omogočajo obratnega iskanja genov na podlagi fenotipa. Zato smo razvili orodje GOReverseLookup, ki omogoča iskanje genov na podlagi poljubno definiranih interesnih stanj. Njegovo delovanje smo ovrednotili na dveh testnih primerih: (1) revmatoidnem artritisu, pri katerem smo rezultate primerjali z geni, opisanimi v znanstveni literaturi, ter (2) kombinaciji kroničnega vnetja in tumorigeneze, pri kateri smo kandidatne gene ovrednotili glede na znane signalne poti, opisane v znanstveni literaturi. Pri revmatoidnem artritisu je orodje prepoznalo 41,7 % genov, opisanih v literaturi, in dodatno identificiralo nove kandidatne gene. Pri kroničnem vnetju in tumorigenezi so bili identificirani geni vključeni v vse ključne signalne poti. Vključitev ortologni genov je omogočila identifikacijo desetih dodatnih genov. Ti rezultati potrjujejo uporabnost orodja GOReverseLookup za identifikacijo in prednostno razvrščanje kandidatnih genov kot izhodišče za predklinično presojo potencialnih terapevtskih tarč.

Aljoša Škorjanc, Faculty of Medicine, University of Ljubljana
Supervisor: Nejc Umek, Faculty of Medicine, University of Ljubljana

Identification of Phenotype-Associated Candidate Genes to Support Therapeutic Target Discovery Using Established Databases

Conventional Gene Ontology enrichment analyses start from a predefined set of genes and do not support the reverse approach of identifying genes based on a phenotype. To address this limitation, we developed GOReverseLookup, a tool that enables the identification of candidate genes based on arbitrarily defined states of interest described by a set of Gene Ontology terms. We evaluated the tool using two test cases: (1) rheumatoid arthritis, for which the results were compared with genes reported in the scientific literature, and (2) a combination of chronic inflammation and tumourigenesis, for which candidate genes were assessed against known signalling pathways described in the scientific literature. For rheumatoid arthritis, the tool identified 41.7% of the genes reported in the literature and additionally identified novel candidate genes. In the chronic inflammation and tumourigenesis test case, the identified genes were involved in all key signalling pathways. The inclusion of orthologous genes enabled the identification of ten additional genes. Thus, GOReverseLookup enables the identification of candidate genes associated with states of interest and provides a reproducible approach to their prioritisation as a basis for the further preclinical evaluation of therapeutic targets.

Filip Dugonik, Urška Jeršič, Lejla Kač, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru
Mentorica: Tina Maver, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru
Somentorici: Lidija Gradišnik, Tanja Zidarič, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

In vitro biofarmacevtsko vrednotenje topičnih formulacij diklofenaka kot podpora razvoju in optimizaciji dermalnih zdravil

V raziskovalni nalogi smo obravnavali biofarmacevtsko vrednotenje topičnih formulacij diklofenaka *in vitro* glede na vpliv formulacijske sestave in permeacijski model. Primerjali smo magistralni formulaciji Pentravan® z natrijevim diklofenakom, brez dodatka 24-odstotnega propilen glikola in z njim, ter komercialna pripravka Voltaren® Emulgel in Olfen® gel na membrani Strat-M® in celičnem modelu HaCaT. Dodatek propilen glikola je povečal permeacijo natrijevega diklofenaka, membrana Strat-M® pa je v primerjavi z modelom HaCaT izraziteje zaznala razlike, povezane s formulacijo. Rezultati potrjujejo, da je razvoj dermalnih zdravil odvisen od razumevanja celotnega formulacijskega sistema in premišljene izbire permeacijskega modela. Naloga podpira večstopenjski pristop k razvoju topikalnih zdravil.

Filip Dugonik, Urška Jeršič, Lejla Kač, Faculty of Medicine, University of Maribor
Supervisor: Tina Maver, Faculty of Medicine, University of Maribor
Co-supervisors: Lidija Gradišnik, Tanja Zidarič, Faculty of Medicine, University of Maribor

In Vitro Biopharmaceutical Evaluation of Topical Diclofenac Formulations as Support for Development and Optimisation of Dermal Medicines

The research work addresses the *in vitro* biopharmaceutical evaluation of topical diclofenac formulations, focusing on formulation composition and permeation model selection. We compared two compounded Pentravan® formulations containing diclofenac sodium, without and with 24% propylene glycol, and the commercial products Voltaren® Emulgel and Olfen® gel using the Strat-M® membrane and the HaCaT cell model. Propylene glycol increased diclofenac sodium permeation, and the Strat-M® membrane detected formulation-dependent differences more clearly than the HaCaT model. The results confirm that dermal drug development requires understanding of the entire formulation system and rational selection of the permeation model. The study therefore supports a stepwise approach to topical drug development.

Žiga Oražem, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Janez Košmrlj, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

O-karbamat kot usmerjajoča skupina za pripravo devteriranih heteroaromatskih spojin

V magistrskem delu smo pripravili serijo (hetero)aromatskih *O*-karbamatov iz pripadajočih hidroksi(hetero) aromatov. Med izbranimi spojinami smo raziskovali sintezo *O*-karbamatov z elektronsko bogatimi in tudi elektronsko revnimi obroči. Sintetizirane (hetero)aromatske *O*-karbamate smo z litijevimi bazami in D_2O kot virom devterija izotopsko označili z devterijem, pri čemer smo uporabili karbamatno skupino kot usmerjajočo skupino za *orto*-devteriranje. Ugotovili smo, da večino substratov lahko uspešno in selektivno izotopsko označimo. Metodo devteriranja smo prenesli na večjo organsko spojino, ki predstavlja vmesno stopnjo pri sintezi protirakave učinkovine momelotinib, ki smo jo tudi uspešno izotopsko označili.

Žiga Oražem, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Supervisor: Janez Košmrlj, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

O-Carbamate as Directing Group for Preparation of Deuterated Heteroaromatic Compounds

In the scope of this master's thesis, a range of (hetero)aromatic *O*-carbamates was prepared from their corresponding hydroxy(hetero)aromatics. *O*-Carbamates of electron-rich and electron-deficient systems were synthesised. These compounds were isotopically labelled with the use of lithium bases and D_2O as a source of deuterium. In this step, the carbamate group functioned as a directing group for *ortho*-deuteration. It was found that most of the starting *O*-carbamates were successfully labelled under these conditions. The deuteration was also successfully performed on a larger molecule, which represents an intermediate in the synthesis of the anti-cancer drug momelotinib.

Urban Barbič, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Martin Gazvoda, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Razvoj sinteznih metod za vgradnjo nenaravnih fragmentov v polipeptidne verige

Karborani imajo edinstvene strukturne in elektronske lastnosti, zaradi velike vsebnosti bora pa so zanimivi za terapijo z zajetjem nevtronov v boru (Boron Neutron Capture Therapy, BNCT). Vgradnja karboranov v polipeptide je potekala na različne načine, predvsem s pripravo *N*-hidroksisukcinimidnih (NHS) estrov in njihovo reakcijo z ε-aminsko skupino stranske verige aminokisline lizina (Lys). Pripravili smo različne reagente NHS, ki vsebujejo karboransko zvrst in jih testirali v reakcijah biokonjugacij na modelnih peptidih, ki smo jih pripravili sami. Karborane smo vgradili tudi z aktivirano 1,7-dikarba-*closo*-dodekaboran-1-karboksilno kislino, ki ji je sledilo spajanje s peptidno verigo, in tudi s pripravo nenaravne aminokisline, ki je vsebovala karboransko skupino in smo jo v polipeptidno verigo vgradili z avtomatizirano sintezo peptidov na trdni fazi (Solid-phase Peptide Synthesis, SPPS).

Urban Barbič, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Supervisor: Martin Gazvoda, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

Development of Synthetic Methods for Incorporation of Non-Natural Fragments into Polypeptide Chains

Carboranes are endowed with unique structural and electronic features and are of interest for BNCT (Boron Neutron Capture Therapy) due to their high boron content. The incorporation of carboranes into peptides was carried out in various ways. The most important among them was based on the preparation of *N*-hydroxysuccinimide (NHS) esters and their reaction with the ε-amino group of the lysine side chain. We prepared different NHS reagents containing the carborane group and tested bioconjugation reactions on model peptides, which we prepared in advance. The incorporation of carboranes into peptides was also achieved via activated dicarba-*closo*-dodecaborane carboxylic acid with subsequent coupling and by the preparation of a carborane-functionalised amino acid, which was introduced into the peptide using automated SPPS.

Vito Ham, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Bojana Žegura, Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana
Somentorica: Martina Štampar, Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana

Zaznavanje genotoksičnega učinka delovanja ksenobiotikov z naprednim jetrnim *in vitro* 3D celičnim modelom

Ksenobiotiki lahko povzročajo poškodbe DNK, povezane z rakom in drugimi boleznimi. Ker imajo klasični 2D celični modeli in živalski poskusi omejitve pri posnemanju človeške presnove, smo v magistrskem delu za oceno genotoksičnosti policikličnih aromatskih ogljikovodikov (PAH) optimizirali in validirali dinamičen *in vitro* 3D-model sferoidov HepG2. Najprej smo spremljali rast, diferenciacijo in presnovno aktivnost sferoidov. Ti so bili med gojenjem stabilni, postopno so dozorevali ter dosegli največjo presnovno aktivnost med 17. in 22. dnem, kar smo potrdili z izražanjem jetrnih označevalcev (ALB, CK18, HNF4α) in presnovnih encimov (CYP1A1, CYP3A4, NAT2, UGT1A1). Najprimernejši so bili sferoidi, stari 21 dni. Nato smo jih za 24 oz. 96 ur izpostavili BGP, BBF, njuni mešanici in BaP. Pretočna citometrija je pokazala povečano izražanje označevalcev poškodb DNK in celičnega odziva, pri čemer mešanica ni povzročila sinergičnih učinkov. Genotoksični potencial PAH smo ocenili v zaporedju BGP < BBF < BaP.

Vito Ham, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana
Supervisor: Bojana Žegura, National Institute of Biology, Ljubljana
Co-supervisor: Martina Štampar, National Institute of Biology, Ljubljana

Dynamic *In Vitro* 3D Cellular Model for Detection of (Geno)toxic Effects of Xenobiotics

Xenobiotics pose a significant health risk because they can induce DNA damage associated with cancer and other chronic diseases. Since conventional 2D cell cultures and animal models have limitations in replicating human metabolism, this study optimised and validated a 3D HepG2 spheroid model for genotoxicity assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). Spheroid growth, differentiation, and metabolic activity were monitored throughout cultivation. The spheroids remained stable, gradually matured, and exhibited peak metabolic activity between days 17 and 22, confirmed by the expression of hepatic markers (ALB, CK18, HNF4α) and metabolic enzymes (CYP1A1, CYP3A4, NAT2, UGT1A1). Based on these findings, 21-day-old spheroids were selected for further experiments. The spheroids were exposed to benzo(g)perylene (BGP), benzo(b) fluoranthene (BBF), their mixture, and benzo(a)pyrene (BaP). Flow cytometry revealed genotoxic responses without synergistic effects in the mixture. Based on biomarker expression, genotoxic potency was ranked BGP < BBF < BaP.



56. KRKINE NAGRADE
56th KRKA PRIZES

KRKINE NAGRADE

KRKA PRIZES

POVZETKI
ABSTRACTS

Nina Katarina Grilc, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Špela Zupančič, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentorica: Julijana Kristl, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Razvoj polimernih nanovlaken za lokalno dostavo živih terapevtskih bakterij

Doktorska naloga se osredotoča na razvoj in vrednotenje nanovlaken z živimi terapevtskimi bakterijami oziroma probiotiki. Ker je največji tehnološki izziv ohranjanje bakterijske živosti v trdnih farmacevtskih oblikah, smo proučili izboljšanje bakterijskega preživetja z uporabo stabilizatorjev ter pokazali, da je njihova učinkovitost odvisna od vrste stabilizatorja, bakterijske vrste in faze delovanja (vgradnja v nanovlakna ali shranjevanje). Uporaba stabilizatorjev, nagnjenih h kristalizaciji, se je izkazala kot problematična zaradi njihove amorfizacije med elektrostatskim sukanjem in kasnejše kristalizacije med shranjevanjem. V ločeni stabilnostni raziskavi nanovlaken s placebom smo pokazali, da kristalizacija stabilizatorjev povzroča spremembe v morfologiji nanovlaken ter da sta stopnja amorfizacije in kasnejša kristalizacija odvisni od vrste stabilizatorja in njegovega deleža v formulaciji. Naloga obravnava tudi možnosti za izboljšanje kolonizacije vaginalnih laktobacilov z vgrajevanjem v nanovlakna. Pokazali smo namreč, da lahko PEO-nanovlakna pri sevih s slabo sposobnostjo tvorbe biofilma spodbujajo tvorbo adherentne biomase, ki jo alginat dodatno izboljša. Nadalje smo pokazali, da ujetje bakterij v hidratirane membrane nanovlaken v dinamičnih pogojih omogoča tvorbo mikrokolonij in njihovo podaljšano zadrževanje. Sistem na podlagi PEO in alginata smo ovrednotili tudi za podaljšano sproščanje spor dveh modelnih sevov rodu *Bacillus*, katerih probiotični potencial smo potrdili z genotipizacijo ter *in vitro* testi protibakterijskega in imunomodulacijskega delovanja. Doktorska naloga prispeva nova dognanja na področju razvoja dostavnih sistemov za probiotike.

Nina Katarina Grilc, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: Špela Zupančič, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: Julijana Kristl, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Development of Polymeric Nanofibres for Local Delivery of Live Therapeutic Bacteria

This doctoral thesis focused on the development and evaluation of nanofibres containing live therapeutic bacteria, i.e. probiotics. As maintaining bacterial viability in solid dosage forms represents a major technological challenge, the use of stabilising excipients to improve bacterial survival was investigated. Their efficacy was shown to depend on stabiliser type, bacterial species, and stage of action (incorporation into nanofibres or storage). The use of crystallisation-prone stabilisers proved potentially problematic due to their amorphisation during electrospinning and subsequent crystallisation during storage. In a separate stability study on placebo nanofibres, we demonstrated that stabiliser crystallisation caused changes in nanofibre morphology, while the extent of amorphisation and the subsequent crystallisation depended on the type of stabiliser and its proportion in the formulation. In addition to bacterial survival, the thesis also addressed the possibility of enhancing the colonisation of vaginal lactobacilli with nanofibres. We demonstrated the potential of PEO nanofibres to promote the formation of adherent biomass in strains with poor biofilm-forming capacity, and this effect was further enhanced by alginate. Furthermore, entrapment of bacteria within a hydrated nanofibre mat enabled microcolony formation and prolonged retention under dynamic conditions. The PEO/alginate system was also evaluated for the sustained release of spores of two model *Bacillus* strains, whose probiotic potential was confirmed by genotyping and *in vitro* antibacterial and immunomodulatory assays. This doctoral thesis provides new insights into delivery systems for probiotics.

Maria Laimou Geraniou, Mednarodna podiplomska šola Jožefa Stefana, Ljubljana
Mentorica: Ester Heath, Mednarodna podiplomska šola Jožefa Stefana, Ljubljana

Ostanki psihoaktivnih zdravilnih učinkovin in novih psihoaktivnih snovi v odpadnih in površinskih vodah: epidemiološki in okoljski vidik

Doktorska disertacija obravnava pojavnost in uporabo psihoaktivnih zdravilnih učinkovin in novih psihoaktivnih snovi (NPS) ter njihovo usodo v okolju v Sloveniji. Raziskava temelji na epidemiologiji odpadnih vod (WBE), ki omogoča spremljanje uporabe snovi v populaciji in njihovega prehajanja v okolje. Razvite in validirane so bile analizne metode LC-MS/MS za določanje sledov psihoaktivnih spojin v različnih vodnih matrikah, za učinkovito obdelavo velikega števila vzorcev pa je bil optimiziran postopek SPE. Uporabljen je bil tudi pristop iskanja sumljivih spojin (suspect screening) za identifikacijo novih psihoaktivnih snovi. Rezultati so pokazali, da pogoji shranjevanja pomembno vplivajo na stabilnost biomarkerjev. Analize odpadnih vod so razkrile časovne in geografske razlike v uporabi psihoaktivnih snovi. Med pandemijo covida-19 se je povečala uporaba večine antidepresivov, medtem ko se je uporaba antipsihotikov in benzodiazepinov zmanjšala. Med NPS je bil najpogosteje zaznan 3-MMC. Raziskava je pokazala, da čistilne naprave številnih spojin ne odstranijo popolnoma, zato so bile zaznane tudi v površinskih vodah. Ocenjena so bila potencialna tveganja za vodne organizme, ovrednotena pa je bila tudi uporabnost aktivno-pasivnega vzorčenja (APS), ki se je pokazalo kot obetavna alternativa klasičnemu vzorčenju. Disertacija prispeva k razvoju metod za spremljanje psihoaktivnih snovi, izboljšuje uporabo pristopa WBE ter podpira oceno okoljskih tveganj in prihodnje programe monitoringa.

Maria Laimou Geraniou, Jožef Stefan International Postgraduate School, Ljubljana
Supervisor: Ester Heath, Jožef Stefan International Postgraduate School, Ljubljana

Psychoactive Pharmaceuticals and New Psychoactive Substance Residues in Wastewater and Receiving Waters: Epidemiological and Environmental Investigation

This doctoral dissertation investigates the occurrence, consumption patterns, and environmental fate of psychoactive pharmaceuticals and new psychoactive substances (NPS) in Slovenia. The study applies wastewater-based epidemiology (WBE) to estimate population-level drug use and evaluate the release of these compounds into the aquatic environment. Sensitive LC-MS/MS analytical methods were developed and validated for the determination of trace contaminants in different water matrices. An optimised SPE procedure enabled efficient processing of large sample series, while suspect-screening approaches facilitated the identification of emerging NPSs. The results demonstrated that storage conditions significantly affect biomarker stability. Wastewater analyses revealed temporal and spatial differences in substance consumption. During the COVID-19 pandemic, the use of most antidepressants increased, whereas antipsychotic and benzodiazepine consumption declined. Among NPSs, 3-MMC was the most frequently detected compound. The study further showed that conventional wastewater treatment does not completely remove many psychoactive compounds, leading to their presence in receiving surface waters. Potential ecological risks to aquatic organisms were assessed, and active-passive sampling (APS) proved to be a promising alternative to conventional composite sampling. The dissertation advances analytical methodologies, strengthens the application of WBE, and provides valuable knowledge for environmental risk assessment, surveillance of emerging contaminants, and future water-quality monitoring programmes.

Sebastjan Kralj, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru
Mentor: Marko Jukič, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru
Somentor: Urban Bren, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru

Razvoj in uporaba metod računalniške kemije pri načrtovanju terapevtskih sredstev proti covidu-19

Doktorska disertacija pomeni pomemben napredek pri integraciji metod računalniške kemije v razvoj zdravilnih učinkovin, pri čemer je osrednji poudarek na sistematični optimizaciji delovnega toka na primeru tarč SARS-CoV-2. Raziskovalni pristop je zasnovan kot integriran sukcesivni protokol, ki se začne z učinkovitim oblikovanjem kemijskega prostora prek razvitega odprtokodnega protokola molekularnih filtrov. Ti omogočajo kritično vrednotenje obsežnih molekularnih knjižnic in znatno povečujejo verjetnost za uspeh v zgodnjih fazah razvoja. Metodološki okvir smo nadaljevali z razvojem inovativne metode za kombinatorično mutagenezo *in silico* z veliko različnimi aplikacijami (npr. optimizacijo bioloških zdravil). Naslednji del optimizacije procesa zajema uporabo naprednih simulacij molekularne dinamike in metode izračuna proste energije, kot so MM/GBSA, LIE, TI in BAR. Bistveni prispevek disertacije pa je identifikacija spojine 372 z novoodkritim ksantinskim in 1,4,6-triaza-7-indenonskim skeletom. Zaviralec papainu podobne proteaze (PLpro) z inhibitorno koncentracijo IC_{50} 82 ± 34 µM je bil odkrit z molekularnim sidranjem tarčne knjižnice, potrjen pa z eksperimentalnimi podatki *in vitro*, kar dokazuje veliko zanesljivost predstavljenega integriranega protokola in njegovo uporabnost za pospešen razvoj novih zdravil.

Sebastjan Kralj, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, University of Maribor
Supervisor: Marko Jukič, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, University of Maribor
Co-supervisor: Urban Bren, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, University of Maribor

Development and Use of Computational Chemistry Methods for Designing COVID-19 Therapeutics

This doctoral dissertation represents a significant advance in the integration of computational chemistry methods into the drug development process, with a central focus on systematic workflow optimisation for SARS-CoV-2 virus targets. The research approach was designed as an integrated, sequential protocol that begins with efficient shaping of chemical space through a developed open-source molecular filter protocol. This enables critical evaluation of large molecular libraries and significantly increases the probability of success in the early stages of development. We continued the methodological framework by developing an innovative method for combinatorial *in silico* mutagenesis, with a wide spectrum of applications (e.g. optimisation of biological drugs). The next part of the process optimisation involved the use of advanced molecular dynamics simulations and free energy calculation methods, such as MM/GBSA, LIE, TI, and BAR. The essential contribution of the dissertation is the identification of compound 372 with a newly discovered xanthine and 1,4,6-triaza-7-indenone skeleton. The papain-like protease inhibitor (PLpro) with an inhibitory concentration IC_{50} of 82 ±34 µM was discovered by molecular docking of the target library and confirmed by *in vitro* experimental data, demonstrating the high reliability of the presented integrated protocol for the accelerated development of new therapeutics.

Martin Ljubič, Kemijski inštitut, Ljubljana, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Jure Borišek, Kemijski inštitut, Ljubljana
Somentor: Andrej Perdih, Kemijski inštitut, Ljubljana
Somentorica: Marija Sollner Dolenc, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Preučevanje imunskega receptorja NKG2A/CD94 ter načrtovanje zaviralcev kinaz Src z uporabo molekulskih simulacij

Imunski sistem je ključna obrambna linija organizma pred patogeni in rakavimi celicami ter je zaradi svojega potenciala za razvoj imunoterapij predmet intenzivnih raziskav. Rakave in senescentne celice na svoji površini izražajo inhibitorne ligande, kot je HLA-E, ki z vezavo na receptor NKG2A/CD94 zavirajo citotoksično aktivnost celic NK. V nalogi smo zgradili prvi celovit model receptorja NKG2A/CD94 in s simulacijami molekulske dinamike pokazali, da vezava HLA-E poveča izpostavljenost regij ITIM molekulam vode, kar omogoča njihovo fosforilacijo in nadaljnji prenos signala, ter s tem postavili model prenosa signala prek membrane. Pokazali smo tudi, da lipidno okolje pomembno vpliva na dinamiko receptorja s parametri, kot sta negativni naboj na površini in debelina membrane. Razvili smo novo metodologijo na podlagi vodnih farmakofornih modelov in jo uporabili pri načrtovanju zaviralcev na primeru kinaz Src, ki so udeležene pri prenosu signala prek NKG2A. Metoda je omogočila identifikacijo dveh novih zaviralcev kinaze, katerih vezavo smo dodatno ovrednotili s simulacijami molekulske dinamike. Raziskava je obenem pokazala večji potencial te metodologije kot ogrodja za racionalno načrtovanje učinkovin.

Martin Ljubič, National Institute of Chemistry, Ljubljana, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: Jure Borišek, National Institute of Chemistry, Ljubljana
Co-supervisor: Andrej Perdih, National Institute of Chemistry, Ljubljana
Co-supervisor: Marija Sollner Dolenc, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Investigation of Immune Receptor NKG2A/CD94 and Molecular Simulation-Based Design of Src Kinase Inhibitors

The immune system represents a key line of defence against pathogens and cancer cells and, due to its potential for the development of immunotherapies, is the subject of intensive research. Cancerous and senescent cells express inhibitory ligands such as HLA-E on their surface, which suppress the cytotoxic activity of NK cells by binding to the NKG2A/CD94 receptor. In this study, we constructed the first complete model of the NKG2A/CD94 receptor and used molecular dynamics simulations to show that HLA-E binding increases the exposure of ITIM regions to water molecules, enabling their phosphorylation and subsequent signal transduction. On this basis, we proposed a model of signal transduction through the membrane. We further demonstrated that the lipid environment significantly affects receptor dynamics through parameters such as a negative lipid charge and membrane thickness. Finally, we developed a new methodology based on water pharmacophore models and employed it to design inhibitors of Src kinases, which are involved in NKG2A signal transduction. The method enabled the identification of two new inhibitors, whose binding was further evaluated using molecular dynamics simulations. The study further highlighted the broader potential of this methodology as a tool for rational molecular design.

Žan Testen, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Marjan Jereb, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Oksidativne pretvorbe sulfoksiminov in sulfanilamidov

V doktorski disertaciji smo predstavili nove metode za oksidacijo in funkcionalizacijo potencialno biološko aktivnih funkcionalnih skupin, ki vsebujejo žveplo, predvsem z vidika za okolje neškodljive zelene kemije. Večina eksperimentov je bila povezana s sulfoksimini in njihovimi derivati *N*-SCF_3, ki so bioizosteri sulfonamidov in sulfonov ter se že uporabljajo v agrokemiji in farmacevtski industriji. Predstavili smo selektivne oksidacije sulfoksiminov *N*-SCF_3 do ustreznih produktov *N*-$SOCF_3$ in *N*-SO_2CF_3. Reakcije so potekale v za okolje neškodljivih topilih, ki jih je mogoče reciklirati, in z uporabo $NaOCl{\cdot}5H_2O$ kot zelenega oksidanta. Vsi produkti so bili v sodelovanju s konzorcijem EU-OPENSCREEN testirani na biološko aktivnost. Sulfoksimine smo tudi funkcionalizirali z zanimivo sulfonamidno funkcionalno skupino, ki smo jo prek premestitve *N*-fluorobenzensulfonamida generirali *in situ*. Na podlagi izračunov DFT smo predlagali možen potek reakcije. Reakcije na žveplu smo izvedli tudi na sulfanilamidih (R-$NHSCF_3$) in sulfinamide (R-$NHSOCF_3$) preizkusili kot reagente za prenos trifluorometansulfinske skupine (-$SOCF_3$) na različne indole.

Žan Testen, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Supervisor: Marjan Jereb, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

Oxidative Conversions of Sulfoximines and Sulfanilamides

In this doctoral thesis, we presented new methods for the oxidation and functionalisation of sulphur-containing functional groups with potential biological activity, with a strong focus on the environmentally benign aspects of green chemistry. The major part of the experimental work focused on sulfoximines and their *N*-SCF_3 derivatives, which are bioisosteres of sulfonamides and sulfones and are already used in agrochemicals and pharmaceuticals. We presented a selective oxidation of *N*-SCF_3 sulfoximines to their corresponding *N*-$SOCF_3$ and *N*-SO_2CF_3 products. Oxidations took place in environmentally benign, recyclable solvents, using $NaOCl{\cdot}5H_2O$ as a green oxidant. The method was also successfully scaled up, resulting in improved yields. All the products were also tested for biological activity in collaboration with EU-OPENSCREEN. In addition to oxidation reactions, sulfoximines were also functionalised with an interesting sulfonamide functional group, generated *in situ* via rearrangement of *N*-fluorobenzenesulfonamide. The reaction was also investigated from a mechanistic perspective and based on DFT calculations, and a plausible reaction pathway was proposed. Similar oxidations of sulphur were also performed on sulfanilamides (R-$NHSCF_3$), and sulfinamides (R-$NHSOCF_3$) were further evaluated as reagents for the transfer of the trifluoromethanesulfinate group (-$SOCF_3$) to various indoles.

Elvira Boršić Mlinarič, Kemijski inštitut, Ljubljana, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Iva Hafner Bratkovič, Kemijski inštitut, Ljubljana

Mehanizem aktivacije inflamasoma NLRP3 in priprava umetnih inflamasomov

Inflamasomi so večproteinski kompleksi, ki nastanejo kot odziv na okužbe ali poškodbe tkiva in aktivirajo vnetne kaspaze. Med njimi izstopa inflamasom NLRP3, saj se odziva na izjemno raznolike aktivatorje, kot so mikrobi, amiloidi, azbestna vlakna in ionsko neravnovesje. NLRP3 po zaznavi aktivatorja oligomerizira, veže adapter ASC in prokaspazo 1, ti pa tvorijo inflamasom in omogočajo aktivacijo kaspaze 1. Ta cepi provnetne citokine in gasdermin D (GSDMD), katerega N-končna domena tvori pore v plazmalemi in povzroči litično celično smrt. Nenadzorovana aktivacija inflamasoma NLRP3 se povezuje s sladkorno boleznijo, srčno-žilnimi in nevrodegenerativnimi boleznimi ter rakom. Kljub intenzivnim raziskavam ostaja še veliko vprašanj v začetnih in poznih korakih aktivacije inflamasoma. V doktorskem delu smo s sinteznobiološkim pristopom raziskali, kako lahko isti aktivator sproži aktivacijo NLRP3 na različnih znotrajceličnih mestih. Pokazali smo, da se NLRP3 aktivira na membranah in proteinskih ogrodjih, kjer tvori skupke, ki spodbujajo nastanek inflamasoma. Ugotovili smo tudi, da oksidativno okolje pospeši delovanje porotvorne domene GSDMD prek cisteina 192. Poleg tega smo zasnovali umetne inflamasome, ki temeljijo na spontani oligomerizaciji signalnih komponent adapterjev prirojene imunosti, MAVS, TRIF in MyD88. Ti so izzvali sproščanje vnetnih citokinov, dodatek porotvornih domen GSDMD in MLKL pa je sprožil vnetno celično smrt. Ti moduli so v rakavih celicah sprožili izražanje citokinov in celično smrt, kar nakazuje terapevtski potencial, da bi se tumorsko mikrookolje preoblikovalo za okrepljen protitumorski imunski odziv.

Elvira Boršić Mlinarič, National Institute of Chemistry, Ljubljana, Faculty of Medicine, University of Ljubljana
Supervisor: Iva Hafner Bratkovič, National Institute of Chemistry, Ljubljana

Mechanism of NLRP3 Inflammasome Activation and Design of Synthetic Inflammasomes

Inflammasomes are multiprotein complexes that assemble in response to infection or tissue damage. Among them, the NLRP3 inflammasome stands out as it responds to an exceptionally wide range of stimuli, including microbes, amyloids, asbestos fibers and ionic imbalance. Upon sensing such signals, NLRP3 oligomerises and recruits the adaptor ASC and pro-caspase-1, which together form the inflammasome and enable the activation of caspase-1. Active caspase-1 cleaves pro-inflammatory cytokines and gasdermin D (GSDMD), whose N-terminal fragment inserts into the plasma membrane and induces lytic cell death. Dysregulated NLRP3 activation contributes to diabetes, cardiovascular and neurodegenerative diseases, and cancer. Despite intensive research, many aspects of the upstream and downstream signalling pathways governing inflammasome activation remain poorly understood. In this doctoral thesis, we used a synthetic biology approach to investigate how the same stimulus could activate NLRP3 at distinct subcellular sites. We showed that NLRP3 could be activated on membranes and protein scaffolds, where it formed clusters that promoted inflammasome assembly. We further demonstrated that oxidative environments enhanced the activity of the pore-forming domain of GSDMD through cysteine 192. In addition, we designed synthetic inflammasomes based on the spontaneous oligomerisation of signalling components derived from innate immune adaptors, MAVS, TRIF, and MyD88. These induced the release of inflammatory cytokines, whereas the addition of the pore-forming domains of GSDMD and MLKL triggered inflammatory cell death. These modules induced cytokine expression and cell death in cancer cells, indicating therapeutic potential to remodel the tumour microenvironment toward an enhanced tumour immune response.

Eirini Andreasidou, Mednarodna podiplomska šola Jožefa Stefana, Ljubljana
Mentorica: Ester Heath, Mednarodna podiplomska šola Jožefa Stefana, Ljubljana
Somentorica: Ana Kovačič, Mednarodna podiplomska šola Jožefa Stefana, Ljubljana

Privzem in prenos onesnaževal, ki vzbujajo zaskrbljenost, v paradižnik (*Solanum lycopersicum* L.) ter ocena tveganj pri uporabi prečiščene odpadne vode in blata v kmetijstvu

Ponovna uporaba prečiščene odpadne vode (POV) in komunalnega blata prispeva k ohranjanju vodnih virov, trajnostnemu kmetijstvu in razvoju krožnega gospodarstva. Znano je, da prečiščena odpadna voda vsebuje onesnaževala, ki vzbujajo zaskrbljenost (contaminants of emerging concern, CEC), zato njena uporaba v kmetijstvu odpira vprašanja glede privzema CEC v rastline, kot je paradižnik, ter glede mogočih vplivov na varnost hrane in zdravje potrošnikov. V raziskavi smo proučevali privzem in prenos ostankov CEC v rastline paradižnika, bioakumulacijo v njih in s tem povezana tveganja pri različnih scenarijih namakanja s POV in uporabe komunalnega blata. V ta namen smo optimizirali in validirali postopke priprave vzorcev okoljskih in rastlinskih matrik za analizo z LC-MS/MS. Pri realističnih pogojih namakanja s POV je bil od 27 proučevanih CEC v plodovih paradižnika iz poljskih poskusov kvantificiran le karbamazepin. Pri vseh poskusih, pri katerih je bila obravnava obogatena s CEC, je bil privzem CEC v skladu z značilnim vzorcem porazdelitve največji v koreninah, nato v listih, steblih, plodovih. Ocena prehranske izpostavljenosti je pokazala majhno tveganje za zdravje ljudi, medtem ko je ocena ekološkega tveganja pokazala, da lahko dolgotrajno namakanje s POV in uporaba komunalnega blata povzročita kopičenje CEC v tleh. Raziskava prinaša nova spoznanja o privzemu CEC in z njimi povezanih tveganjih v sistemih ponovne uporabe vode in komunalnega blata v kmetijstvu ter podpira njihovo varno in trajnostno ponovno uporabo.

Eirini Andreasidou, Jožef Stefan International Postgraduate School, Ljubljana
Supervisor: Ester Heath, Jožef Stefan International Postgraduate School, Ljubljana
Co-supervisor: Ana Kovačič, Jožef Stefan International Postgraduate School, Ljubljana

Uptake, Translocation, and Risks of Contaminants of Emerging Concern in Tomato (*Solanum Lycopersicum* L.) Cultivation Using Treated Wastewater and Sludge

Agricultural reuse of treated wastewater (TWW) and sewage sludge supports freshwater conservation, sustainable agriculture, and the circular economy. However, treated wastewater is known to contain contaminants of emerging concern (CECs), and its use in agriculture raises serious concerns regarding CEC uptake in crops, such as tomatoes, potentially compromising food safety and consumer health. This research investigated the uptake, translocation, bioaccumulation, and associated risks of CEC residues in tomato plants cultivated under different TWW irrigation and sludge amendment scenarios. Sample preparation methods for environmental and plant matrices were optimised and validated using LC-MS/MS. Under realistic TWW irrigation, only carbamazepine was quantified in field-grown tomatoes among the 27 studied CECs. Across all experiments, spiked treatments exhibited higher contaminant uptake, with a typical distribution pattern of roots > leaves > stems > fruits. Moreover, although a dietary exposure assessment indicated low risks to human health, environmental assessments revealed that long-term TWW irrigation and sludge application may result in the accumulation of CECs in soil. Overall, the results improve our understanding of CEC uptake and associated risks in agricultural reuse systems, supporting the safe and sustainable reuse of treated wastewater and sewage sludge.

Selena Horvat, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Anja Pišlar, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Vloga gamaenolaze pri razvoju in degeneraciji celic centralnega živčnega sistema

Celice centralnega živčnega sistema (CŽS) za razvoj, preživetje in regeneracijo potrebujejo usklajeno nevrotrofično signalizacijo. Pomemben, vendar še ne povsem pojasnjen regulator teh procesov je γ-enolaza, glikolitični encim z nevrotrofičnim delovanjem, katerega aktivno obliko uravnava cisteinska peptidaza katepsin X. Doktorska disertacija opredeljuje vlogo γ-enolaze in katepsina X v različnih celičnih tipih CŽS ter njun pomen pri diferenciaciji, nevrovnetju in nevrodegeneraciji. Raziskave so pokazale, da aktivna γ-enolaza spodbuja diferenciacijo nevronov, rast nevritov in zorenje celic CŽS, zaviranje katepsina X pa krepi njeno delovanje. V celičnih modelih Alzheimerjeve in Parkinsonove bolezni sta mimetični peptid γ-enolaze in zaviranje katepsina X izboljšala stabilnost citoskeleta in preživetje nevronov. Učinke zaviranja katepsina X smo potrdili tudi v celicah glije, kjer se je zvišala raven aktivne γ-enolaze, zmanjšal vnetni odziv mikroglije in spodbudila diferenciacija oligodendrocitov. V *in vivo* modelu nevrovnetja smo potrdili povezavo med aktivno γ-enolazo, regeneracijskimi procesi in aktivnostjo katepsina X. Naloga opredeljuje terapevtsko relevanten mehanizem, pri katerem katepsin X z uravnavanjem aktivne oblike γ-enolaze vpliva na preživetje, diferenciacijo, vnetni odziv in regeneracijski potencial celic CŽS. S tem naloga vzpostavlja izhodišče za razvoj zaviralcev katepsina X, γ-enolaznih mimetikov in predkliničnih modelov za vrednotenje učinkovin z nevroprotektivnim in regenerativnim delovanjem.

Selena Horvat, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: Anja Pišlar, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Role of Gamma-Enolase in Development and Degeneration of Central Nervous System Cells

Cells of the central nervous system (CNS) require coordinated neurotrophic signalling for development, survival, and regeneration. An important, yet still insufficiently understood, regulator of these processes is γ-enolase, a glycolytic enzyme with neurotrophic activity whose active form is regulated by the cysteine peptidase cathepsin X. This doctoral dissertation defines the roles of γ-enolase and cathepsin X in different CNS cell types and their relevance to differentiation, neuroinflammation, and neurodegeneration. The results show that active γ-enolase promotes neuronal differentiation, neurite outgrowth, and maturation of CNS cells, while inhibition of cathepsin X enhances its activity. In cellular models of Alzheimer's and Parkinson's diseases, both the γ-enolase mimetic peptide and cathepsin X inhibition improved cytoskeletal stability and neuronal survival. The effects of cathepsin X inhibition were also confirmed in glial cells, where active γ-enolase levels increased, microglial inflammatory responses were reduced, and oligodendrocyte differentiation was promoted. In an *in vivo* model of neuroinflammation, the association between active γ-enolase, regenerative processes, and cathepsin X activity was confirmed. The dissertation identifies a therapeutically relevant mechanism in which cathepsin X, by regulating the active form of γ-enolase, affects the survival, differentiation, inflammatory responses, and the regenerative potential of CNS cells. It thereby establishes a basis for the development of cathepsin X inhibitors, γ-enolase mimetics, and preclinical models for evaluating compounds with neuroprotective and regenerative activity.

Ana Siljanovska Virant, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Janez Cerkovnik, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Strukturna karakterizacija verižnih trioksidov in njihovih kovinskih in organokovinskih kompleksov

V doktorski disertaciji smo raziskali strukturo izmuzljive molekule trioksidana (H_2O_3) in njegovih derivatov z različnimi metodami stabilizacije in jih karakterizirali z rentgensko difrakcijo na monokristalih. Za ujetje H_2O_3 prek vodikovih vezi smo kot akceptorje vodikovih vezi uporabili okside organopniktogenov(V). Najprej smo sintetizirali in strukturno karakterizirali več novih kokristalov s Ph_3AsO in H_2O_2 ter *gem*-dihidroperoksidi. Gre za prvo sistematično študijo kokristalov s Ph_3AsO, ki pomembno prispeva k razumevanju njegove kemije in dokazuje njegov potencial za uporabo v kristalnem inženirstvu. Ta spoznanja so bila ključna za pripravo in izolacijo kokristalov Ph_3AsO s H_2O_3. Določili smo prvo kristalno strukturo *anti*-H_2O_3, prav tako pa smo v kokristalu s Ph_3PO ujeli in karakterizirali tudi manj stabilen *syn*-konformer. Najučinkovitejši akceptor vodikovih vezi je bil Me_3PO, saj je trioksidan v tem kokristalu v *anti*-konformaciji dobro vpet med majhnimi molekulami Me_3PO, kar je omogočilo natančno določitev njegovih geometrijskih parametrov. Ta raziskava pomembno prispeva k razumevanju tvorbe kokristalov in načel kristalnega inženirstva, ki imajo ključno vlogo pri načrtovanju novih materialov in farmacevtskih trdnih oblik. Razvili in izpopolnili smo tudi nizkotemperaturne metode izolacije in karakterizacije, ki omogočajo določanje struktur kratkoživih, nestabilnih in eksotičnih molekul ter bi se lahko uporabljale na različnih področjih sodobne kemije.

Ana Siljanovska Virant, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Supervisor: Janez Cerkovnik, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

Structural Characterisation of Straight-Chain Trioxides and Their Metal and Organometallic Complexes

The aim of this doctoral thesis was to gain insight into the structure of the elusive trioxidane molecule (H_2O_3) and its derivatives by different methods of stabilisation and subsequent structural characterisation by single-crystal X-ray diffraction. To capture H_2O_3 by hydrogen bonding, organopnictogen(V) oxides were investigated as hydrogen-bond acceptors. Several new cocrystals of Ph_3AsO with H_2O_2 and *gem*-dihydroperoxides were obtained and structurally characterised. This represented the first systematic study of hydrogen-bonded cocrystals with Ph_3AsO, expanding the understanding of its chemistry and demonstrating its potential for crystal engineering. Hydrogen-bond formation further enabled the preparation of Ph_3AsO cocrystals with H_2O_3. This work reports the first structure of *anti*-H_2O_3 in the solid state and the first structural information on the less stable *syn* conformer of H_2O_3 in a cocrystal with Ph_3PO. Me_3PO proved to be the most suitable hydrogen-bond acceptor for cocrystal formation, as trioxidane within the crystal structure is well embedded as *anti*-H_2O_3 between the small Me_3PO molecules, enabling precise determination of the geometric parameters of trioxidane. Beyond providing fundamental insight into the stabilisation and structural characterisation of short-lived, highly unstable molecules, this research advances the understanding of cocrystal formation and crystal engineering, which are central to the design of new materials and pharmaceutical solid forms. In addition, improved low-temperature isolation and characterisation techniques were developed, providing broadly applicable tools for modern chemical research.

Veronika Weiss, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Žiga Jakopin, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentorica: Martina Gobec, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Imunotoksično in endokrino delovanje sestavin potrošniških izdelkov in njihovih derivatov

V vsakdanjem življenju smo neprestano izpostavljeni različnim kemikalijam iz gospodinjskih izdelkov in izdelkov za osebno nego, vključno s parabeni, bisfenoli, alkilfenoli in UV-filtri, ki so znani endokrini motilci. Njihovi halogenirani derivati, ki lahko nastajajo med dezinfekcijo, so še slabo raziskani, zato smo se v okviru doktorske disertacije odločili ovrednotiti njihovo endokrino delovanje ter proučiti imunomodulacijske učinke organskih UV-filtrov. Pripravili smo knjižnico halogeniranih derivatov, za katere smo predvideli, da lahko nastanejo, ter ovrednotili njihovo agonistično in antagonistično delovanje na tiroidni receptor in receptor za aril ogljikovodike. Ugotovili smo, da halogeniranje v primerjavi s starševskimi spojinami pogosto okrepi modulacijo obeh receptorjev. Izmed osmih UV-filtrov je bilo imunomodulacijsko delovanje najizrazitejše pri avobenzonu. Vplival je tudi na diferenciacijo in delovanje Langerhansovim celicam podobnih celic, ki so v koži, zato so UV-filtrom najbolj izpostavljene. Z rezultati smo dopolnili toksikološke profile proučevanih spojin in tako prispevali k boljši oceni tveganja in varnejši uporabi teh kemikalij v potrošniških izdelkih.

Veronika Weiss, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: Žiga Jakopin, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: Martina Gobec, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Immunotoxic and Endocrine Activity of Consumer Product Ingredients and Their Derivatives

In everyday life, we are continuously exposed to various chemicals present in household and personal care products, including parabens, bisphenols, alkylphenols, and UV filters, which are known endocrine disruptors. However, their halogenated derivatives, which may form during disinfection, remain poorly studied. This doctoral dissertation evaluated the endocrine activity of these derivatives and the immunomodulatory effects of organic UV filters. To this end, we synthesised a library of halogenated derivatives predicted to form under environmental conditions and assessed their agonistic and antagonistic activity toward the thyroid hormone receptor and the aryl hydrocarbon receptor. Halogenation frequently enhanced the modulation of both receptors compared with the parent compounds. Among the eight UV filters examined, avobenzone showed the strongest immunomodulatory activity. It also affected the differentiation and function of Langerhans cell-like cells, which are skin-resident immune cells, therefore directly exposed to UV filters. Our research contributed to a more comprehensive toxicological profile of these chemicals, supporting their safer use.

Edvin Purić, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Marko Anderluh, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Načrtovanje, sinteza in vrednotenje novih zaviralcev in himernih razgrajevalcev človeškega galektina-8

Galektin-8 ima pomembno vlogo v prirojenem in pridobljenem imunskem odzivu ter je vključen v številne fiziološke procese in bolezni, zaradi česar je privlačna tarča za razvoj selektivnih zaviralcev. V okviru doktorske naloge smo razvili prve zaviralce galektina-8N z vrednostmi K_d v nanomolarnem območju in izboljšano selektivnostjo do galektina-3 v primerjavi s spojino vodnico. Izotermna titracijska kalorimetrija (ITC) je pokazala pomembne razlike v entalpijskih in entropijskih prispevkih k vezavi ter zanimiv termodinamičen odtis izbranih zaviralcev galektina-8N. Pridobili smo kristalno strukturo 2-O-propargilnega derivata v kompleksu z N-končno domeno galektina-8, ki nakazuje interakcijo med acetilenskim delom liganda in gvanidinskim delom stranske verige Arg45. Nadaljnji kvantnomehanski izračuni so potrdili novo vrsto interakcije, ki še ni bila opisana in jo lahko označimo kot nekanonično interakcijo kation–π. Poleg tega smo dokazali, da je test fluorescenčne polarizacije zanesljiva metoda za rešetanje visoke zmogljivosti zaviralcev galektina-8N. Hkrati smo pripravili novo fluorescenčno sondo, ki zahteva manj sinteznih korakov kot tetrasaharidna sonda, ki se večinoma uporablja pri rešetanju zaviralcev galektina-8N. Uspešno smo zasnovali sondo BODIPY in dokazali njeno uporabnost pri proučevanju lektinov v testih na osnovi fluorescence. Kot prvi smo načrtovali, sintetizirali in biološko ovrednotili himerni razgrajevalec galektina-8, ki je povzročil razgradnjo galektina-3 in galektina-8 v celicah raka dojke. S testom angiogeneze *in vitro* smo pokazali tudi spremembe v tvorbi endotelijskih cevk.

Edvin Purić, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: Marko Anderluh, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Design, Synthesis, and Evaluation of Novel Inhibitors and Proteolysis-Targeting Chimeras for Human Galectin-8

Galectin-8 plays an important role in both innate and adaptive immune responses and is involved in numerous physiological processes and diseases, making it an attractive target for the development of selective inhibitors. In this doctoral work, we designed the first galectin-8N inhibitors with K_d values in the nanomolar range and improved selectivity over galectin-3 compared with the lead compound. Isothermal titration calorimetry (ITC) revealed significant differences in the enthalpic and entropic contributions to binding and a distinctive thermodynamic fingerprint of selected galectin-8N inhibitors. We obtained a crystal structure of a 2-*O*-propargyl derivative in complex with the N-terminal domain of galectin-8, indicating an interaction between the acetylene moiety of the ligand and the guanidinium group of Arg45. Subsequent quantum mechanical calculations confirmed a previously unidentified type of interaction, characterised as a non-canonical cation-π interaction. Furthermore, we demonstrated that the fluorescence polarisation assay is a reliable high-throughput screening method for galectin-8N inhibitors. In parallel, we developed a new fluorescent probe that requires fewer synthesis steps than the tetrasaccharide probe commonly used for galectin-8N inhibitor screening. We successfully designed a BODIPY probe and demonstrated its applicability in lectin studies using fluorescence-based assays. Finally, we designed, synthesised, and biologically evaluated the first chimeric degrader targeting galectin-8, which induced the degradation of galectin-3 and -8 in breast cancer cells. An *in vitro* angiogenesis assay revealed changes in endothelial tube formation.

Tadej Ojsteršek, Krka, d. d., Novo mesto, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Franc Vrečer, Krka, d. d., Novo mesto, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: Grega Hudovornik, Krka, d. d., Novo mesto, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Vpliv polnil in s funkcionalnostjo povezanih lastnosti hipromeloze na sproščanje slabo vodotopne zdravilne učinkovine iz ogrodnih tablet

Hidrofilne ogrodne tablete na osnovi hipromeloze (HPMC) omogočajo podaljšano sproščanje zdravilnih učinkovin, vendar lahko medserijsko variiranje s funkcionalnostjo povezanih lastnosti HPMC vpliva na kakovost sproščanja. V doktorski nalogi smo na tabletah, izdelanih z direktnim stiskanjem, proučili vpliv vrste polnila, lastnosti HPMC K15M in njihovega medsebojnega delovanja na sproščanje karvedilola kot modelne slabo vodotopne zdravilne učinkovine. Med vodotopnimi polnili sta najmanjše sipanje sproščanja in zanemarljivo začetno hitro sproščanje zagotovila polietilenglikol 8000 in polietilenoksid, med nevodotopnimi pa mikrokristalna celuloza in etilceluloza. Klasični matematični modeli sproščanja niso bili univerzalno uporabni za vse eksperimentalne profile, medtem ko je lokalna regresija LOESS omogočila zanesljivejšo oceno deleža sproščene učinkovine, začetnega hitrega sproščanja in časa zakasnitve. Z načrtom poskusov in multivariatno analizo smo potrdili pomemben vpliv lastnosti HPMC, deležev laktoze in mikrokristalne celuloze ter njihovih interakcij na povprečno sproščanje in njegovo variabilnost. Med primerjanimi napovednimi pristopi je bila multipla linearna regresija najbolj robustna. Rezultati podpirajo prilagajanje deležev polnil lastnostim posamezne serije HPMC kot uporaben pristop za zagotavljanje ponovljivega sproščanja.

Tadej Ojsteršek, Krka, d. d., Novo mesto, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: Franc Vrečer, Krka, d. d., Novo mesto, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: Grega Hudovornik, Krka, d. d., Novo mesto, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Influence of Fillers and Functionality-Related Characteristics of Hypromellose on Release of Poorly Water-Soluble Active Pharmaceutical Ingredient from Matrix Tablets

Hydrophilic matrix tablets based on hypromellose (HPMC) enable prolonged drug release, but batch-to-batch variation in the functionality-related characteristics of HPMC may affect release performance. In this doctoral dissertation, directly compressed tablets were used to investigate the effects of filler type, the characteristics of HPMC K15M, and their interactions on the release of carvedilol as a model poorly water-soluble active pharmaceutical ingredient. Among the water-soluble fillers, polyethylene glycol 8000 and polyethylene oxide provided the lowest release variability and a negligible initial burst, whereas microcrystalline cellulose and ethylcellulose performed best among the water-insoluble fillers. Conventional mathematical release models were not universally applicable to all experimental profiles, while LOESS local regression enabled a more reliable assessment of the released fraction, initial burst, and lag time. Design of experiments and multivariate analysis confirmed significant effects of HPMC characteristics, the proportions of lactose and microcrystalline cellulose, and their interactions on both mean release and release variability. Among the predictive approaches compared, multiple linear regression proved to be the most robust. The results support adjustment of filler proportions to the properties of an individual HPMC batch as a useful strategy for achieving reproducible drug release.

Nika Marolt, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Tea Lanišnik Rižner, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

Vpliv metabolizma estrogenov in aldo-keto reduktaz na kemorezistenco raka jajčnikov

Serozni karcinom jajčnikov visokega gradusa (HGSOC) je najsmrtonosnejša oblika raka jajčnikov, predvsem zaradi razvoja kemorezistence proti standardni kemoterapiji, zato so potrebni novi terapevtski pristopi. Čeprav razvoj raka jajčnikov povezujejo s čezmernim delovanjem estrogenov, encimi aldo-keto reduktaze (AKR) pa so pri različnih vrstah raka povezani z odpornostjo proti zdravljenju, njuna vloga pri kemorezistenci HGSOC ostaja slabo raziskana. Namen raziskovalnega dela je bil proučiti vlogo lokalne sinteze estrogenov in encimov AKR 1C1–1C3 pri kemorezistenci HGSOC. Na podlagi transkriptomskih in proteomskih analiz tkiv HGSOC in šestih celičnih linij HGSOC smo identificirali spremembe v izražanju genov in proteinov, povezanih z estrogensko signalizacijo in encimi AKR1C, ki so povezane z odzivom na zdravljenje s platino in preživetjem bolnic. Tako smo identificirali nove prognostične bioznačevalce in terapevtske tarče. Nato smo ovrednotili terapevtski potencial že obstoječih učinkovin, usmerjenih proti identificiranim terapevtskim tarčam. Proučili smo inhibitor steroid sulfataze STX64, ki je v kliničnem razvoju za zdravljenje raka dojk, ter inhibitorja AKR1C medroksiprogesteron acetat (MPA) in mefenaminsko kislino (MEF), ki se v klinični praksi že uporabljata za druge indikacije. Funkcijske študije (proliferacija, migracija, apoptoza in 3D-modeli) so potrdile protitumorsko delovanje proučevanih učinkovin, pri čemer sta MPA in MEF okrepila učinek kemoterapije. Rezultati pomembno prispevajo k razumevanju molekulskih mehanizmov kemorezistence ter identificirajo nove prognostične bioznačevalce in terapevtske tarče pri HGSOC. Hkrati dokazujejo potencial repozicioniranja obstoječih zdravil za premagovanje kemorezistence in razvoj novih, ciljno usmerjenih terapevtskih strategij.

Nika Marolt, Faculty of Medicine, University of Ljubljana
Supervisor: Tea Lanišnik Rižner, Faculty of Medicine, University of Ljubljana

Role of Estrogen Metabolism and Aldo-Keto Reductases in Chemoresistance of Ovarian Cancer

High-grade serous ovarian carcinoma (HGSOC) is the deadliest form of ovarian cancer, primarily due to the development of chemoresistance to standard chemotherapy, highlighting the need for new therapeutic approaches. Although the development of ovarian cancer is associated with excessive oestrogen activity, and aldo-keto reductase (AKR) enzymes are linked to treatment resistance in various cancers, their role in HGSOC chemoresistance remains poorly understood. The aim of this research was to investigate the role of local oestrogen synthesis and AKR1C1–3 enzymes in HGSOC chemoresistance. Based on transcriptomic and proteomic analyses of HGSOC tissues and six HGSOC cell lines, we identified changes in the expression of genes and proteins involved in oestrogen signalling and AKR1C enzymes that were associated with response to platinum-based therapy and patient survival, thereby defining novel prognostic biomarkers and therapeutic targets. Based on these results, we evaluated the therapeutic potential of existing agents targeting the identified therapeutic targets. We investigated the steroid sulfatase inhibitor STX64, which is being tested in clinical trial for the treatment of breast cancer, as well as the AKR1C inhibitors medroxyprogesterone acetate (MPA) and mefenamic acid (MEF), which are already used in clinical practice for other indications. Functional studies (proliferation, migration, apoptosis, and 3D models) confirmed the antitumour activity of the investigated agents, with MPA and MEF enhancing the effect of chemotherapy. The results significantly contribute to the understanding of the molecular mechanisms of chemoresistance and identify new prognostic biomarkers and therapeutic targets for HGSOC. Additionally, the study demonstrates the potential for repurposing existing drugs to overcome chemoresistance and for developing new, targeted therapeutic strategies.

Svit Ferjančič Benetik, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Aleš Obreza, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: Urban Košak, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Načrtovanje, sinteza in vrednotenje heteroaromatskih dvojnih zaviralcev butirilholin eteraze in z mitogenom aktivirane protein kinaze p38α

S staranjem prebivalstva postaja Alzheimerjeva bolezen (AB) vse večji izziv za svetovne zdravstvene sisteme. Pri slabšanju kognitivnih sposobnosti bolnikov z AB ima pomembno vlogo butirilholin esteraza (BChE). V procesu nevrodegeneracije pa je prek nevrovnetja in hiperfosforilacije proteina tau dokazano močno udeležena z mitogenom aktivirana protein kinaza p38α (p38α MAPK). V doktorski disertaciji smo zato računalniško načrtovali, sintetizirali in ovrednotili prvi strukturni razred dvojnih zaviralcev BChE in p38α MAPK. Najobetavnejši spojini te serije ligandov z osrednjim indazolnim skeletom sta izkazovali ugoden fizikalno-kemični in toksikološki profil *in vitro* ter bili učinkoviti v *in vivo* modelih kognitivnih motenj. Na podlagi kristalnih struktur omenjenih spojin na aktivnih mestih obeh encimov smo nato uspešno pripravili serijo karbamatnih pleiotropnih predzdravil, ki po psevdoireverzibilni vezavi na Ser198 BChE sprostijo kompetitivnega zaviralca p38α MAPK. V želji po razvoju močnejših zaviralcev p38α MAPK, ki ostanejo visoko selektivni v primerjavi z drugimi kinazami, smo načrtovali še eno serijo karbamatnih dvojnih zaviralcev BChE in p38α MAPK, ki se kovalentno vežejo na aktivno mesto BChE in so hkrati alosterični modulatorji p38α MAPK. Z uvedbo karbamatne skupine smo pripravili spojine z majhno nanomolarno afiniteto do BChE in prokognitivnimi učinki v *in vivo* modelu kognitivnega upada pri miših.

Svit Ferjančič Benetik, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: Aleš Obreza, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: Urban Košak, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Design, Synthesis, and Evaluation of Heteroaromatic Dual Inhibitors of Butyrylcholinesterase and p38α Mitogen-Activated Protein Kinase

With an aging population, Alzheimer's disease (AD) is becoming an increasingly significant challenge for global healthcare systems. Butyrylcholinesterase (BChE) plays a key role in the cognitive decline during AD, whereas p38α mitogen-activated protein kinase (p38α MAPK) contributes to neurodegeneration through neuroinflammation and tau protein hyperphosphorylation. In this doctoral thesis, we therefore computationally designed, synthesised, and evaluated first-in-class dual BChE/p38α MAPK inhibitors. The most promising compounds of these indazole-based ligands demonstrated a favourable physicochemical and toxicological profile *in vitro* and efficacy in *in vivo* models of cognitive impairment. Based on the crystal structures of these compounds within the active sites of both enzymes, we then prepared a series of carbamate pleiotropic prodrugs that, upon pseudo-irreversible binding to Ser198 of BChE, release a competitive p38α MAPK inhibitor. In an effort to develop more potent yet still selective p38α MAPK inhibitors, we designed another series of carbamate dual BChE/p38α MAPK inhibitors that bind covalently to the active site of BChE while simultaneously acting as allosteric modulators of p38α MAPK. By introducing a carbamate group, we prepared compounds with low nanomolar affinity for BChE and pro-cognitive effects in an *in vivo* model of cognitive decline in mice.

Marija Gjorgoska, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Tea Lanišnik Rižner, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

Vloga androgenih hormonov in 11-oksiandrogenih metabolitov pri raku endometrija in raku jajčnikov

Rak endometrija (EC) in serozni rak jajčnikov visoke stopnje malignosti (HGSOC) sta ginekološki maligni bolezni z naraščajočo incidenco in pomembnimi neizpolnjenimi terapevtskimi potrebami, zlasti pri HGSOC, za katerega sta značilna kemorezistenca in slabo preživetje bolnic. Ta disertacija sistematično obravnava vlogo androgenov in njihovih 11-oksigeniranih derivatov (11-oksiandrogenov) pri EC in HGSOC ter opredeljuje nove terapevtske tarče in diagnostične biooznačevalce. Z uporabo integrativnega pristopa, ki vključuje celične modele, tumorska tkiva in prospektivne klinične kohorte z vzorci seruma ter LC-MS/MS-profiliranje steroidov, tarčne in netarčne transkriptomske in metabolomske analize ter metode strojnega učenja, smo pokazali, da AKR1C3 učinkovito pretvarja predhodnike 11-oksiandrogenov v potenten agonist receptorja za androgene (AR) 11-ketotestosteron. Ta pot vodi do nekajkrat višjih ravni biološko aktivnih 11-oksiandrogenih metabolitov kot klasična biosinteza androgenov, zlasti v modelih EC nizke stopnje malignosti in kemosenzitivnega HGSOC. Ti izsledki opredeljujejo AKR1C3 in AR kot pomembni terapevtski tarči pri HGSOC, saj AKR1C3 spodbuja z AR posredovano aktivacijo signalnih poti, povezanih s celičnim ciklom in odzivom na stres. V tumorskih tkivih EC in HGSOC je bila višja izraženost genov *HSD11B2* in *AR* dosledno povezana z boljšim preživetjem bolnic, kar kaže na *HSD11B2* kot dodatno potencialno tarčo za terapevtsko modulacijo. Klinično je integracija predoperativnih serumskih steroidnih profilov z označevalcema CA125 in HE4 ter kliničnimi parametri izboljšala diagnostično natančnost (AUC 0,87 za EC; 0,91 za OC) in presegla učinkovitost obstoječih tumorskih biooznačevalcev. Skupaj ti rezultati opredeljujejo os 11-oksiandrogenov kot biološko aktivno pot, ki jo je mogoče izkoristiti za zdravljenje v ginekološki onkologiji.

Marija Gjorgoska, Faculty of Medicine, University of Ljubljana
Supervisor: Tea Lanišnik Rižner, Faculty of Medicine, University of Ljubljana

Role of Androgen Hormones and 11-Oxyandrogen Metabolites in Endometrial and Ovarian Cancers

Endometrial cancer (EC) and high-grade serous ovarian cancer (HGSOC) are gynaecological malignancies with an increasing incidence and substantial unmet therapeutic needs, particularly HGSOC, which is characterised by chemoresistance and poor survival. This dissertation systematically investigated the role of androgens and their 11-oxygenated derivatives (11-oxyandrogens) in EC and HGSOC, identifying novel therapeutic targets and diagnostic biomarkers. Using an integrated approach combining cell line models, tumour tissues, and prospective clinical cohorts with serum samples, alongside LC-MS/MS-based steroid profiling, targeted and untargeted transcriptomic and metabolomic analyses, and machine learning, we demonstrated that AKR1C3 efficiently converts 11-oxyandrogen precursors into the potent androgen receptor (AR) agonist 11-ketotestosterone. This pathway generates several-fold higher levels of AR-activating metabolites than the classical androgen biosynthesis, particularly in low-grade EC and chemo-sensitive HGSOC models. These findings establish AKR1C3 and AR as actionable therapeutic targets in HGSOC by driving AR-mediated activation of cell cycle and stress response pathways. In tumour samples from both EC and HGSOC, higher expression of HSD11B2 and AR was consistently associated with improved survival, suggesting that HSD11B2 may represent an additional candidate target. Clinically, integrating preoperative serum steroid profiles with CA125, HE4, and clinical parameters improved diagnostic accuracy (AUC 0.87 for EC; 0.91 for OC), outperforming tumour biomarkers. Together, these findings establish the 11-oxyandrogen axis as a biologically active and therapeutically tractable pathway in gynaecological oncology.

Urh Pucihar, Krka, d. d., Novo mesto, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Tilen Kopač, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Samooptimizacija Claisen-Schmidtove kondenzacije na mikropretočnem reakcijskem sistemu

Razvit je bil avtonomni samooptimizacijski mikropretočni sistem, eksperimentalno potrjen s Claisen-Schmidtovo kondenzacijo 2-metoksibenzaldehida in acetona. Sistem združuje mikropretočni reaktor, procesne analitske tehnologije (linijski FTIR in oblinijski UPLC) in večciljni optimizacijski algoritem TSEMO. Avtomatizirano krmiljenje, zaznavanje stacionarnega stanja in analize omogoča programska oprema v pythonu. Za modelno reakcijo, ki poteka v dveh stopnjah, je bil razvit kinetični model, ki upošteva temperaturno in koncentracijsko odvisnost tvorbe intermediata in končnega produkta. Avtonomni sistem je hitro konvergiral k optimalnim reakcijskim pogojem, pri katerih je bila dosežena največja vsebnost dienona, tj. 69,1 % (UPLC area %). Eksperimentalni rezultati so se z modelskimi napovedmi ujemali znotraj 10-odstotnega območja, kar potrjuje zanesljivost pristopa. Rezultati potrjujejo, da je kompleksne kemijske reakcije mogoče avtonomno voditi in optimizirati brez ročnega poseganja. Sistem omogoča hitrejši razvoj procesov, manjšo porabo reagentov ter večjo ponovljivost in varnost, predstavlja pa tudi modularno osnovo za nadaljnjo avtomatizacijo in digitalizacijo kemijskih laboratorijev.

Urh Pucihar, Krka, d. d., Novo mesto, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Supervisor: Tilen Kopač, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

Self-Optimisation of Claisen-Schmidt Condensation on Microflow Reaction System

An autonomous self-optimising microflow system was developed and experimentally validated using the Claisen-Schmidt condensation of 2-methoxybenzaldehyde and acetone. The system integrates a microflow reactor, process analytical technologies (in-line FTIR and at-line UPLC), and the multi-objective optimisation algorithm TSEMO. Automated process control, steady-state detection, and analytical measurements are enabled by Python-based software. For the two-step model reaction, a kinetic model was developed that accounts for the temperature and concentration dependence of intermediate and final product formation. The autonomous system rapidly converged to optimal reaction conditions, achieving a maximum dienone content of 69.1% (UPLC area %). Experimental results agreed with model predictions within ±10%, confirming the reliability of the approach. The results demonstrate that complex chemical reactions can be autonomously operated and optimised without manual intervention. The system enables faster process development, reduced reagent consumption, and improved reproducibility and safety, and provides a modular platform for further automation and digitalisation of chemical laboratories.

Katja Šketa, Anja Tomazin, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Jasna But Hadžić, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Somentorica: Ivica Ratoša, Onkološki inštitut Ljubljana

Vpliv izpostavljenosti srca obsevanju na umrljivost po visokodoznem obsevanju raka pljuč

Visokodozno obsevanje prsnega koša je temelj kurativnega zdravljenja lokalno napredovalega pljučnega raka. Raziskava prinaša prvo slovensko analizo vpliva izpostavljenosti srca in posameznih srčnih struktur obsevanju na skupno preživetje po visokodoznem obsevanju prsnega koša na reprezentativni kohorti 460 bolnikov s pljučnim rakom. Dokazali smo neodvisno povezavo med večjo povprečno dozo na celotno srce (angl. mean heart dose, MHD ≥ 20 Gy) in slabšim skupnim preživetjem. Raziskava je relevantna tudi za širše področje farmacije, saj obravnava bolnike, zdravljene po sodobnem multimodalnem pristopu, ki poleg obsevanja vključuje tudi kemoterapijo in imunoterapijo. Posebno translacijsko vrednost predstavlja ugotovitev, da prisotnost pridruženih bolezni ni bila vedno povezana s slabšim preživetjem, kar odpira možnost zaščitne vloge sočasnega zdravljenja z antihipertenzivi in statini. Naša raziskava je tako izhodišče za prospektivne raziskave, ki bi lahko ovrednotile potencialno vlogo kardioprotektivnih zdravil kot dopolnila multimodalnega zdravljenja pri zmanjševanju neželenih učinkov obsevanja in izboljšanju dolgoročnih izidov zdravljenja bolnikov s pljučnim rakom.

Katja Šketa, Anja Tomazin, Faculty of Medicine, University of Ljubljana
Supervisor: Jasna But Hadžić, Faculty of Medicine, University of Ljubljana
Co-supervisor: Ivica Ratoša, Institute of Oncology, Ljubljana

Impact of Heart Exposure to Radiation on Mortality Following High-Dose Radiotherapy for Lung Cancer

High-dose radiation therapy to the chest is a fundamental component of curative treatment for locally advanced lung cancer. This study presents the first Slovenian analysis of the impact of radiation exposure to the heart and individual cardiac structures on overall survival following high-dose thoracic radiation therapy in a representative cohort of 460 patients with lung cancer. We demonstrated an independent association between a higher mean heart dose (MHD ≥ 20 Gy) and poorer overall survival. The study is also relevant to the broader field of pharmacy, as it addresses patients treated with a modern multimodal approach that includes chemotherapy and immunotherapy in addition to radiation therapy. Of particular translational value is the finding that the presence of pre-existing comorbidities was not always associated with poorer survival, raising the possibility of a protective role for concomitant treatment with antihypertensives and statins. Our study thus provides a basis for future research that could evaluate the potential role of cardioprotective drugs as an adjunct to multimodal therapy in reducing the adverse effects of radiation therapy and improving long-term treatment outcomes for patients with lung cancer.

Anja Pungartnik, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Anja Klančnik, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Somentorica: Martina Hrast Rambaher, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Fenotipska in genotipska karakterizacija mikrobne odpornosti ter filmotvornosti izbranih po Gramu pozitivnih in negativnih bakterij

Odpornost bakterij proti antibiotikom in tvorba biofilmov predstavljata pomemben izziv v živilski industriji in medicini, saj zmanjšujeta učinkovitost protimikrobnega zdravljenja in obvladovanja okužb. V raziskavo smo vključili po Gramu pozitivne bakterije (*Listeria monocytogenes, Listeria innocua* in *Staphylococcus aureus*) ter po Gramu negativni bakteriji (*Pseudomonas aeruginosa* in *Enterobacter cloacae*). Namen raziskave je bil ovrednotiti fenotipske lastnosti bakterij, povezane z odpornostjo proti antibiotikom in filmotvornostjo, ter jih primerjati z genotipskimi podatki, pridobljenimi s sekvenciranjem celotnega genoma. S tem smo želeli oceniti, v kolikšni meri je mogoče podatke sekvenciranja povezati z izraženimi fenotipi. Genotipska karakterizacija je na podlagi genov *aph(3')-IIb* in *blaCMH-3* omogočila izpostavitev dveh molekulskih mehanizmov odpornosti proti antibiotikom, in sicer encima aminoglikozid fosfotransferaze, mehanizma odpornosti proti kanamicinu, ter encima β-laktamaze, mehanizma odpornosti proti ampicilinu. Med najbolj filmotvornimi sevi smo izbrali bakterije *S. aureus* ATCC 25923 in testirali 862 aktivnih spojin knjižnice Fakultete za farmacijo. Med njimi smo določili 69 spojin s protibiofilmskim delovanjem ter izpostavili spojine 6C3, 6B3 in 6B4, ki oponašajo D-alanin, ter spojini 10C8 in 10D8, ki spadata med cianotiofenske zaviralce encima MurF.

Anja Pungartnik, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana
Supervisor: Anja Klančnik, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana
Co-supervisor: Martina Hrast Rambaher, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Phenotypic and Genotypic Characterisation of Microbial Resistance and Biofilm Formation of Selected Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria

Bacterial resistance to antibiotics and biofilm formation represent a significant challenge in the food industry and medicine, as they reduce the effectiveness of antimicrobial treatment and infection control. The study included Gram-positive bacteria (*Listeria monocytogenes, Listeria innocua* and *Staphylococcus aureus*) and Gram-negative bacteria (*Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter cloacae*). The aim of the study was to evaluate phenotypic properties of bacteria associated with antibiotic resistance and biofilm formation and to compare them with genotypic data obtained by whole-genome sequencing. This approach enabled the assessment of whether sequencing data can be linked to expressed phenotypes. Based on genes *aph(3')-IIb* and *blaCMH-3*, genotypic characterisation enabled the identification of two molecular mechanisms of antibiotic resistance, namely aminoglycoside phosphotransferase-mediated kanamycin resistance and β-lactamase-mediated ampicillin resistance. Among the strongest biofilm-forming strains, *S. aureus* ATCC 25923 was selected, and 862 compounds from the Faculty of Pharmacy compound library were tested. Among them, we identified 69 compounds with anti-biofilm activity and highlighted compounds 6C3, 6B3, and 6B4, which mimic D-alanine, as well as compounds 10C8 and 10D8, which belong to the cyanothiophene inhibitors of the MurF enzyme.

Tadej Humar, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: **Jurij Svete**, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Nove pretvorbe 3-azido-1-ciano-4-okso-4*H*-kinolizina in 3-azido-4-okso-4*H*-pirido[1,2-*a*]pirimidina

V magistrskem delu smo najprej sintetizirali sedem 3-benzamido-substituiranih pirido[1,2-*a*]pirimidinonov, kinolizinonov in pirimido[1,2-*b*]piradizinonov. *N*-(1-ciano-4-okso-4*H*-kinolizin-3-il)benzamid in *N*-(4-okso-4*H*-pirido[1,2-*a*]pirimidin-3-il)benzamid smo v naslednjem koraku hidrolizirali in dobljena amina nitrozirali ter v zadnjem koraku diazonijevi soli z natrijevim azidom pretvorili v 3-azido-1-ciano-4*H*-kinolizin-4-on in 3-azido-4*H*-pirido[1,2-*a*]pirimidin-4-on. Z dobljenima azidoma smo proučevali z bakrom katalizirane cikloadicije na terminalne alkine in nekatalizirano cikloadicijo na napeti ciklooktinski derivat. S temi cikloadicijami smo pod optimiziranimi pogoji sintetizirali deset novih spojin in jih nato okarakterizirali glede na njihovo strukturo in optične lastnosti. S 3-azido-4*H*-pirido[1,2-*a*]pirimidin-4-onom smo izvedli tudi fotokemične pretvorbe, pri katerih pa smo lahko potrdili le nastanek produkta med azidom in tetrahidrofuranom. Prav tako smo lahko predlagali nov ustreznejši in eksperimentalno podprt mehanizem termične pretvorbe azidov. Predlagani mehanizem je ustrezen tudi pri fotokemičnih pretvorbah, saj pretvorbe ne glede na način aktivacije najverjetneje potekajo prek skupnega nitrenskega intermediata. Na koncu smo z reakcijo med 3-benzamido-9-propargiloksi-4*H*-pirido[1,2-*a*]pirimidonom in 1,2-bis(2-azidoetoksi)etanom sintetizirali ustrezen bis-cikloadukt kot predhodnik homobifunkcionalnega fluorescenčnega označevalca.

Tadej Humar, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Supervisor: **Jurij Svete**, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

Novel Transformations of 3-Azido-1-Cyano-4-Oxo-4*H*-Quinolizine and 3-Azido-4-Oxo-4*H*-Pyrido[1,2-*a*]pyrimidine

In this master's thesis, we first synthesised seven 3-benzamido-substituted pyrido[1,2-*a*]pyrimidinones, quinolizinones, and pyrimido[1,2-*b*]pyrazinones. In the next step, *N*-(1-cyano-4-oxo-4*H*-quinolizin-3-yl) benzamide and *N*-(4-oxo-4*H*-pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-3-yl)benzamide were hydrolysed and the obtained amines were converted into the corresponding azides via nitrosation. Then, copper-catalysed cycloadditions of title azides to terminal alkynes and a strain-promoted cycloaddition to a cyclooctyne derivative were studied. Ten novel compounds were synthesised using these two cycloaddition reactions under optimised conditions. All novel compounds were characterised in terms of their structure and optical properties. Photochemical reactions of 3-azido-4*H*-pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one were also performed; however, only the formation of a product formed in the reaction of azide with tetrahydrofuran could be determined. We also proposed a new, more adequate and experimentally supported mechanism of thermal transformation of title azides. The proposed mechanism of thermal transformation is also amenable to photochemical reactions, as nitrene is most likely formed as a central intermediate regardless of the mode of activation (thermal or photochemical). Finally, by reacting 3-benzamido-9-propargyloxy-4*H*-pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one with 1,2-bis(2-azidoethoxy) ethane, the corresponding bis-cycloadduct was synthesised as a precursor of a homobifunctional fluorescent marker.

Dominik Fendre, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Krištof Kranjc, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Sinteza substituiranih ftalatov z Diels-Alderjevo reakcijo 2*H*-piran-2-onov, študija reaktivnosti in nadaljnje pretvorbe z dušikovimi nukleofili

V organski sintezni kemiji so 2*H*-piran-2-oni zanimivi že vrsto let, predvsem zaradi dienske strukture obroča, ki med drugim omogoča periciklične Diels-Alderjeve reakcije. Biološko aktivni 2*H*-piran-2-oni so razširjeni v naravi, zaradi velike raznolikosti pa pomenijo ogromen medicinski in farmakološki potencial. V okviru magistrskega dela je bila sintetizirana serija 2*H*-piran-2-onov, nato je bil s selektivno hidrolizo izoliran 3-amino-2*H*-piran-2-on in transformiran v različne zaščitne oblike aminske skupine. S kombinacijo 2*H*-piran-2-onov in acetilenskih dienofilov je bila pripravljena množica dialkil ftalatov. Opažen je bil nepričakovan stranski produkt oksazinskega tipa, v enem primeru pa je prišlo do dodatne Diels-Alderjeve reakcije na furanskem obroču z izstopom acetilena. Pogoji sinteze ftalatov so bili ob upoštevanju načel zelene kemije optimizirani tako, da so bila obstoječa visokotemperaturna topila nadomeščena s sprejemljivejšim ksilenom. Preverjen je bil vpliv substituentov piranonskega obroča na reaktivnost v Diels-Alderjevih reakcijah, rezultati relativnih kompetitivnih študij pa so se zelo dobro ujemali s kvantnomehanskimi izračuni. Sintetizirani dialkil ftalati so bili derivatizirani z različnimi dušikovimi nukleofili, nato pa je bila za izbrani izoindolindion proučena izomerizacija iz kinetične pirolne v termodinamsko stabilnejšo piridazinsko obliko.

Dominik Fendre, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Supervisor: Krištof Kranjc, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

Synthesis of Substituted Phthalates with Diels-Alder Reaction of 2*H*-Pyran-2-Ones, Study of Reactivity and Further Transformations with Nitrogen Nucleophiles

2*H*-pyran-2-ones have been of interest in organic synthetic chemistry for many years, mainly due to their diene ring structure, which, among other things, enables pericyclic Diels-Alder reactions. Biologically active 2*H*-pyran-2-ones are found widely in nature and, due to their wide diversity, have enormous medical and pharmacological potential. As part of my master's thesis, a series of 2*H*-pyran-2-ones was synthesised, and 3-amino-2*H*-pyran-2-one was then isolated by selective hydrolysis, which was further transformed into various protected forms of the amine group. A variety of dialkyl phthalates was prepared by combining 2*H*-pyran-2-ones and acetylenic dienophiles. An unexpected oxazine-type byproduct was observed, and in one case an additional Diels-Alder reaction occurred on the furan ring, with subsequent acetylene elimination. The conditions for the synthesis of phthalates were optimised in the light of green chemistry principles by replacing the existing high-temperature solvent conditions with the more acceptable xylene. The influence of pyranone ring substituents on the reactivity in Diels-Alder reactions was examined, and the results of the relative competitive studies were very well aligned with quantum mechanical calculations. The synthesised phthalates were derivatised with various nitrogen nucleophiles, and the isomerisation of the selected isoindolinedione from the kinetic pyrrole to the thermodynamically more stable pyridazine form was studied.

Jan Kogovšek, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Marko Novinec, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Vzpostavitev bakterijskega sistema LexKan za selekcijo afiteles, ki inhibirajo tvorbo homodimerov proteaze M^{pro} iz SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 ostaja pomembna svetovna zdravstvena grožnja, ki zahteva razvoj inovativnih terapevtskih pristopov. Glavna virusna proteaza M^{pro} je ključna za replikacijo virusa in je uveljavljena terapevtska tarča. Njena aktivnost je močno odvisna od homodimerizacije, kar odpira možnosti za razvoj nove vrste inhibitorjev. V tem delu smo razvili in validirali bakterijski selekcijski sistem LexKan, ki omogoča hitro in enostavno fenotipsko selekcijo afiteles na podlagi preživetja celic *E. coli* v prisotnosti kanamicina. Selekcijske pogoje smo optimizirali s kontrolnimi proteini in potrdili delovanje sistema. Knjižnico afiteles smo pripravili z naključno mutagenezo 13 površinsko izpostavljenih aminokislin, nato pa izvedli selekcijo, izražanje in karakterizacijo izbranih afiteles. Afitelo 4 je zmanjšalo delež dimerne oblike M^{pro}. To kaže na delno destabilizacijo homodimerizacije, kar so potrdile tudi bioinformacijske analize. Skupaj rezultati opredeljujejo afitelo 4 kot vodilnega kandidata za razvoj inhibitorjev replikacije SARS-CoV-2.

Jan Kogovšek, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Supervisor: Marko Novinec, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

Development of LexKan Bacterial System for Selection of Affibodies That Inhibit Homodimer Formation of M^{pro} Protease from SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 remains a major global health threat, driving the need for innovative therapeutic strategies. The viral main protease, M^{pro}, is essential for viral replication and represents a well-established therapeutic target. Its activity strongly depends on homodimerisation, offering opportunities for the development of a new class of inhibitors. In this work, we developed and validated the LexKan bacterial selection system, a new platform enabling rapid and straightforward phenotypic selection of affibodies based on *E. coli* survival in the presence of kanamycin. Selection conditions were optimised using control proteins, and system functionality was confirmed. A library of affibodies was generated by random mutagenesis of 13 surface-exposed amino acids, followed by selection, expression, and characterisation of the selected variants. Affibody 4 reduced the dimeric fraction of M^{pro}, indicating partial destabilisation of homodimerisation, which was further supported by bioinformatic analyses. Together, these results identify affibody 4 as a promising lead candidate for the development of SARS-CoV-2 replication inhibitors.

Samo Jaklin, Jan Hrovat, Vid Ibic, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Damijana Mojca Jurič, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Somentor: Miran Brvar, Univerzitetni klinični center Ljubljana

Nevrotoksičnost uživanja konoplje

Indijska konoplja (*Cannabis sativa* ssp. *indica*) je najpogosteje uporabljena prepovedana droga. Njena glavna učinkovina Δ^9-tetrahidrokanabinol (THC) lahko povzroči nevrološke motnje, zlasti pri mladostnikih. Mehanizmi vpliva kanabinoidov na astrocite, ki so ključni za možgansko homeostazo, ostajajo slabo raziskani. Namen naloge je bil opredeliti vpliv THC in kanabidiola (CBD) na humane astrocite ter analizirati biokemične označevalce možganske poškodbe pri bolnikih z akutno zastrupitvijo. V predkliničnem delu smo humane fetalne astrocite izpostavili THC in CBD (0,5–5 µM, 1–24 h) ter analizirali viabilnost, mitohondrijski potencial, ravni ATP, sproščanje LDH in aktivacijo kaspaz 3/7. Ocenili smo tudi vpliv na izražanje astrocitnih (GFAP, S100B) in nevronskih (UCH-L1, NSE) označevalcev možganske poškodbe. Klinični del je vključeval prospektivno spremljanje serumskih koncentracij istih označevalcev pri zastrupljenih bolnikih. Rezultati kažejo, da akutna izpostavljenost THC in CBD zmanjšuje viabilnost astrocitov, moti bioenergetsko homeostazo ter povečuje citotoksičnost in aktivacijo kaspaz, pri čemer so bili učinki THC izrazitejši. THC je povečal izražanje GFAP in S100B, medtem ko je CBD znižal ravni GFAP mRNA. Pri 58 % bolnikov smo potrdili zvišane serumske ravni biokemičnih označevalcev možganske poškodbe, najpogosteje GFAP in S100B. Raziskava potrjuje neposredni citotoksični učinek kanabinoidov na astrocite in njihovo vlogo pri akutnih nevroloških motnjah ter tako potrjuje potrebo po previdnosti pri uporabi kanabinoidov in utemeljenost nadaljnjih raziskav.

Samo Jaklin, Jan Hrovat, Vid Ibic, Faculty of Medicine, University of Ljubljana
Supervisor: Damijana Mojca Jurič, Faculty of Medicine, University of Ljubljana
Co-supervisor: Miran Brvar, University Medical Centre Ljubljana

Neurotoxicity of Cannabis Use

Indian hemp (*Cannabis sativa* ssp. *indica*) is the most common illicit drug, whose main psychoactive compound Δ^9-tetrahydrocannabinol (THC) can cause neurological disturbances, particularly in adolescents. The mechanisms of cannabinoid action on astrocytes, the key cells of brain homeostasis, remain unclear. The aim of this research was to define the effects of THC and cannabidiol (CBD) on human astrocytes and to analyse biochemical markers of brain injury in patients with acute intoxication. In the preclinical part, human foetal cortical astrocytes were exposed to THC and CBD (0.5–5 µM, 1–24 h), and cell viability, mitochondrial potential, ATP levels, LDH release, and caspase 3/7 activity were analysed. We also assessed the impact on the expression of astrocytic (GFAP, S100B) and neuronal (UCH-L1, NSE) biochemical markers of brain injury. The clinical part involved prospective monitoring of serum concentrations of the same markers in intoxicated patients. Results showed that acute exposure of human astrocytes to THC and CBD reduces cell viability, disrupts bioenergetic homeostasis, and increases cytotoxicity and caspase 3/7 activation, with THC exerting more pronounced effects. THC increased GFAP and S100B expression, whereas CBD suppressed GFAP mRNA levels. In 58% of patients, elevated serum levels of biochemical markers of brain injury were confirmed, most frequently GFAP and S100B. The study confirmed a direct cytotoxic effect of cannabinoids on astrocytes and their role in acute neurological disturbances, calling for caution regarding cannabinoid use and highlighting the importance of further research.

Miha Berk Bevc, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru
Mentor: Sebastijan Kovačič, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru
Somentorja: Darja Pečar, Aleksander Saša Marković, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru

Razvoj in optimizacija procesa sinteze furosemida

Magistrsko delo obravnava razvoj in optimizacijo sinteze farmacevtske učinkovine furosemid z uporabo z bakrom katalizirane Ullmannove kondenzacije. Namen dela je razvoj alternativne trajnostne sintezne poti, ki z uporabo bakrove katalize in globokih evtektičnih topil (DES) nadomešča ostre reakcijske pogoje in strupena topila iz tradicionalnih industrijskih postopkov. V eksperimentalnem delu je proučen vpliv različnih reakcijskih medijev, baz in bakrovih katalizatorjev na učinkovitost kondenzacije med 2,4-dikloro-5-sulfamoilbenzojsko kislino in furfurilaminom. Za nadaljnje sistematično raziskovanje eksperimentalnega prostora je uporabljen statistični pristop načrtovanja eksperimentov (DoE). Z delnim faktorskim presejalnim načrtom smo določili temperaturo, volumen topila in količino nukleofila kot ključne procesne parametre ter jih nato optimizirali z metodo odzivnih površin (RSM). Ustreznost razvitega protokola smo potrdili z izvedbo reakcije na povečani skali in izoliranjem končnega produkta do farmacevtske čistosti.

Miha Berk Bevc, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, University of Maribor
Supervisor: Sebastijan Kovačič, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, University of Maribor
Co-supervisors: Darja Pečar, Aleksander Saša Marković, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, University of Maribor

Furosemide Synthesis Process Development and Optimisation

This master's thesis explored the development and optimisation of the synthesis process for the active pharmaceutical ingredient furosemide, utilising a copper-catalysed Ullmann condensation. The aim of the research was to develop an alternative, sustainable synthesis pathway that replaces the harsh conditions and toxic solvents of traditional industrial procedures by employing copper catalysis and deep eutectic solvents (DES). In the experimental phase, the influence of various reaction media, bases, and copper catalysts on the efficiency of the condensation between 2,4-dichloro-5-sulfamoylbenzoic acid and furfurylamine was investigated. To further systematically explore the experimental space, a statistical Design of Experiments (DoE) approach was applied. Using a fractional factorial screening design, temperature, solvent volume, and nucleophile amount were identified as key process parameters, which were subsequently optimised using Response Surface Methodology (RSM). The feasibility of the developed protocol was confirmed by performing the reaction on a larger scale and isolating the final product to pharmaceutical-grade purity.

Kaja Eržen, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Robert Roškar, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentorica: Žane Temova Rakuša, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Ugotavljanje kakovosti prehranskih dopolnil s tetrahidrofolno kislino

Folati (vitamin B_9) so ključni za ohranjanje zdravja. V prehranskih dopolnilih (PD) se poleg sintetične folne kisline vse pogosteje uporablja njena aktivna oblika 5-metiltetrahidrofolat (5-MTHF). Ker so PD na trgu manj strogo regulirana kot zdravila, smo se v magistrski nalogi osredotočili na ugotavljanje vsebnosti in kakovosti PD s 5-MTHF. Uporabili smo tri predhodno razvite metode (A, B, C), ki smo jih validirali v skladu s smernicami ICH. Nato smo optimizirali ekstrakcijski postopek ter izbrali topilo, s katerim smo zagotovili topnost in stabilnost pripravljenih vzorcev (10 % metanol, 2 mM natrijev hidroksid, 1 mM etilendiamintetraocetna kislina, 0,24 g/l vitamin C). Optimizirani ekstrakcijski postopek in validirane analizne metode, izbrane na podlagi kompleksnosti vzorcev, smo uporabili za analizo izbranih PD. Skupno smo ovrednotili 18 PD s 5-MTHF, s katerimi smo ponazorili sedanje stanje na našem trgu. Prisotnost 5-MTHF smo potrdili pri 16 izdelkih, pri dveh pa je bila vsebnost pod mejo zaznave. Ugotovljeno vsebnost smo primerjali z deklarirano vrednostjo in ocenili skladnost s smernicami Evropske komisije, ki za PD določajo dopustni interval od 80 % do 150 %. Sedem izdelkov (39 %) je bilo pod spodnjo mejo, nobeden pa ni presegal zgornje meje. Izdelke smo nato razvrstili glede na farmacevtsko obliko in obliko 5-MTHF ter ocenili njun morebitni vpliv na stabilnost oz. dejansko vsebnost vitamina. Analizirali smo sedem tablet, pet kapsul, štiri tekočine in dve vrečki, pri čemer so tablete in kapsule izkazale najboljše ujemanje z deklarirano vrednostjo. Pri tekočih izdelkih je bilo največ odstopanja (75,0 % jih je bilo pod spodnjo mejo), kar je najverjetneje posledica nestabilnosti 5-MTHF v vodnem mediju. Pri kalcijevi soli je bilo osem izdelkov (66,7 %) znotraj intervala sprejemljivosti, pri glukozaminski pa dva (40,0 %). Na podlagi tega je težko trditi, katera oblika je intrinzično stabilnejša, saj smo imeli manj izdelkov z glukozaminsko soljo, poleg tega sta bila dva od njih v tekoči obliki. Analiza je pokazala tudi, da višja cena ne pomeni nujno boljše kakovosti. Glede na pomen folatov za nosečnice rezultati kažejo potrebo po večjem nadzoru kakovosti PD s folati.

Kaja Eržen, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: Robert Roškar, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: Žane Temova Rakuša, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Evaluation of Quality of Food Supplements with Tetrahydrofolic Acid

Folates (vitamin B_9) are essential for maintaining health. In addition to synthetic folic acid, the active form 5-methyl-tetrahydrofolate (5-MTHF) is increasingly used in food supplements Since food supplements are less strictly regulated than medicinal products, this master's thesis focused on determining the content and quality of supplements containing 5-MTHF. For this purpose, we used three previously developed methods (A, B and C) and validated them in accordance with the ICH guideline. We optimised the extraction procedure and determined a solvent mixture that ensured the stability of prepared samples (10% methanol, 2 mM sodium hydroxide, 1 mM ethylenediaminetetraacetic acid, 0.24 g/l vitamin C). Subsequently, the optimised extraction procedure and validated analytical methods, chosen based on the complexity of the samples, were used to analyse the selected supplements. We evaluated a total of 18 different supplements containing 5-MTHF, reflecting the current market situation. The presence of 5-MTHF was confirmed in 16 products, whereas in two products the content was below the detection limit. The determined contents were compared with the declared values and assessed for compliance with the European Commission guidelines, which define the acceptable range of 80–150%. Seven products (39%) were below the lower limit, while none exceeded the upper limit. We classified the products according to their dosage form and type of 5-MTHF salt to evaluate their potential impact on the actual content. A total of seven tablets, five capsules, four liquids, and two sachets were analysed. Tablets and capsules showed the highest conformity with the declared values, while liquid formulations exhibited the highest deviations (75.0% below 80% of the declared value), likely due to vitamin instability in aqueous media. Among both salts, eight products containing the calcium form (66.7%) were within the acceptable range, compared to two products (40.0%) with the glucosamine form. However, it is difficult to conclude which form is intrinsically more stable, due to less glucosamine-based products, of which two were liquid formulations. The analysis also demonstrated that a higher price does not necessarily indicate better quality. Given the importance of folate intake during pregnancy, the results highlight the need for greater quality control of folate-containing food supplements.

Črt Krebs, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Lovro Žiberna, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: Klemen Kirbus, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Mikrofluidni model žilnega endotelija na čipu za kvantitativno spremljanje s peroksilnimi radikali povzročene endotelijske disfunkcije in antioksidativnega delovanja izbranih spojin

Organi na čipu so napredni tridimenzionalni celični modeli, ki z uporabo mikrofluidnih sistemov z neprekinjenim pretokom gojišča omogočajo posnemanje fiziološko relevantnih pogojev *in vitro*. Tako zagotavljajo stalno dovajanje hranil celicam, odstranjevanje presnovkov in izpostavitev celic mehanskim dražljajem, kot so strižne sile, ki so značilne za okolje *in vivo*. Zato so obetavna alternativa živalskim modelom v predkliničnih raziskavah. V magistrskem delu smo proučevali vpliv peroksilnega oksidativnega stresa na endotelijsko disfunkcijo z uporabo na celični liniji EA.hy926 osnovanega mikrofluidnega modela človeškega vaskularnega endotelija na čipu. Rezultate smo primerjali s statičnim modelom na mikrotitrskih ploščicah in ovrednotili zaščitni učinek izbranih antioksidantov. Ugotovili smo koncentracijsko in časovno odvisno zmanjšanje celične viabilnosti ob naraščajočem oksidativnem stresu. Med proučevanimi antioksidanti je v statičnem modelu najizrazitejši zaščitni učinek pokazal kvercetin, zato smo ga vključili v nadaljnje testiranje na modelu endotelija na čipu. Preizkusili smo sočasno izpostavitev celic kvercetinu in viru peroksilnih radikalov ter predhodno inkubacijo s kvercetinom pred izpostavitvijo peroksilnim radikalom. Značilno izboljšanje viabilnosti smo ugotovili le pri predhodni inkubaciji celic s kvercetinom. Rezultati potrjujejo, da model endotelija na čipu omogoča spremljanje učinkov oksidativnega stresa in vrednotenje zaščitnega učinka antioksidantov, zato tovrstni modeli lahko pomenijo nov pristop v predkliničnih raziskavah.

Črt Krebs, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: Lovro Žiberna, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: Klemen Kirbus, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Microfluidic Model of Vascular Endothelium-on-a-Chip for Quantitative Monitoring of Peroxyl Radical-Induced Endothelial Dysfunction and Antioxidant Activity of Selected Compounds

Organs-on-chips are advanced three-dimensional cell models that use microfluidic systems with continuous culture medium flow to simulate physiologically relevant *in vitro* conditions. Such systems provide a constant supply of nutrients, removal of metabolites, and exposure of cells to mechanical stimuli, such as shear stress, characteristic of the *in vivo* environment. They therefore represent a promising alternative to animal models in preclinical research. In this work, we investigated the effect of peroxyl oxidative stress on endothelial dysfunction using a microfluidic human vascular endothelium-on-a-chip model based on the EA.hy926 cell line. The results were compared with a static microtiter plate model, and the protective effects of selected antioxidants were evaluated. We observed a concentration- and time-dependent decrease in cell viability with increasing oxidative stress. Among the antioxidants studied, quercetin showed the most pronounced protective effect in the static model and was therefore selected for further testing in the endothelium-on-a-chip model. We tested simultaneous exposure of cells to quercetin and a source of peroxyl radicals, as well as pre-incubation with quercetin prior to exposure to peroxyl radicals. A statistically significant improvement in viability was observed only after pre-incubation of cells with quercetin. The results indicate that the endothelium-on-a-chip model enables reliable monitoring of oxidative stress effects and evaluation of antioxidant protection, highlighting such models as an innovative approach in preclinical research.

Maša Mihelič, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Tihomir Tomašič, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: Jaka Dernovšek, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Vpliv modifikacij 3-(pirolidin-1-il)piridinskega ogrodja zaviralcev C-končne domene proteina toplotnega šoka 90 na protirakavo delovanje

Rakava obolenja so zaradi kompleksnih značilnosti izziv pri razvoju učinkovitih terapevtskih in diagnostičnih metod. Protein toplotnega šoka 90 (Hsp90) je pomembna tarča na področju protirakave terapije, saj z njegovim zaviranjem vplivamo na funkcionalnost več sto onkogenih proteinov. Neuspeh N-končnih zaviralcev je bil povezan s toksičnimi učinki in spodbujanjem odziva toplotnega šoka (HSR) ter je vplival na preusmeritev raziskovanja na učinke vezave v C-končno domeno. Ker na trgu še ni učinkovitih C-končnih zaviralcev, je bil njihov razvoj tudi cilj magistrske naloge. Pripravili smo knjižnice spojin A, B, C in D. Naš namen je bil razširiti povezavo med strukturo in delovanjem (SAR) novih zaviralcev s 3-(pirolidin-1-il)piridinskim osnovnim skeletom. Petnajstim končnim spojinam smo protirakavo aktivnost *in vitro* določili na podlagi rezultatov testa MTS na celični liniji raka dojke MCF-7. Ugotovili smo, da imajo na delovanje velik vpliv prisotnost in položaj dušika na osrednjem aromatskem obroču, razdalja od amida do bazičnega centra, modifikacije osrednjega in distalnega aromatskega dela ter delno tudi konfiguracija na pirolidinskem stereogenem centru. Najaktivnejšemu analogu naše serije spojin, spojini 29, smo na celični liniji MCF-7 določili srednjo zaviralno koncentracijo (IC_{50}) 1,97 ± 0,15 µM. Spojina TAK-27 je kljub temu ostala najaktivnejši analog iz serije pirolidinskih C-končnih zaviralcev Hsp90, razširjen odnos med strukturo in delovanjem pa je pomembno izhodišče za nadaljnjo optimizacijo.

Maša Mihelič, 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

Effect of 3-(Pyrrolidine-1-yl)pyridine Core Structure Modifications of New Heat Shock Protein 90 C-Terminal Domain Inhibitors on Their Anticancer Activity

Cancer diseases remain one of the most significant public health challenges due to their complex nature, which hinders the development of effective therapeutic and diagnostic strategies. The inhibition of heat shock protein 90 (Hsp90), which affects the function of hundreds of oncogenic proteins, represents an important anticancer drug target. The failure of N-terminal inhibitors due to toxic effects and induction of the heat shock response has shifted research toward the less-explored C-terminal domain. Since no effective C-terminal inhibitors are currently available on the market, we aimed to develop novel compounds targeting this site. We designed and synthesised four libraries of compounds A, B, C, and D. Our work focused on expanding the structure-activity relationship (SAR) of novel inhibitors based on a 3-(pyrrolidine-1-yl)pyridine scaffold, resulting in the successful synthesis of 15 final compounds. Their anticancer activity was evaluated using the MTS assay on the MCF-7 breast cancer cell line. Our results demonstrate that both the presence and position of nitrogen atoms within the central aromatic ring significantly affect activity. Also, the distance between the amide group and the basic centre, modifications of the central and distal aromatic rings, and partially the stereochemistry of the pyrrolidine centre influence the anticancer effects. The most active analogue in our series, compound 29, had a half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}) of 1.97 ±0.15 µM in MCF-7 cells. Nevertheless, TAK-27 remains the most potent pyrrolidine-based C-terminal Hsp90 inhibitor identified to date and therefore represents a strong lead for further optimisation.

Katja Pregeljc, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Barbara Faganel Kotnik, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

Primarna imunska trombocitopenija pri otrocih in mladostnikih: kroničnost bolezni, diagnostični izzivi in pristopi k zdravljenju

Primarna imunska trombocitopenija (ITP) je najpogostejša pridobljena trombocitopenija v otroštvu. Povezana je z izzivi pri prognozi, diagnostiki in terapevtskih pristopih. V raziskavi smo želeli prepoznati dejavnike tveganja za kronični potek ITP in ugotoviti, ali je trombocitopenije, ki sprva spominjajo na ITP, kasneje pa se dokaže drug vzrok zanje, mogoče prepoznati že ob izhodišču. Opredelili smo tudi značilnosti bolnikov in pojavnost klinično pomembnih krvavitev glede na to, ali so bili bolniki ob izhodišču opazovani ali zdravljeni s farmakološko terapijo prve izbire. Analizirali smo demografske, klinične in laboratorijske podatke, ki jih rutinsko pridobimo ob obravnavi otrok s sumom, da gre za ITP. V retrospektivno raziskavo smo vključili 271 bolnikov, ki so bili v 15-letnem obdobju obravnavani na Pediatrični kliniki v Ljubljani. Med njimi jih je bilo 240 s končno diagnozo ITP in 31 s sekundarnimi vzroki za trombocitopenijo. Izsledki kažejo, da je bolnike, ogrožene za kronično ITP in trombocitopenije druge etiologije, mogoče prepoznati ob izhodišču. Odločitev o izhodiščnem terapevtskem pristopu je temeljila predvsem na fenotipu krvavitev. Klinično pomembne krvavitve so bile pogostejše v skupini zdravljenih bolnikov, hujše pa med opazovanimi. Ugotovitve kažejo, da je potreben bolj individualiziran pristop k obravnavi bolnikov z ITP. Boljše razumevanje patofiziologije bolezni pa hkrati odpira možnosti za uporabo novejših terapevtskih strategij, ki bi dolgoročno lahko zmanjšale breme bolezni in izboljšale prognozo bolnikov.

Katja Pregeljc, Faculty of Medicine, University of Ljubljana
Supervisor: Barbara Faganel Kotnik, Faculty of Medicine, University of Ljubljana

Primary Immune Thrombocytopenia in Children and Adolescents: Chronicity, Diagnostic Challenges, and Treatment Patterns

Primary immune thrombocytopenia (ITP) is the most common acquired thrombocytopenia in children. However, prognosis, diagnostic certainty, and management continue to pose clinical challenges. Using readily available demographic, clinical, and laboratory data, this study aimed to identify factors associated with chronic course and thrombocytopenias of other aetiologies. We also summarised characteristics and outcomes according to initial management approach – observation or first-line pharmacological therapy. We retrospectively analysed 271 children evaluated for ITP at Division of Paediatrics, University Medical Centre Ljubljana, over a 15-year period. Of these, 240 were ultimately diagnosed with ITP and 31 received an alternative final diagnosis. The results suggest that children at risk of chronic ITP or an alternative cause of thrombocytopenia may be identifiable at initial evaluation. Initial management approach appeared to be driven primarily by bleeding phenotype. Bleeding complications were more frequent among pharmacologically treated patients but appeared more severe among the observed. These findings highlight the need for more individualised management strategies. Advances in understanding ITP pathophysiology may support newer therapeutic approaches that could reduce disease burden and improve long-term outcomes.

Anja Drnovšek, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Mirjam Gosenca Matjaž, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentorica: Monika Prašnikar, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Primerjava metod izdelave nanodelcev s strukturo tekočih kristalov in optimizacija njihove sestave

Nanodelci s strukturo tekočih kristalov združujejo lastnosti tekočih kristalov in nanodelcev, kar omogoča vgradnjo različnih zdravilnih učinkovin in prirejeno sproščanje. V magistrskem delu smo jih pripravili z visokoenergetskimi metodami od zgoraj navzdol in nizkoenergetskimi metodami od spodaj navzgor. Proučevali smo vpliv sestave, pogojev izdelave in tehnik zmanjševanja velikosti delcev na nastanek in lastnosti nanodelcev s strukturo tekočih kristalov. Vzorci so bili ovrednoteni z meritvami velikosti in polidisperznega indeksa ter z vizualnim pregledom, prisotnost mezofaz pa smo potrdili z analizo z ozkokotnim sipanjem rentgenskih žarkov. Ugotovili smo, da je za uspešno tvorbo nanodelcev s strukturo tekočih kristalov ključna sestava, predvsem velik delež gliceril monooleata v izbranem lipidu (> 90 %), medtem ko je za preprečevanje agregacije nanodelcev pomembno ustrezno razmerje med lipidom in stabilizatorjem (poloksamer 407). Pri metodah od spodaj navzgor je bil kot hidrotrop uporabljen etanol, pri čemer sta se razmerji med lipidom in etanolom 2 : 1 in 3 : 1 izkazali za optimalni. Temperatura procesa je imela pomemben vpliv. Pri 40 °C nanodelci s strukturo tekočih kristalov niso nastali in se je pogosteje tvoril gel. pH medija ni imel pomembnega vpliva, medtem ko je prisotnost elektrolitov lahko vplivala na tvorbo želenih struktur. Rezultati so osnova za nadaljnjo optimizacijo nanodelcev s strukturo tekočih kristalov kot naprednih dostavnih sistemov zdravilnih učinkovin.

Anja Drnovšek, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: Mirjam Gosenca Matjaž, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: Monika Prašnikar, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Comparison of Methods for Liquid Crystalline Nanoparticle Preparation and Optimisation of Their Composition

Liquid crystalline nanoparticles combine the properties of liquid crystals and nanoparticles, enabling incorporation of various active pharmaceutical ingredients and their modified release. In the master's thesis, we prepared them using high-energy 'top-down' methods and low-energy 'bottom-up' methods. We studied the influence of composition, manufacturing conditions, and particle size reduction techniques on the formation and properties of liquid crystalline nanoparticles. Samples were evaluated by measuring the size and polydispersity index and by visual inspection; the presence of the mesophase was confirmed by small-angle X-ray scattering analysis. The key factor in the successful formation of liquid crystalline nanoparticles was the composition, particularly the high proportion of glycerol monooleate in the selected lipid (> 90%), while an appropriate ratio between the lipid and the stabiliser (poloxamer 407) was important for preventing nanoparticle aggregation. In the 'bottom-up' methods, ethanol was used as a hydrotrope, with lipid-to-ethanol ratios of 2:1 and 3:1 proved to be optimal. The process temperature had a significant influence: at 40 °C, there was no formation of liquid crystalline structure within the nanoparticles, while gel formation occurred more frequently. The pH of the medium did not have a significant effect, whereas the presence of electrolytes could influence the formation of the desired structures. The results provide a basis for further optimisation of liquid crystalline nanoparticles as advanced drug delivery systems.

Valentina Vutolen, Institut Jožef Stefan, Ljubljana, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Špela Zupančič, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentorica: Marija Vukomanović, Institut Jožef Stefan, Ljubljana

Razvoj piezoelektričnih nanovlaken polihidroksibutirata in poli-L-mlečne kisline za pospešeno celjenje kroničnih ran

Kronične rane bistveno zmanjšujejo kakovost življenja bolnikov in so vedno večji javnozdravstveni izziv, zato je nujen razvoj naprednih metod zdravljenja. Elektrostimulacija je eden izmed fizikalnih terapevtskih pristopov, vendar njeno uporabo pogosto omejujejo toge elektrode, ki lahko zmanjšajo bolnikovo gibljivost in udobje med zdravljenjem. V nalogi smo ustvarili inovativna, popolnoma organska nanovlakna, ki združujejo piezoelektrično stimulacijo in biomimetično podporo celicam za učinkovitejše zdravljenje kroničnih ran. Za povečanje piezoelektričnega odziva smo nanovlakna modificirali z vključitvijo laktobacilov *Lacticaseibacillus paracasei*, ki naravno proizvajajo biopolimer polihidroksibutirat. Z vgradnjo laktobacilov s polihidroksibutiratom smo uspešno povečali piezoelektrični signal končnega materiala, hkrati pa ohranili njegovo biokompatibilnost. Gre za obetaven in inovativen pristop v regenerativni medicini, ki združuje biotehnologijo in znanost o nanomaterialih za razvoj funkcionalnih nanovlaken, s čimer se odpira novo področje v naprednem zdravljenju kroničnih ran.

Valentina Vutolen, Jožef Stefan Institute, Ljubljana, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: Špela Zupančič, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: Marija Vukomanović, Jožef Stefan Institute, Ljubljana

Development of Piezoelectric Nanofibres from Polyhydroxybutyrate and Poly-L-Lactic Acid for Accelerated Healing of Chronic Wounds

Chronic wounds significantly reduce the quality of life for patients and represent a growing public health challenge, making the development of advanced treatment methods essential. Electrostimulation is one such therapy; however, its use is often limited by rigid electrodes that reduce patient mobility and comfort. In this work, we have created innovative, fully organic, functional nanofibres that combine piezoelectric stimulation and biomimetic support to cells for a more effective treatment of chronic wounds. To enhance the piezoelectric response, the nanofibres were modified by incorporating the lactobacillus *Lacticaseibacillus paracasei*, which naturally produces the biopolymer polyhydroxybutyrate. By embedding the polyhydroxybutyrate-containing lactobacilli into nanofibres, we successfully increased the material's piezoelectric signal while maintaining its biocompatibility. This represents a promising, innovative approach in regenerative medicine, combining biotechnology and nanomaterials science to develop functional nanofibres, thereby opening a new field in the advanced treatment of chronic wounds.

Kaja Zajc, Ekonomska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentor: Miha Škerlavaj, Ekonomska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Somentor: Matej Černe, Ekonomska fakulteta, Univerza v Ljubljani

Dobro počutje zaposlenih in pripravljenost na spremembe: analiza vpliva spanja, stresa in intenzivnosti dela

Raziskava proučuje vpliv intenzivnosti dela na dobro počutje zaposlenih in njihovo pripravljenost na spremembe ter vlogo spanja in zaznanega stresa v tem razmerju. V farmacevtski industriji je pripravljenost zaposlenih na spremembe pomembna zaradi stalnih regulativnih, tehnoloških in organizacijskih zahtev, ki terjajo visoko stopnjo prilagodljivosti. Uporabljen je bil kvantitativni longitudinalni raziskovalni pristop z metodo dnevnega vzorčenja izkušenj in objektivnimi meritvami spanja z validiranimi nosljivimi napravami pri zaposlenih v mednarodnem farmacevtskem podjetju. Podatki so bili analizirani z multinivojskim modeliranjem. Rezultati kažejo, da je intenzivnost dela izrazito neposredno negativno povezana z dobrim počutjem, medtem ko je dobro počutje močno povezano s pripravljenostjo na spremembe. Zaznani stres v obravnavanem časovnem okviru ni imel statistično značilne mediacijske vloge. Nasprotno pa so objektivni kazalniki spanja, zlasti REM in globoki spanec, pokazali moderacijsko vlogo, saj so povezani z blaženjem negativnih učinkov intenzivnih delovnih zahtev. Ugotovitve poudarjajo spanec kot pomemben osebni in strateški vir, ki podpira dobro počutje zaposlenih ter njihovo sposobnost učinkovitega prilagajanja spremembam v zahtevnem in reguliranem okolju farmacevtske industrije.

Kaja Zajc, School of Economics and Business, University of Ljubljana
Supervisor: Miha Škerlavaj, School of Economics and Business, University of Ljubljana
Co-supervisor: Matej Černe, School of Economics and Business, University of Ljubljana

Employee Well-Being and Change Readiness: Analysis of Influence of Sleep, Stress, and Work Intensity

The study examines the impact of work intensity on employee well-being and readiness to change, as well as the role of sleep and perceived stress in this relationship. In the pharmaceutical industry, employee readiness for change is particularly important due to continuous regulatory, technological, and organisational demands that require a high degree of adaptability. A quantitative longitudinal research design was employed, combining the experience sampling method with objective sleep measurements obtained using validated wearable devices among employees of a multinational pharmaceutical company. The data were analysed using multilevel modelling. The results indicate that work intensity has strong direct negative associations with well-being, while well-being is strongly associated with change readiness. Perceived stress did not exhibit a statistically significant mediating role within the observed time frame. In contrast, objective sleep indicators – particularly REM and deep sleep – demonstrated a moderating role, as they were associated with buffering the negative effects of high work demands. The findings highlight sleep as an important personal and strategic resource that supports employee well-being and their capacity to adapt effectively to change in the demanding and highly regulated environment of the pharmaceutical industry.

Patrik Hlebanja, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Polona Žnidaršič Plazl, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Karakterizacija tirozin dekarboksilaze iz *Methanocaldococcus janaschii* in imobilizacija v mikroreaktorje

Biokataliza ima zaradi blažjih pogojev, visoke selektivnosti in specifičnosti ključno vlogo pri razvoju trajnostnih kemičnih procesov. Imobilizacija encimov lahko izboljša njihovo stabilnost, omogoči ponovno uporabo in olajša ločevanje biokatalizatorja od reakcijske zmesi. Vključitev imobiliziranih encimov v pretočne mikroreaktorje dodatno omogoča kontinuirno izvajanje biotransformacij pri učinkovitem prenosu toplote in snovi. V magistrskem delu smo proučevali tirozin dekarboksilazo MfnA iz termofilne arheje *Methanocaldococcus jannaschii*. Encim katalizira pretvorbo L-tirozina v tiramin ob prisotnosti kofaktorja piridoksal-5'-fosfata. Ovrednotili smo vpliv temperature, sestave pufra ter koncentracij substrata, produkta in kofaktorja na encimsko aktivnost. Preizkusili smo tudi imobilizacijo na porozna polimerna nosilca ReliZyme™ EP112/S in EA403/S, funkcionalizirane celulozne membrane ter pripravo zamreženih encimskih agregatov. MfnA je bil pri nizkih koncentracijah izrazito nagnjen k agregaciji, kar je otežilo pripravo aktivnih zamreženih encimskih agregatov po ustaljenih postopkih. Najboljše rezultate je dala imobilizacija na nosilec ReliZyme™ EP112/S, pri kateri je zadržana aktivnost znašala 42,7 %, imobilizirani encim pa je ostal stabilen več kot en teden. Z imobiliziranim encimom v pretočnem mikroreaktorju smo pri izbranih reakcijskih pogojih dosegli popolno pretvorbo L-tirozina. Rezultati kažejo uporabnost imobiliziranega MfnA za kontinuirno encimsko sintezo tiramina.

Patrik Hlebanja, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Supervisor: Polona Žnidaršič Plazl, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

Characterisation of Tyrosine Decarboxylase from *Methanocaldococcus Janaschii* and Immobilisation in Microreactors

Biocatalysis plays an important role in the development of sustainable chemical processes due to the mild reaction conditions and the high selectivity and specificity of enzymes. Enzyme immobilisation can improve enzyme stability, enable reuse, and facilitate separation of the biocatalyst from the reaction mixture. The integration of immobilised enzymes into continuous-flow microreactors additionally enables continuous biotransformations with efficient heat and mass transfer. In this master's thesis, we investigated the tyrosine decarboxylase MfnA from the thermophilic archaeon *Methanocaldococcus jannaschii*. The enzyme catalyses the conversion of L-tyrosine into tyramine in the presence of the cofactor pyridoxal 5'-phosphate. The effects of temperature, buffer composition, and the concentrations of substrate, product, and cofactor on enzyme activity were evaluated. Immobilisation on the porous polymer carriers ReliZyme™ EP112/S and EA403/S, functionalised cellulose membranes, and the preparation of cross-linked enzyme aggregates were also investigated. At low concentrations, MfnA showed a pronounced tendency to aggregate, which hindered the preparation of active cross-linked enzyme aggregates using established procedures. The best results were obtained by the immobilisation on ReliZyme™ EP112/S, which recovered activities up to 42.7%, while the immobilised enzyme remained stable for more than one week. Under the selected reaction conditions, complete conversion of L-tyrosine was achieved using the immobilised enzyme in a continuous-flow microreactor. These results demonstrate the applicability of immobilised MfnA for the continuous enzymatic synthesis of tyramine.

Jakob Trebše, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Marija Nika Lovšin, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentorica: Maja Bjelošević Žiberna, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Vpliv prisotnosti bakterije *Staphylococcus epidermidis* na viskoznost človeške sinovialne tekočine v pogojih *in vitro*

Staphylococcus epidermidis je eden najpogostejših povzročiteljev periprotetičnih okužb sklepov, katerih diagnostika je zaradi nespecifičnih kliničnih znakov pogosto izziv. Medtem ko se sodobne raziskave večinoma osredotočajo na biokemične diagnostične markerje, ostajajo fizikalno-kemijske lastnosti sinovialne tekočine, kot je viskoznost, razmeroma slabo raziskane. Namen raziskave je bil ugotoviti, ali *S. epidermidis* raste v sinovialni tekočini, izraža ekstracelularne hialuronidaze, ki bi lahko vplivale na njeno viskoznost, spreminja viskoznost sinovialne tekočine v pogojih *in vitro* ter ali klinični izolati tvorijo biofilme. V raziskavo smo vključili pet kliničnih izolatov *S. epidermidis*. Rast bakterij v sinovialni tekočini smo spremljali z merjenjem optične gostote, hialuronidazno aktivnost pa preverjali z encimskim testom. Viskoznost sinovialne tekočine po izpostavitvi bakterijskim biofilmom in supernatantom smo določili z viskozimetrom pri različnih strižnih hitrostih. Rezultati so pokazali, da vsi preiskovani sevi uspešno rastejo v sinovialni tekočini in tvorijo biofilme v pogojih *in vitro*. Hialuronidazne aktivnosti nismo zaznali, prav tako bakterijski biofilmi ali supernatanti niso povzročili sprememb viskoznosti sinovialne tekočine. Sklepamo, da *S. epidermidis* pri danih pogojih *in vitro* ne vpliva na viskoznost sinovialne tekočine. Raziskava prispeva k boljšemu razumevanju patogeneze periprotetičnih okužb sklepov in je izhodišče za nadaljnje raziskave novih diagnostičnih pristopov.

Jakob Trebše, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana
Supervisor: Marija Nika Lovšin, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: Maja Bjelošević Žiberna, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Effect of Presence of *Staphylococcus Epidermidis* on Viscosity of Human Synovial Fluid under *In Vitro* Conditions

Staphylococcus epidermidis is one of the most common causative agents of periprosthetic joint infections, the diagnosis of which is often challenging due to nonspecific clinical signs. While most recent studies primarily focus on biochemical diagnostic markers, the physicochemical properties of synovial fluid, such as viscosity, remain relatively understudied. The aim of this study was to determine whether *S. epidermidis* grows in synovial fluid, expresses extracellular hyaluronidases that could affect its viscosity, and alters synovial fluid viscosity under *in vitro* conditions, as well as whether clinical isolates form biofilms. The study included five clinical isolates of *S. epidermidis*. Bacterial growth in synovial fluid was monitored by measuring optical density, while hyaluronidase activity was assessed using an enzymatic assay. Synovial fluid viscosity after exposure to bacterial biofilms and supernatants was measured using a viscometer at different shear rates. The results showed that all tested strains grew in synovial fluid and formed biofilms *in vitro*. No hyaluronidase activity was detected, and bacterial biofilms or supernatants did not alter synovial fluid viscosity. We conclude that *S. epidermidis* does not affect synovial fluid viscosity in tested *in vitro* conditions. This study contributes to a better understanding of the pathogenesis of periprosthetic joint infections and provides a basis for further research into new diagnostic approaches.

Jure Rebselj, Kemijski inštitut, Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentor: Jernej Ule, Kemijski inštitut, Ljubljana
Somentorica: Klara Kuret Hodnik, Kemijski inštitut, Ljubljana

Vloga večvalentnih nukleotidnih zaporedij pri negativni povratni regulaciji proteinov z intrinzično neurejenimi regijami

Proteostaza je ključna za normalno delovanje celic, njena porušitev pa spodbuja nastanek toksičnih proteinskih agregatov, značilnih za nevrodegenerativne bolezni, med drugim tudi za amiotrofično lateralno sklerozo. Nedavno opisani interstazni mehanizem je pokazal, da mRNA, bogate z GA-zaporedji, uravnavajo koncentracijo intrinzično neurejenih proteinov z zadrževanjem lastnih in podobnih mRNA v jedrnih pegah oz. v majhnih membransko neomejenih strukturah znotraj celičnega jedra. V raziskavi smo pokazali, da nukleotidna kompleksnost RNA v človeškem transkriptomu ni naključna, temveč predstavlja organizirano in funkcionalno pomembno lastnost. Zato smo razvili računalniški pristop za prepoznavanje strukturnih regij v kodirajočih in nekodirajočih delih mRNA ter njihovo razvrščanje glede na strukturne in funkcijske značilnosti povezanih proteinov. Na tej podlagi smo identificirali skupine motivov, ki so verjetno povezane z regulacijo proteostaze, intrinzično neurejenostjo proteinov in vključevanjem v biomolekulske kondenzate, kar odpira nove možnosti za razumevanje bolezenskih mehanizmov in opredelitev potencialnih tarč za zdravljenje.

Jure Rebselj, National Institute of Chemistry, Ljubljana, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana
Supervisor: Jernej Ule, National Institute of Chemistry, Ljubljana
Co-supervisor: Klara Kuret Hodnik, National Institute of Chemistry, Ljubljana

Role of Multivalent Nucleotide Sequences in Negative Feedback Regulation of Proteins with Intrinsically Disordered Regions

Proteostasis is an essential mechanism for normal cellular function, and its disruption promotes the formation of toxic protein aggregates that are characteristic of numerous neurodegenerative diseases, including amyotrophic lateral sclerosis. The recently described interstasis mechanism has shown that mRNAs enriched in GA motifs regulate the concentration of intrinsically disordered proteins by retaining their own and similar mRNAs in nuclear speckles, small membrane-less structures within the cell nucleus. In this study, we demonstrated that nucleotide complexity in the human transcriptome is not random, but represents an organised and functionally important property of RNA. We therefore developed a computational approach for identifying structural regions in the coding and non-coding parts of mRNA and classifying them according to the structural and functional characteristics of the associated proteins. On this basis, we identified groups of motifs that are likely to be linked to proteostasis regulation, intrinsic protein disorder, and involvement in biomolecular condensates, opening new possibilities for understanding disease mechanisms and defining potential therapeutic targets.

Pia Bertoncelj, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentor: Anže Smole, Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana
Somentorica: Katja Leben Zupet, Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana

Razvoj in optimizacija nabora označevalcev za karakterizacijo in fenotipizacijo celic gama delta T s pretočno citometrijo

Celice gama delta (γδ) T pri zdravih posameznikih pomenijo od 1 % do 5 % celic T, vendar se pri različnih boleznih njihova pogostost in sestava podskupin lahko izrazito spremenita. V magistrskem delu smo vzpostavili in optimizirali protokol barvanja in analize na spektralnem pretočnem citometru za večbarvno fenotipizacijo imunskih celic, pri čemer je bil poudarek na celicah γδ T in njihovih podskupinah (Vδ1, Vδ2, Vγ9). Izbrane populacije smo identificirali z uporabo označevalcev za specifične celične markerje na mononuklearnih celicah periferne krvi (MCPK) in analizo s spektralnim pretočnim citometrom. V treh sklopih poskusov smo optimizirali barvanje z barvilom za določanje živosti celic, površinsko in znotrajcelično barvanje s končnim naborom 30 fluoroforjev. Optimizirali smo postopek izolacije in shranjevanja MCPK iz dveh vrst začetnega materiala: levkocitno-trombocitne plasti in polne heparinizirane periferne krvi. Razviti nabor 30 fluoroforjev je robustno metodološko izhodišče, ki bo po nadaljnji optimizaciji omogočilo poglobljeno raziskovanje imunobiologije celic γδ T in predklinični razvoj inovativnih celičnih imunoterapij. Protokol je ključno orodje za napredne analize kliničnih vzorcev MCPK, kar odpira nove možnosti za uporabo v diagnostiki in spremljanju poteka bolezni, pri katerih imajo celice γδ T pomembno patofiziološko vlogo.

Pia Bertoncelj, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana
Supervisor: Anže Smole, National Institute of Biology, Ljubljana
Co-supervisor: Katja Leben Zupet, National Institute of Biology, Ljubljana

Development and Optimisation of Comprehensive Spectral Flow Cytometry Panel for Characterisation and Phenotyping of Gamma Delta T Cells

Gamma delta (γδ) T cells comprise between 1 and 5% of total T cells in healthy individuals, but their frequency and subset composition can change significantly under various pathological conditions. This thesis establishes and optimises a staining and analysis protocol on a spectral flow cytometer for multicolour phenotyping of immune cells, with a particular focus on γδ T cells and their subsets (Vδ1, Vδ2, Vγ9). Selected immune cell populations were identified using markers for specific cell surface and intracellular proteins on peripheral blood mononuclear cells (PBMCs), followed by spectral flow cytometry analysis. In three experimental phases, we optimised staining with a cell viability dye, as well as surface and intracellular staining using an extended panel of 30 fluorophores. We also refined the isolation protocol for PBMCs obtained from two types of starting material: buffy coat and whole heparinised peripheral blood. The developed set of 30 fluorophores provides a robust methodological platform that, after further optimisation, will enable in-depth investigation of the immunobiology of γδ T cells and the preclinical development of innovative cellular immunotherapies. The protocol is a key tool for advanced analysis of clinical PBMC samples, opening new possibilities for use in diagnostics and monitoring of diseases in which γδ T cells play an important pathophysiological role.

Neža Kastelec, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Petra Kocbek, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: Klemen Kirbus, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Razvoj formulacije albuminskih nanodelcev za dostavo slabo vodotopnih zdravilnih učinkovin

Albuminski nanodelci so obetaven nanodostavni sistem, saj so iz endogenih biokompatibilnih materialov. Kljub njihovim številnim prednostim, kot so netoksičnost, neimunogenost, možnost tarčne dostave zdravilnih učinkovin in prirejenega sproščanja, je vgrajevanje zdravilnih učinkovin v albuminske nanodelce velik tehnološki izziv. Namen našega dela je bil izdelati suho formulacijo albuminskih nanodelcev z vgrajeno slabo vodotopno zdravilno učinkovino (ibuprofenom ali karvedilolom). Z metodo desolvatacije smo ustvarili nanodelce in nato ovrednotili različne načine vgrajevanja obeh zdravilnih učinkovin. Povprečna velikost nanodelcev se je z zviševanjem koncentracije dodanega ibuprofena povečevala, nanodelci pa so izkazovali večjo polidisperznost in manjšo fizikalno stabilnost kot kontrolna formulacija nanodelcev brez zdravilne učinkovine. Nasprotno smo z vgrajevanjem karvedilola dobili monodisperzne (velikost ~ 200 nm, polidisperzni indeks < 0,15) in stabilne nanodelce z visokim absolutnim zeta potencialom (30 mV). Dosegli smo vsebnosti karvedilola do 4,67 % (m/m). Sproščanje karvedilola iz nanodelcev je bilo takojšnje. Ustvarjene nanodelce smo z liofilizacijo pretvorili v suho obliko, pri čemer sta se kot najprimernejša medija za liofilizacijo albuminskih nanodelcev izkazali raztopini z 2 % saharoze in 1 % manitola (m/V) ter 2 % saharoze in 2 % manitola (m/V). Tako smo pokazali, da ibuprofen ni primeren za vgrajevanje v albuminske nanodelce. Pripravili pa smo suho formulacijo albuminskih nanodelcev s karvedilolom, ki omogoča hitro in enostavno redispergiranje tik pred potencialno parenteralno aplikacijo.

Neža Kastelec, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: Petra Kocbek, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: Klemen Kirbus, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Development of Albumin Nanoparticle Formulation for Delivery of Poorly Water-Soluble Drugs

Albumin nanoparticles are a promising nanodelivery system because they are based on endogenous, biocompatible materials. Despite their numerous advantages, such as non-toxicity, non-immunogenicity, the possibility of targeted delivery and controlled release, drug loading remains a challenge for pharmaceutical technology. The aim of our work was to produce dry albumin nanoparticles with a loaded poorly water-soluble model drug (ibuprofen or carvedilol). We produced nanoparticles by the desolvation method and evaluated different drug loading approaches. During ibuprofen loading, nanoparticle size increased with increasing ibuprofen concentration. Ibuprofen-loaded albumin nanoparticles showed lower stability and greater polydispersity compared to the control drug-free nanoparticles. However, carvedilol-loaded albumin nanoparticles were of suitable size (~200 nm), monodisperse (polydispersity index < 0.15) and physically stable, with high absolute value of zeta potential (30 mV). We achieved a maximum drug content of 4.67% (w/w), and the nanoparticles exhibited immediate release of carvedilol. We dried prepared dispersions of nanoparticles by lyophilisation and discovered that the solutions of 2% sucrose and 1% mannitol (w/V) and 2% sucrose and 2% mannitol (w/V) were the most suitable media for lyophilisation. Our work demonstrates that ibuprofen is not suitable for incorporation in albumin nanoparticles. However, we prepared a dry formulation of albumin nanoparticles with incorporated carvedilol, which can be simply and rapidly reconstituted just prior to potential parenteral application.

Lina Krulec, Petra Kubelj, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentor: Tomaž Snoj, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani

Toksičnost aminoglikozidnih antibiotikov za okolje – odziv male vodne leče (*Lemna minor*)

V raziskovalni nalogi smo proučevali vpliv štirih aminoglikozidnih antibiotikov (neomicina, gentamicina, streptomicina, spektinomicina) na rast in sintezo klorofila pri mali vodni leči (*Lemna minor*). Cilj našega dela je bil pridobiti podatke o ekotoksičnem delovanju omenjenih antibiotikov v koncentracijah, ki se lahko pojavijo v okolju. Rast rastlin smo ovrednotili z določitvijo števila členkov po sedmih dneh izpostavljenosti posameznemu antibiotiku, sintezo klorofila pa s spektrofotometrično analizo vsebnosti klorofila a in b. Na podlagi rezultatov smo določili povprečno dnevno rast in zaviranje rasti ter koncentracije klorofila a in b v primerjavi s kontrolno skupino. Izračunali smo relativne in absolutne vrednosti EC_{50} in Hillove koeficiente. Rezultati kažejo, da aminoglikozidni antibiotiki že v nizkih koncentracijah zavirajo rast male vodne leče, medtem ko se zaviranje sinteze klorofila pojavi šele pri višjih koncentracijah, ki so v naravnem okolju manj verjetne. V nekaterih primerih smo pri nizkih koncentracijah opazili blage stimulativne učinke na rast, kar bi lahko nakazovalo pojav hormeze. Kot najbolj ekotoksična aminoglikozidna antibiotika sta se izkazala neomicin in gentamicin. Te ugotovitve potrjujejo potrebo po vključitvi aminoglikozidnih antibiotikov v ocene okoljskih tveganj, saj njihova obstojnost in vpliv na bioto v vodnem okolju lahko pomembno vplivata na ravnovesje ekosistema.

Lina Krulec, Petra Kubelj, Veterinary Faculty, University of Ljubljana
Supervisor: Tomaž Snoj, Veterinary Faculty, University of Ljubljana

Toxicity of Aminoglycoside Antibiotics for Environment – Response of *Lemna Minor*

In this research project, we investigated the effects of four aminoglycoside antibiotics (neomycin, gentamicin, streptomycin, and spectinomycin) on the growth and chlorophyll synthesis of duckweed (*Lemna minor*). The aim of our study was to obtain data on the ecotoxic effects of these antibiotics at concentrations that may occur in the environment. Plant growth was quantitatively monitored by counting the number of fronds after seven days of exposure to each antibiotic, while chlorophyll synthesis was assessed through spectrophotometric analysis of chlorophyll a and b. Based on the results, we calculated the average daily growth rate and growth inhibition compared to the control group, as well as the concentrations of chlorophyll a and b. We determined both relative and absolute EC_{50} values and calculated Hill coefficients. The results show that aminoglycoside antibiotics inhibit the growth of *Lemna minor* even at low concentrations, whereas inhibition of chlorophyll synthesis occurs only at higher concentrations that are less likely to be found in the natural environment. In some cases, mild stimulatory effects on growth were observed at low concentrations, which may indicate the phenomenon of hormesis. Neomycin and gentamicin proved to be the most ecotoxic of the tested aminoglycosides. These findings highlight the need to include aminoglycoside antibiotics in environmental risk assessments, as their presence and effects on aquatic biota can significantly influence the balance of the ecosystem.

Hana Rakuša, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Leja Dolenc Grošelj, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Somentorica: Damjana Rozman, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

Povezava med dislipidemijo, sintezo holesterola in hipoksijo pri bolnikih z obstruktivno apnejo v spanju

Pri bolnikih z obstruktivno apnejo v spanju (OSA) je dislipidemija pogostejša kot pri zdravih preiskovancih, vendar so njeni molekulski mehanizmi še slabo raziskani. S prospektivno raziskavo smo želeli preveriti razlike v koncentraciji intermediatov endogene sinteze holesterola med skupinama preiskovancev s hudo OSA in kontrolnih preiskovancev. Odkrili smo, da je pri preiskovancih s hudo OSA glede na kontrolne preiskovance endogena sinteza holesterola povečana, tudi če ni statistično značilnih razlik v lipidogramu obeh skupin. Preiskovanci s hudo OSA so namreč imeli statistično značilno višje povprečne 24-urne koncentracije lanosterola, FF-MAS, cimosterola, cimostenola, 24-dehidrolatosterola, latosterola, 7-dehidrodezmosterola in dezmosterola. Retrospektivno smo poskusili ovrednotiti razlike v lipidogramu celotne kohorte preiskovancev z OSA. Ugotovili smo, da imajo slovenski preiskovanci s hudo OSA bolj proaterogeni lipidni profil z višjimi vrednostmi triacilgliceridov (TAG) in nižjimi vrednostmi lipoproteinov visoke gostote (HDL). Lipidni profil odraža značilnosti metabolnega sindroma in je neodvisno povezan s čezmerno telesno maso in moškim spolom, ne pa tudi z OSA. Rezultati raziskave so pomembni za usmerjeno prepoznavanje ogroženih bolnikov z OSA in hkratno dislipidemijo ter pravočasno uvedbo zdravljenja.

Hana Rakuša, Faculty of Medicine, University of Ljubljana
Supervisor: Leja Dolenc Grošelj, Faculty of Medicine, University of Ljubljana
Co-supervisor: Damjana Rozman, Faculty of Medicine, University of Ljubljana

Connection between Dyslipidaemia, Cholesterol Synthesis, and Hypoxia in Patients with Obstructive Sleep Apnoea

Patients with obstructive sleep apnoea (OSA) are more likely to have dyslipidaemia than healthy subjects, but the molecular mechanisms underlying this condition remain poorly understood. In this prospective study, we investigated differences in the concentrations of intermediates of endogenous cholesterol synthesis between groups of subjects with severe OSA and control subjects. We found that endogenous cholesterol synthesis was increased in subjects with severe OSA compared with control subjects, even in the absence of statistically significant differences in the lipid profiles of the two groups, as subjects with severe OSA had statistically significantly higher mean 24-hour concentrations of lanosterol, FF-MAS, zymosterol, zymostenol, 24-dehydrolathosterol, lathosterol, 7-dehydrodesmosterol, and desmosterol. Additionally, we retrospectively evaluated differences in the lipid profile across the entire cohort of subjects with OSA. We found that Slovenian subjects with severe OSA have a more atherogenic lipid profile, characterised by higher triglyceride (TAG) levels and lower high-density lipoprotein (HDL) levels. The lipid profile reflects the characteristics of metabolic syndrome and is independently associated with excess body weight and male gender, but not with OSA. The results of this study are important for the targeted identification of patients at risk of OSA and concomitant dyslipidaemia, as well as for the timely initiation of treatment.

Katarina Velkov, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Katja Venko, Kemijski inštitut, Ljubljana
Somentor: Miha Lukšič, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Napovedovanje topnosti spojin v vodi s protitočno nevronsko mrežo

Topnost spojin v vodi spada med pomembne fizikalno-kemijske lastnosti, njeno določevanje pa je ključen korak v razvoju novih zdravilnih učinkovin. Slaba topnost močno omeji biološko dostopnost in absorpcijo v telesu ter je lahko razlog za neželene učinke. V zgodnjih fazah razvoja novih učinkovin se za določanje topnosti uveljavljajo modeli umetne inteligence, ki so vse natančnejši, ponujajo pa tudi hitro in vedno bolj zanesljivo alternativo laboratorijskemu testiranju velikega števila potencialnih kandidatov. Učinkovito računalniško metodo predstavljajo modeli QSPR (angl. quantitative structure-property relationship), podprti z metodami strojnega učenja. V magistrski nalogi so bili s protitočno nevronsko mrežo in genetskim algoritmom kot optimizacijsko metodo razviti trije taki modeli. Opravljeni sta bili analiza rezultatov z izračunom korena srednje kvadratne napake (RMSE) na dveh zunanjih validacijskih setih spojin in primerjava z rezultati, ki jih na teh setih podatkov dosežeta uveljavljena modela VEGA in ALOGPS. Razviti modeli imajo malo molekulskih deskriptorjev (5–9) in so kljub razmeroma preprosti arhitekturi konkurenčni objavljenim modelom oziroma jih v nekaterih metrikah celo presegajo.

Katarina Velkov, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Supervisor: Katja Venko, National Institute of Chemistry, Ljubljana
Co-supervisor: Miha Lukšič, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

Predicting Aqueous Solubility of Compounds Using Counter-Propagation Neural Network

Aqueous solubility of compounds is an important physicochemical property, and its determination represents a crucial step in the development of new drug candidates. Low solubility strongly limits bioavailability and absorption in the body and can contribute to the occurrence of side effects. In the early stages of drug discovery, the usage of artificial intelligence models is becoming established for prediction of solubility, as they offer high accuracy and an increasingly reliable alternative to laboratory testing of large numbers of potential candidates. An effective computational approach is based on the development of Quantitative Structure-Property Relationship (QSPR) models using machine learning methods. In this master's thesis, three QSPR models were developed using a counter-propagation neural network combined with a genetic algorithm as the optimisation method. The models were evaluated by calculating the root mean square error (RMSE) on two external validation datasets and comparing their performance with the established VEGA and ALOGPS models on the same datasets. The developed models use a small set of molecular descriptors (between 5 and 9) and, despite their relatively simple architecture, are comparable to published models and even outperform them on certain evaluation metrics.

Ema Šimc, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Damijan Knez, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Iskanje zaviralcev kaspaze-6 z biokemijskim rešetanjem knjižnice elektrofilnih fragmentov *in vitro*

Kaspaza-6 je apoptotična kaspaza, vključena v programirano celično smrt in deluje kot pomemben regulator prirojene imunosti. Njena aktivnost je povezana s patološkimi spremembami pri nevrodegenerativnih boleznih, zlasti pri Alzheimerjevi bolezni. V okviru magistrske naloge smo razvili biokemični test *in vitro* na mikrotitrskih ploščah za odkrivanje novih zaviralcev kaspaze-6, pri čemer smo uporabili pristop načrtovanja zdravilnih učinkovin na osnovi elektrofilnih fragmentov. V prvem koraku smo določili optimalne pogoje za delovanje kaspaze-6, in sicer koncentracijo fluorogenega substrata na osnovi Michaelis-Mentenove kinetike ter vpliv dimetilsulfoksida na encimsko aktivnost. Zanesljivost testa smo potrdili z znanim peptidnim zaviralcem. V nadaljevanju smo izvedli rešetanje knjižnice elektrofilnih fragmentov in z določanjem rezidualne aktivnosti ovrednotili njihovo zaviralno delovanje. Najobetavnejšim spojinam smo določili vrednost IC_{50} in proučili kinetiko hidrolize substrata. Rezultati so pokazali, da fragmenti z elektrofilnimi bojnimi glavami, kot so γ-butirolakton, karbamoil fluorid, aldehid in sulfonil fluorid, močno zavirajo kaspazo-6. Odkrite spojine so obetavno izhodišče za nadaljnji razvoj terapevtskih učinkovin za zdravljenje nevrodegenerativnih bolezni.

Ema Šimc, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: Damijan Knez, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Searching for Caspase-6 Inhibitors by *In Vitro* Biochemical Screening of Electrophilic Covalent Fragment Library

Caspase-6 is an apoptotic caspase involved in the activation of programmed cell death pathways and functions as an important regulator of innate immunity. Its activity is closely associated with pathological changes in neurodegenerative diseases, particularly in Alzheimer's disease. In this master's thesis, we developed an *in vitro* biochemical assay on microtiter plates and identified novel inhibitors of the cysteine protease caspase-6, using a fragment-based drug design approach. In the first step, we determined the optimal conditions for caspase-6 activity, namely the concentration of the fluorogenic substrate based on Michaelis-Menten kinetics, as well as the effect of the dimethyl sulfoxide on enzyme activity. Assay reliability was confirmed using a known peptide inhibitor as a reference compound. Subsequently, we carried out screening of the fragment library to examine their ability to inhibit caspase-6 enzymatic activity, which was expressed as residual activity. For compounds with the lowest values of residual activity, we further determined the concentration at which they inhibit half of the enzymatic activity, the IC_{50} value, and evaluated their kinetic properties. The results showed that fragments with electrophilic warheads, such as γ-butyrolactone, carbamoyl fluoride, aldehyde, and sulfonyl fluoride, strongly inhibit caspase-6. These compounds represent promising candidates for further optimisation and development of caspase-6 inhibitors that could be useful in the therapy of neurodegenerative diseases, in which this protease plays a central role.

Lena Grošelj, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Jurij Svete, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Uporaba 4-okso-4*H*-piridino[1,2-*a*]pirimidin-3-diazonijevega in 1-ciano-4-okso-4*H*-kinolizin-3-diazonijevega tetrafluoroborata v fluorescenčnem označevanju proteinov

4-okso-4*H*-piridino[1,2-*a*]pirimidin-3-diazonijev in 1-ciano-4-okso-4*H*-kinolizin-3-diazonijev tetrafluoroborat sta bila izbrana kot reagenta za fotokemične sulfanilacije in arilacije ter termične sulfanilacije z *N*-Boc-zaščitenimi estri cisteina in cistina ter aromatskimi aminokislinami. Raziskali smo stabilnost obeh izhodnih reagentov v vodnem mediju za nadaljnjo vezavo (aza)kinolizinskih diazonijevih soli na proteine. Obe diazonijevi soli sta bili uspešno uporabljeni v reakcijah biokonjugacije. Dokazali smo, da je (aza)kinolizin diazonijeve tetrafluoroborate mogoče uporabiti pri fluorescenčnem označevanju proteinov, saj se pod fotokataliziranimi pogoji vežejo na tiolne skupine in disulfidne vezi cisteinskih ostankov ter na arilne skupine aromatskih aminokislin. Pod termičnimi pogoji pa je prednostna reakcija sulfaniliranja (vezava na tiolne skupine cisteinskih preostankov). Kot modelni protein je bil izbran goveji serumski albumin (BSA). Razvili smo tudi metodo za kvantifikacijo vezave in optimizirali pogoje vezave.

Lena Grošelj, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Supervisor: Jurij Svete, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

Application of 4-Oxo-4*H*-Pyridino[1,2-*a*] pyrimidine-3-Diazonium and 1-Cyano-4-Oxo-4*H*-Quinolizine-3-Diazonium Tetrafluoroborate in Fluorescent Protein Labelling

4-Oxo-4*H*-pyridino[1,2-*a*]pyrimidine-3-diazonium and 1-cyano-4-oxo-4*H*-quinolizine-3-diazonium tetrafluoroborate were selected as starting reagents for photochemical sulfanylations and arylations, as well as thermal sulfanylations with esters of *N*-Boc-protected cysteine, cystine and aromatic amino acid. The stability of both starting reagents in aqueous media was investigated to enable further coupling of (aza)quinolizine diazonium salts to proteins. Both diazonium salts were successfully used in bioconjugation reactions. We demonstrated that (aza)quinolizine diazonium tetrafluoroborates can be used for fluorescent labelling. Under photocatalysed conditions, these diazonium salts bind to thiol and disulfide bonds of cysteine residues, as well as to aryl groups of aromatic amino acid residues. In contrast, the sulfanylation reaction is favoured under thermal conditions. Bovine serum albumin (BSA) was selected as a model protein. We also developed a method for binding quantification and optimised binding conditions.

Anja Kores, Kemijski inštitut, Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Taja Železnik Ramuta, Kemijski inštitut, Ljubljana

Zaviranje delovanja NINJ-1 z uporabo kratkih protismernih oligonukleotidov

Ninjurin 1 (NINJ-1) je protein, ki ima v procesu litične celične smrti pomembno vlogo pri poškodbi plazmaleme, pri kateri se iz poškodovanih celic sprostijo s poškodbo povezane molekule (damage-associated molecular patterns, DAMP) in sprožijo vnetje. Zapleti se lahko pojavijo pri bolnikih s kroničnimi vnetnimi boleznimi, pri katerih sproščanje vnetnih molekul DAMP kot posledica uničenja plazmaleme z NINJ-1 prispeva k napredovanju vnetnih bolezni. V nalogi smo želeli razviti nov pristop za zaviranje delovanja NINJ-1. Odločili smo se za uporabo protismernih oligonukleotidov (antisense oligonucleotides, ASO), ki se je že izkazala kot varna in učinkovita metoda ter s katero dosežemo natančno in specifično tarčno delovanje. V magistrskem delu smo testirali delovanje različnih ASO na zaviranje izražanja NINJ-1 in razvijali sisteme, s katerimi bi lahko delovanje ASO ovrednotili. S testom živosti s propidijevim jodidom smo dokazali, da čezmerno izražanje NINJ-1 sproži celično smrt v celični liniji HEK293T. Delovanje petih različnih ASO smo preizkusili z dvema različnima pristopoma – najprej smo razvili sistem z luciferaznim reporterjem, nato pa še sistem, ki temelji na določanju deleža celične smrti s propidijevim jodidom. Preizkušeni ASO niso zmanjšali izražanja NINJ-1. V okviru naloge smo razvijali še tri dodatne pristope za vrednotenje delovanja protismernih oligonukleotidov na izražanje NINJ-1. Ugotovili smo, da posrednih učinkov ASO na izražanje NINJ-1 ne moremo spremljati na podlagi aktivacije z vnetjem povezanih promotorjev, ki se odzivajo na vnetne dejavnike, medtem ko lahko spremembe v izražanju NINJ-1 posredno spremljamo prek vnetnih citokinov, ki jih izločajo imunske celice ob stiku s celicami, ki izražajo NINJ-1.

Anja Kores, National Institute of Chemistry, Ljubljana, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana
Supervisor: Taja Železnik Ramuta, National Institute of Chemistry, Ljubljana

Development of Approach to Inhibit NINJ-1 Using Antisense Oligonucleotides

Ninjurin-1 (NINJ-1) is a protein that plays an important role in plasma membrane rupture during lytic cell death, during which DAMP (damage-associated molecular patterns) molecules are released from damaged cells and trigger the inflammatory process. In patients with chronic inflammatory diseases, complications may arise due to the release of inflammatory DAMP molecules resulting from plasma membrane disruption by NINJ-1, which may contribute to the progression of inflammatory diseases. In this thesis, we aimed to develop a novel approach to inhibit NINJ-1 activity. We used antisense oligonucleotides (ASO), as they enable precise and specific targeting and have also been proven to be a safe and effective approach for regulation of gene expression. In the master's thesis, we tested the effects of different ASOs on NINJ-1 expression and developed various systems to evaluate ASO activity. Using the propidium iodide viability assay, we demonstrated that NINJ-1 overexpression triggers cell death in the HEK293T cell line. The activity of five different ASOs was tested using two approaches – first, we developed a luciferase reporter system, and second, we used a system based on the quantification of cell death with propidium iodide. The tested ASOs did not reduce NINJ-1 expression. Within the scope of this project, we also developed three additional approaches for the indirect evaluation of ASO activity. While the indirect effects of ASOs on NINJ-1 expression cannot be monitored through the activation of inflammation-responsive promoters, changes in NINJ-1 expression can be indirectly assessed via inflammatory cytokines secreted by immune cells that come into contact with NINJ-1-expressing cells.

Lara Omahen, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Mateja Erdani Kreft, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Somentor: Aleksandar Janev, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

Vloga citokinov v protimikrobnem delovanju humane amnijske membrane

Zaradi naraščajoče odpornosti bakterij proti antibiotikom je ključen razvoj novih protimikrobnih učinkovin. Obetaven vir teh učinkovin je humana amnijska membrana (hAM), vendar mehanizmi njenega protimikrobnega delovanja še niso povsem pojasnjeni. Iz hAM smo pripravili različne pripravke (homogenat, izvleček in pelet) in jih glede na protimikrobno delovanje opredelili kot delujoče in nedelujoče. Namen raziskave je bil proučiti dejavnike, ki vplivajo na protimikrobni učinek teh pripravkov, ter z analizo citokinskega in širšega proteinskega profila pojasniti razlike med njimi. Rezultati so pokazali, da je protimikrobni učinek odvisen od tipa pripravka in uporabljenega homogenizatorja, medtem ko vpliva biološke variabilnosti posteljic nismo zaznali. Ugotovili smo, da pri protimikrobnem delovanju sodelujejo molekule različnih molekulskih mas, pri čemer temperaturna občutljivost in/ali odvisnost od kovinskih ionov kaže na encimsko, proteinsko naravo ključnih dejavnikov – verjetno metaloproteinaz. Pri analizi citokinov smo opazili trend večjih relativnih količin v delujočem izvlečku v primerjavi z nedelujočim. Največje razlike smo opazili pri CCL8, CCL20, CCL26, CXCL9 in CCL7, pri čemer glede na podatke iz literature k protimikrobnemu učinku najverjetneje prispevajo CXCL9, CCL20 in CCL26. Proteomska analiza je pokazala, da so v nedelujočih pripravkih bolj izraženi proteini, povezani z imunskim sistemom in zaviranjem peptidazne aktivnosti. To skupaj z zmanjšanjem protimikrobnega učinka delujočega pripravka po dodatku inhibitorjev proteaz ter po kombiniranju delujočega in nedelujočega pripravka podpira hipotezo, da metaloproteinaze s proteolitičnim procesiranjem prekurzorskih molekul sprostijo protimikrobne peptide in da nedelujoči pripravki vsebujejo inhibitorne molekule, verjetno tudi inhibitorje metaloproteinaz. Te ugotovitve prispevajo k razumevanju mehanizmov protimikrobnega delovanja hAM in so izhodišče za razvoj novih protimikrobnih učinkovin.

Lara Omahen, Faculty of Medicine, University of Ljubljana
Supervisor: Mateja Erdani Kreft, Faculty of Medicine, University of Ljubljana
Co-supervisor: Aleksandar Janev, Faculty of Medicine, University of Ljubljana

Role of Cytokines in Antimicrobial Activity of Human Amniotic Membrane

Due to rising antimicrobial resistance, the development of new antimicrobial agents is crucial. The human amniotic membrane (hAM) is a promising source, yet its precise antimicrobial mechanisms remain unclear. We prepared various hAM preparations (homogenate, extract, and pellet) and classified them as active or inactive according to their antimicrobial activity. Our aim was to investigate factors influencing their antimicrobial activity and, through cytokine and proteomic profiling, explain the differences between them. The antimicrobial effect depended on the type of preparation and the homogeniser used, whereas no influence of placental biological variability was observed. Molecules of various molecular weights contributed to the antimicrobial activity, with temperature sensitivity and/or metal ion dependence indicating an enzymatic, proteinaceous nature of key factors – likely metalloproteinases. In the cytokine analysis, we observed a trend towards higher relative cytokine levels in the active extract compared to the inactive one. The greatest differences were observed in CCL8, CCL20, CCL26, CXCL9, and CCL7, with CXCL9, CCL20, and CCL26 being the most likely contributors to the antimicrobial effect based on literature data. The proteomic analysis showed that proteins associated with immune response and the inhibition of peptidase activity were more highly expressed in the inactive preparations. Additionally, the antimicrobial activity of the active preparations was reduced by protease inhibitors and by the combination of active and inactive preparations. Together, these findings support the hypothesis that metalloproteinases release antimicrobial peptides via proteolytic processing of precursor molecules and further suggest that inactive preparations contain inhibitory molecules, likely including metalloproteinase inhibitors. Overall, these findings improve our understanding of hAM antimicrobial activity and provide a basis for the development of novel antimicrobial agents.

Monika Gregorič Tasić, Kemijski inštitut, Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Iva Hafner Bratkovič, Kemijski inštitut, Ljubljana

Priprava in ovrednotenje delovanja majhnih vezavnih proteinskih posrednikov ninjurina 1

Ninjurin 1 je transmembranski protein, ki posreduje poškodbo celične membrane pri nekaterih oblikah nekrotične celične smrti in spodbuja vnetje, med drugim pri sekundarni nekrozi po apoptozi, piroptozi in feroptozi. Povezan je s številnimi boleznimi in je potencialno dobra terapevtska tarča, vendar za zdaj poznamo zelo malo načinov, kako zavreti njegovo delovanje. V okviru magistrske naloge smo z *de novo* načrtovanimi minivezavnimi proteinskimi posredniki želeli spremeniti potek z ninjurinom 1 posredovane poškodbe membrane. Minivezavni proteini naj bi se tarčno vezali na amfipatični del proteina ter tako preprečevali njegovo fibrilacijo in poškodbo plazmaleme. Z računalniškimi orodji smo načrtovali minivezavne proteine ter pripravili ekspresijske konstrukte zanje in za tarče: mišji ninjurin 1, mišji ninjurin 2 in humani ninjurin 1. Vse proteine smo pripravili v bakterijskem ekspresijskem sistemu, jih izolirali in z vezavnim testom naredili ožjo izbiro za nadaljnje delo. Šestim izbranim minivezavnim proteinom smo določili sekundarno strukturo in testirali njihov vpliv na poškodbo membrane med indukcijo različnih tipov celične smrti, ki smo jo spremljali z meritvami sproščanja laktatne dehidrogenaze in vstopa propidijevega jodida v celice. Naši rezultati nakazujejo, da minivezavni proteini stimulirajo poškodbo membrane med piroptozo, med feroptozo pa jo zavirajo. Vse več študij nakazuje vpletenost feroptoze v različne bolezni, predvsem nevrodegenerativne, kar poudarja pomen načrtovanih minivezavnih proteinov kot zaviralcev feroptoze in vnetja.

Monika Gregorič Tasić, National Institute of Chemistry, Ljubljana, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana
Supervisor: Iva Hafner Bratkovič, National Institute of Chemistry, Ljubljana

Preparation and Functional Evaluation of Minibinder Proteins Targeting Ninjurin 1

Ninjurin 1 (NINJ1) is a transmembrane protein that mediates plasma membrane rupture in necrotic cell death and promotes inflammation during secondary necrosis after apoptosis, pyroptosis, and ferroptosis. It is implicated in a wide range of diseases, making it a promising therapeutic target, yet few inhibitors have been identified. In this master's thesis, we modified NINJ1-mediated membrane rupture using *de novo* designed minibinder proteins engineered to bind the amphipathic region of NINJ1, inhibiting its oligomerisation and membrane rupture. We designed minibinders *in silico* and prepared expression constructs for each candidate and for three target proteins: mouse NINJ1, mouse NINJ2, and human NINJ1. All proteins were produced in a bacterial expression system, purified, and screened by a binding assay. For six selected minibinders, we determined the secondary structure and assessed effects on membrane rupture during different forms of cell death by measuring lactate dehydrogenase release and propidium iodide uptake. The minibinders enhanced membrane rupture during pyroptosis but suppressed it during ferroptosis, highlighting their therapeutic potential as ferroptosis and inflammation inhibitors.

Tilen Kralj, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Odon Planinšek, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Ovrednotenje granulatov mezoporozne silike z različnimi razgrajevali za izdelavo orodisperzibilnih tablet

Koloidna silika je zaradi svoje inertnosti, velike specifične površine, poroznosti in velike gostote pomembna pomožna snov v farmacevtski industriji. Uporablja se kot drsilo, mazivo in nosilka slabo topnih zdravilnih učinkovin, vendar njeno uporabo omejujejo slabe pretočne lastnosti. V magistrski nalogi smo proučevali granulacijo silike Syloid® 244 FP z različnimi vezivi ter ovrednotili pretočne lastnosti, stisljivost in kompaktibilnost granulatov. V nadaljnjih formulacijah smo raziskovali vpliv dodatka nizko substituirane hidroksipropilceluloze (L-HPC LH-22), maziv in kombinacije različnih veziv. Iz izbranih formulacij smo izdelali tudi orodisperzibilne tablete in preverili njihovo skladnost z Evropsko farmakopejo. Rezultati so pokazali, da granulacija bistveno izboljša pretočne lastnosti silike. Med proučevanimi vezivi je najboljše rezultate dosegel Primojel®, medtem ko je dodatek L-HPC izboljšal stisljivost in kompaktibilnost, ampak poslabšal pretočnost. Kombinacija dveh veziv se je izkazala za učinkovitejšo od uporabe posameznega veziva. Izdelane orodisperzibilne tablete so ustrezale zahtevam Evropske farmakopeje glede enakomernosti mase, krušljivosti in časa razpadanja.

Tilen Kralj, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Supervisor: Odon Planinšek, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana

Evaluation of Mesoporous Silica Granules with Various Disintegrants for Orodispersible Tablet Production

Colloidal silica is an important pharmaceutical excipient due to its inertness, high specific surface area, porosity, and low density. It is widely used as a glidant, lubricant, and carrier for poorly water-soluble active pharmaceutical ingredients; however, its application is limited by poor flow properties. In this master's thesis, the granulation of Syloid® 244 FP silica using different binders was investigated, and the flow properties, compressibility, and compactibility of the resulting granules were evaluated. In subsequent formulations, the effects of adding low-substituted hydroxypropyl cellulose (L-HPC LH-22), lubricants, and combinations of different binders were also examined. Orodispersible tablets were prepared from selected formulations and evaluated for compliance with the European Pharmacopoeia. The results showed that granulation significantly improved the flow properties of silica. Among the investigated binders, Primojel® exhibited the best performance, while the addition of L-HPC enhanced compressibility and compactibility but reduced flowability. Combinations of two binders proved to be more effective than the use of a single binder. The prepared orodispersible tablets complied with the European Pharmacopoeia requirements for mass uniformity, friability, and disintegration time.

Iza Klemenčič, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani, Univerzitetni klinični center Ljubljana
Mentor: Joško Osredkar, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: Bojan Knap, Univerzitetni klinični center Ljubljana

Primerjava enačb za oceno hitrosti glomerulne filtracije: vloga merjenja koncentracije cistatina C pri izboljšanju natančnosti diagnostike kronične ledvične bolezni

Natančna določitev hitrosti glomerulne filtracije (GF) je ključna za diagnostiko in vodenje kronične ledvične bolezni (KLB). V okviru magistrske naloge smo z retrospektivno analizo primerjali rezultate treh uveljavljenih enačb CKD-EPI za oceno hitrosti GF, ki temeljijo na serumski koncentraciji kreatinina (S_{kr}), cistatina C (S_{cisC}) ter kombinacije S_{kr} in S_{cisC}. Raziskovali smo, katera da najbolj natančne in točne rezultate za pravilno diagnozo KLB. Ugotovljeno je bilo, da je bilo 10 % bolnikov s KLB uvrščenih v različne stopnje bolezni glede na uporabljeno enačbo. Statistična analiza in podroben pregled posameznih kliničnih primerov sta potrdila, da s kombinirano enačbo dobimo najprimernejšo oceno ledvičnega delovanja, medtem ko je enačba na podlagi S_{cisC} ključna za odkrivanje zgodnjih faz ledvične okvare. Raziskava utemeljuje uvedbo kombinirane enačbe v rutinsko klinično prakso in daje smernice za izbiro najprimernejše enačbe.

Iza Klemenčič, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana, University Medical Centre Ljubljana
Supervisor: Joško Osredkar, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: Bojan Knap, University Medical Centre Ljubljana

Comparison of Equations for Estimating Glomerular Filtration Rate: Role of Cystatin C Level Measurements in Improving Accuracy of Chronic Kidney Disease Diagnosis

Accurate determination of the glomerular filtration rate (GFR) is essential for the diagnosis and management of chronic kidney disease (CKD). In this master's thesis, a retrospective analysis was conducted to compare three established CKD-EPI equations for GFR estimation based on serum creatinine (S_{cr}), cystatin C (S_{cysC}), and their combination. The study aimed to identify which equation provides the most precise and accurate results for reliable CKD diagnosis. The findings showed that 10% of patients were classified into different disease stages depending on the equation used. Statistical analysis and detailed clinical case reviews confirmed that the combined equation offers the most reliable assessment of renal function, while the S_{cysC} based equation is crucial for detecting early-stage renal impairment. The research justifies implementing the combined equation in routine clinical practice and provides guidelines for selecting the most appropriate equation.

Eva Pinter, Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Barbara Breznik Vittori, Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana
Somentorica: Metka Novak, Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana

Učinki antagonistov tirozin kinaznega receptorja TGF-βRI in kemokinskega receptorja CCR5 v 3D-celičnih modelih glioblastoma

Glioblastom ostaja eden najagresivnejših in smrtonosnih možganskih tumorjev predvsem zaradi raznolikega tumorskega mikrookolja in posledično razvoja odpornosti proti standardnemu zdravljenju. Rakave celice izločajo imunosupresivne molekule, kot sta TGF-β in CCL5, ki zdrave imunske celice preoblikujejo tako, da začnejo spodbujati rast tumorja. Nove terapevtske strategije temeljijo predvsem na kombiniranih pristopih, ki so usmerjeni v celotno tumorsko mikrookolje, s čimer krepijo bolnikov lastni imunski odziv. V študiji smo zato ovrednotili učinke galunisertiba, antagonista receptorja TGF-βRI, ter maraviroka, inhibitorja kemokinskega receptorja CCR5, na viabilnost in invazivnost 3D-modelov glioblastoma, pripravljenih iz bolnikovih tumorjev. Preverili smo, ali ciljanje teh signalnih tarč poveča občutljivost glioblastomskih celic za standardno zdravljenje. V 3D-modelih je galunisertib le pri dveh od šestih tumorjev povečal občutljivost za standardno zdravljenje, ob tem pa je sprožil aktivacijo ERK-poti, kar nakazuje možen mehanizem odpornosti. Maravirok je povečal invazivnost organoidov, vendar ni izboljšal terapevtske občutljivosti, kar kaže, da je pri zdravljenju glioblastoma pomembno razumeti kompenzacijske signalne poti. Premagovanje imunosupresivnega tumorskega mikrookolja in razumevanje mehanizmov terapevtske odpornosti, vključno z aktivacijo kompenzacijskih poti, je ključno za razvoj učinkovitejših terapij za glioblastom.

Eva Pinter, National Institute of Biology, Ljubljana, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana
Supervisor: Barbara Breznik Vittori, National Institute of Biology, Ljubljana
Co-supervisor: Metka Novak, National Institute of Biology, Ljubljana

Effects of Antagonists of Tyrosine Kinase Receptor TGF-βRI and Chemokine Receptor CCR5 in 3D Cell Models of Glioblastoma

Glioblastoma remains one of the most aggressive and deadliest brain tumours, primarily due to its heterogeneous tumour microenvironment and the development of resistance to standard therapy. Tumour cells secrete immunosuppressive molecules such as TGF-β and CCL5, which reprogramme immune cells to support tumour growth. Novel therapeutic strategies are therefore increasingly based on combination approaches targeting the tumour microenvironment to enhance the patient's immune response. In the present study, we evaluated the effects of galunisertib, a TGF-βRI antagonist, and maraviroc, a CCR5 chemokine receptor inhibitor, on the viability and invasiveness of patient-derived 3D glioblastoma models. In addition, we assessed whether targeting these signalling pathways increased the sensitivity of glioblastoma cells to standard therapy. In the 3D models, galunisertib enhanced sensitivity to standard therapy in two of six tumours while inducing activation of the ERK signalling pathway, suggesting a potential mechanism of therapeutic resistance. Maraviroc increased the invasiveness of the organoids but did not improve their therapeutic sensitivity, highlighting the importance of understanding compensatory signalling pathways in glioblastoma treatment. Overcoming the immunosuppressive tumour microenvironment and understanding the mechanisms of therapeutic resistance – including the activation of compensatory signalling pathways – are crucial for the development of more effective therapies for glioblastoma.

Jernej Birk, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Janez Košmrlj, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Poskus selektivnega devteriranja nekaterih heteroaril karboksamidov

Selektivno devteriranje *N*-heterocikličnih aromatov je pomembno za farmacevtske namene in za študije mehanizmov kemičnih reakcij. V diplomskem delu smo iz karboksilnih kislin diazinov sintetizirali šest karboksamidov. Pripravljene amide smo devterirali z usmerjenim *orto*-metaliranjem. To smo naredili z litijevim 2,2,6,6-tetrametilpiperididom ter težko vodo, ki je cenovno ugoden, varen in za okolje neškodljiv vir devterija. Po optimizaciji protokola smo štiri substrate uspešno in selektivno devterirali z veliko vključitvijo devterija, enega pa smo devterirali z manjšo regioselektivnostjo. Poleg devteriranih spojin smo kot stranske produkte metaliranja izolirali dimere začetnih amidov. Proučili smo vpliv različnih dejavnikov na učinkovitost devteriranja in tvorjenje dimerov. Prednost naše metode je bila uporaba težke vode kot vira devterija ter enostavnih reagentov brez dragocenih kovin, ki se klasično uporabljajo za take procese. Sintetizirane izotopsko označene amide bi bilo mogoče v prihodnosti uporabiti za sintezo devteriranih molekul z veliko dodano vrednostjo.

Jernej Birk, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Supervisor: Janez Košmrlj, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

Toward Selective Deuteration of Some Heteroaryl Carboxamides

Selective deuteration of *N*-heterocyclic aromatics is important for pharmaceutical purposes and for studying reaction mechanisms. As part of this thesis, six carboxamides were synthesised from diazine carboxylic acids. The synthesised amides were subjected to deuteration using directed ortho-metalation. This was achieved using lithium 2,2,6,6-tetramethylpiperidide and employing heavy water as an inexpensive, safe, and environmentally friendly deuterium source. After optimising the protocol, four substrates were selectively deuterated with high deuterium incorporation, while one substrate exhibited lower regioselectivity. In addition to the deuterated compounds, we isolated dimers of the starting amides as side products of the metalation. Several factors influencing the efficiency of deuteration and dimer formation were investigated. Our method differs from existing approaches by using heavy water as the deuterium source and simple reagents, avoiding the use of precious metals typically used in such processes. The synthesised isotopically labelled amides could be further transformed and used in the synthesis of high-value deuterated molecules in the future.

Marcel Tušek, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Mentor: Marko Novinec, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Karakterizacija inhibicije treonin dehidrogenaze s specifičnimi derivati pirazola

Derivati pirazola zaradi svojega protimikrobnega delovanja v zadnjih letih vzbujajo vse več zanimanja. S presejanjem knjižnice pirazolov smo iskali spojine, ki bi jih lahko uporabili kot izhodišče za razvoj novih antibiotikov. Med njimi je izstopala spojina 4-(2-aminoetil)-1-(piridin-2-il)-1*H*-pirazol-5-ol (I1), ki je najučinkoviteje zavirala rast bakterije *Escherichia coli*. Spojina I1 je delovala kot inhibitor encima L-treonin dehidrogenaze (L-TDH), ki je ključen pri presnovi aminokislin in nastanku bakterijskega biofilma. Pri človeku ne poznamo funkcionalnega homologa tega encima, zato je L-TDH obetavna tarča za načrtovanje novih antibiotikov. Z eksperimenti smo raziskali vpliv spojine I1 in nekaterih drugih derivatov pirazola na aktivnost L-TDH ter njihov učinek na tvorjenje biofilmov. Izrazili in izolirali smo rekombinantno L-TDH in encimsko aktivnost spremljali fluorometrično prek redukcije kofaktorja NAD+ v NADH. Najmočnejši zaviralni učinek je imel derivat I1, spojina 2,5-difenil-1,2-dihidro-3*H*-pirazol-3-on (I2) pa je bila primerljivo učinkovita, vendar je bila njena uporaba pri višjih koncentracijah omejena zaradi slabe topnosti. Za proučevanje vpliva na tvorjenje biofilma so vsi testirani derivati delovali zaviralno, vendar sta le I1 in I2 neposredno vplivala na aktivnost TDH.

Marcel Tušek, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Supervisor: Marko Novinec, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

Characterisation of Threonine Dehydrogenase with Specific Pyrazole Derivatives

Pyrazole derivatives have gained increasing attention in recent years due to their antimicrobial activity. Through pyrazole library screening, we searched for compounds that could serve as a basis for new drug development. Among the tested compounds, 4-(2-aminoethyl)-1-(pyridin-2-yl)-1H-pyrazol-5-ole (I1) stood out as the most effective at inhibiting the growth of *Escherichia coli*. Compound I1 activity is mediated through the inhibition of L-threonine dehydrogenase (L-TDH), an enzyme essential for amino acid metabolism and bacterial biofilm formation. There is no functional human homologue of this enzyme; therefore, compound I1 represents a promising scaffold for the design of new antibiotics. In this study, we investigated the effects of I1 and various other pyrazole derivatives on L-TDH activity and on bacterial biofilm formation. Recombinant L-TDH was expressed and purified, and enzymatic activity was monitored fluorometrically by following the reduction of the cofactor NAD^+ to NADH. The strongest inhibitory effect was observed for derivative I1, while derivative 2,5-diphenyl-1,2-dihydro-3*H*-pyrazole-3-one (I2) showed comparable potency, although its use at higher concentrations was limited due to poor solubility. In biofilm assays, all tested derivatives exhibited inhibitory effects; however, only I1 and I2 directly affected TDH activity.

Manca Bajuk, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Nataša Gros, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Kvalifikacije modularnega spektrometra na primerih merjenja fluorescence in absorbance spojin farmacevtskega pomena

Po zgledu kvalifikacije modularnega spektrometra USB4000-UV-VIS smo izvedli kvalifikacijo modularnega spektrometra HR-6XR300-25 pri merjenju fluorescence in absorbance spojin farmacevtskega pomena – kinin sulfata, rodamina B, riboflavina, fluoresceina, salicilne kisline, benzojske kisline in folne kisline. Naredili smo kvalifikacije svetlobnega vira, optičnih vlaken, kivet in spektrometričnega detektorja. Pri kvalifikaciji svetlobnega vira smo z zaslonkami premerov 5 µm, 25 µm in 200 µm posneli emisijska spektra obeh žarnic (halogenske, devterijeve) ter določili sprejemljivo višino bazne linije in preverili njeno časovno stabilnost. Ugotovili smo, da je za doseganje večjega razmerja signal-šum in točnejših valovnih dolžin devterijevo žarnico pred uporabo treba ogrevati vsaj 15 minut, halogensko pa 30 minut. Pri kvalifikaciji optičnih vlaken smo ugotovili, da ima premer jedra večji vpliv na prepustnost svetlobe kot njegova dolžina ter da so uporabljena optična vlakna uporabna v specificiranem območju. Pri kvalifikaciji kivet smo ugotovili, da se deklarirana območja uporabe ujemajo z eksperimentalnimi. Predlagali smo optimalne nastavitve snemanja absorpcijskih in emisijskih spektrov, ki zajemajo izbiro žarnice, spektrometra in zaslonke, nastavitev parametrov, kot so čas integriranja, število povprečnih spektrov in širina glajenja, ter izbiro načina vezave optičnih vlaken. Pri teh nastavitvah smo s kvalifikacijo spektrometričnega detektorja z empiričnim pristopom ugotavljali mejo določljivosti in območje linearnosti pri merjenju fluorescence in absorbance izbranih spojin. Z modularnima spektrometroma pri rodaminu B, riboflavinu, fluoresceinu in folni kislini ni bilo mogoče posneti absorpcijskih vrhov v območju pod 300 nm, prav tako ni bilo mogoče posneti emisijskih spektrov benzojske in folne kisline. Kvalifikacija spektrometričnega detektorja je zajemala tudi eksperimente verifikacije in določanje točnosti valovnih dolžin, na podlagi katerih smo ugotovili, da sta oba spektrometra ustrezno kalibrirana in z obema lahko pri vseh treh zaslonkah izmerimo točne valovne dolžine.

Manca Bajuk, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Supervisor: Nataša Gros, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

Qualifications of Modular Spectrometer on Examples of Fluorescence and Absorbance Measurements of Compounds of Pharmaceutical Importance

We conducted the qualification of modular spectrometer HR-6XR300-25 on examples of fluorescence and absorbance measurements of compounds of pharmaceutical importance – quinine sulfate, rhodamine B, riboflavin, fluorescein, salicylic acid, benzoic acid, and folic acid – following the example of the qualification of the modular spectrometer USB4000-UV-VIS. The qualification included qualifications of the light source, optical fibres, cuvettes, and spectrometric detector. In the qualification of the light source, using slits with diameters of 5 µm, 25 µm, and 200 µm, we recorded the emission spectra of both lamps (halogen and deuterium), determined the acceptable baseline height, and checked the stability of the baseline. We found that heating the deuterium lamp for at least 15 minutes before use and the halogen lamp for 30 minutes was necessary to achieve higher signal-to-noise ratio and more accurate wavelengths. In the qualification of optical fibres, we found that core diameter had a greater impact on light transmission than its length and that used optical fibres were usable in the specified spectral range. From the cuvette qualification, we concluded that the declared areas of use matched the experimental ones. We proposed optimal settings for recording absorption and emission spectra, including the selection of the lamp, spectrometer, and slit, the setting of acquisition parameters such as Integration Time, Scans to Average and Boxcar Width, and selection of the optical fibre combination. During the detector qualification, using these settings, we determined the limit of quantification with empirical method and linear range for fluorescence and absorbance measurements of selected compounds. We were not able to obtain absorption peaks in the range below 300 nm for rhodamine B, riboflavin, fluorescein, and folic acid, and emission peaks of benzoic and folic acid with none of the modular spectrometers. The qualification of the spectrometric detector also included the verification and wavelength accuracy determination, indicating that both spectrometers were properly calibrated and enabled an accurate measurement of wavelengths using all three slits.

Jan Čagalj, Fakulteta za elektrotehniko, Univerza v Ljubljani
Mentorica: Lea Rems, Fakulteta za elektrotehniko, Univerza v Ljubljani

Vpogled v elektroporacijo celične membrane s simulacijami molekularne dinamike

Elektroporacija je pojav, pri katerem izpostavljanje bioloških celic visokonapetostnim električnim pulzom vodi v začasno povečanje prepustnosti njihovih membran. Simulacije molekularne dinamike (MD) so pokazale, da je povečana prepustnost membran posledica vodnih por, ki pod vplivom zunanjega električnega polja nastajajo v celičnih membranah. Še vedno pa ostaja odprto vprašanje, ali je nastanek vodnih por ugodnejši v lipidnih domenah membrane ali v napetostno odvisnih ionskih kanalih. V delu smo z atomističnimi simulacijami MD iskali odgovor na to vprašanje. Zasnovali smo dvosloj, sestavljen iz 15 vrst lipidov, ki je predstavljal realističen model lipidne domene v celični membrani, najbolj dovzetne za nastanek por. Čas, potreben za nastanek por v tem dvosloju, smo nato primerjali s časom, potrebnim za elektroporacijo dvosloja 1-pamitoil-2-oleoilfosfatidilholin (POPC), ki je najbolj poenostavljen model celične membrane, in dveh klinično relevantnih napetostno odvisnih ionskih kanalov – NaV1.5 in CaV1.1. Pri dani vrednosti električnega polja je bil nastanek por skozi napetostno odvisna ionska kanala hitrejši, kar kaže na veliko verjetnost poškodbe teh kanalov pri elektroporaciji ter potencialne spremembe v njihovi sposobnosti proženja akcijskih potencialov in obliki le-teh po elektroporaciji mišičnih in nevronskih celic. Ugotovitve so pomembne za optimizacijo zdravljenj, ki temeljijo na elektroporaciji, kot so ablacija srčne mišice in možganskih tumorjev ter vnos nukleinskih kislin v skeletne in srčne mišice za namene genskega zdravljenja.

Jan Čagalj, Faculty of Electrical Engineering, University of Ljubljana
Supervisor: Lea Rems, Faculty of Electrical Engineering, University of Ljubljana

Insights into Cell Membrane Electroporation with Molecular Dynamics Simulations

Electroporation is a phenomenon in which exposing cells to high-voltage electric pulses leads to a temporary increase in membrane permeability. Molecular dynamics (MD) simulations have revealed that the increase in membrane permeability can be attributed to the formation of aqueous pores under the influence of an external electric field. Yet the question remains whether electroporation is favoured in lipid domains of the membrane or in voltage-gated ion channels (VGICs). Using atomistic MD simulations, we set out to answer this question. We designed a lipid bilayer composed of 15 different types of lipids, modelling a realistic lipid domain within a cell membrane that has the highest propensity for electroporation. The times required to form pores in the designed lipid bilayer were then compared to the times required for electroporation in 1-palmitoyl-2-oleoyl phosphatidylcholine (POPC) lipid bilayer, representing the simplest model of a cell membrane, and two clinically relevant VGICs, NaV1.5 and CaV1.1. At a given electric field strength, pores formed more readily in VGICs, indicating a high susceptibility of these channels to electroporation-induced damage. Such damage may affect the ability of muscle and neuronal cells to trigger action potentials (AP) and alter the shape of these APs after electroporation. The findings of this study are important for optimising electroporation-based treatments, such as cardiac ablation for the treatment of heart arrhythmias, ablation of brain tumours, and nucleic acid delivery into skeletal and cardiac muscle for gene therapy.

Tisa Lombar, Urban Perko, Gimnazija Vič
Mentorica: Alenka Mozer, Gimnazija Vič
Mentor: Marko Novinec, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Somentorica: Ana Obaha, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Dimerizacija lizocima T7 z antiparalelnimi obvitimi vijačnicami proteina Sso10a

Encimi so naravno prisotne beljakovine, ki katalizirajo biokemične reakcije in imajo ključno vlogo v biotehnologiji in pri optimizaciji industrijskih procesov. Naša raziskava je bila usmerjena v ustvarjanje samosestavljivega encimskega dimera, saj je bilo dokazano, da oligomerizacija poveča stabilnost in učinkovitost beljakovin. Po številnih poskusih nam je z uporabo strukture obvite vijačnice proteina Sso10a uspelo ustvariti dimer lizocima T7. Ta modifikacija je povzročila 58-odstotno povečanje katalitične aktivnosti, hkrati pa ohranila sposobnost divjega tipa lizocima T7, da razgradi po Gramu pozitivne in po Gramu negativne bakterije. Poleg tega je vezava α-vijačnic proteina Sso10a učinkovito zavrla sposobnost lizocima T7, da inhibira RNA-polimerazo T7, kar je izboljšalo izražanje encima. Te izboljšave ne le povečajo katalitično aktivnost encima, temveč omogočajo tudi učinkovitejšo in cenovno ugodnejšo proizvodnjo. S takim procesom dimerizacije bi lahko izboljšali industrijske in farmacevtske procese, saj bi dosegli večjo stabilnost in katalitično aktivnost encimov. V sinergiji z bakteriofagi bi bila dimerizacija lizocima T7 kot alternativa konvencionalnim antibiotikom lahko močno orodje v boju proti bakterijam, odpornim proti antibiotikom. Poleg tega bi širša uporaba encimov, npr. v živilski industriji, lahko zmanjšala proizvodne stroške in prispevala k večji trajnostnosti.

Tisa Lombar, Urban Perko, Gimnazija Vič Grammar School
Supervisor: Alenka Mozer, Gimnazija Vič Grammar School
Supervisor: Marko Novinec, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Co-supervisor: Ana Obaha, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

Dimerisation of T7 Lysozyme Using Antiparallel Coiled Coils from Protein Sso10a

Enzymes are naturally occurring proteins that catalyse biochemical reactions and play a crucial role both in biotechnology and in the optimisation of industrial processes. Our research was focused on creating a self-assembling enzyme dimer, as protein oligomerisation has been shown to increase stability and efficiency. After numerous experiments, we successfully created a T7 lysozyme dimer using the coiled-coil structure of the Sso10a protein. This modification resulted in a 58% increase in catalytic activity, while maintaining the ability of wild-type T7 lysozyme to degrade Gram-positive and Gram-negative bacteria. Furthermore, the binding of α-helices of the Sso10a protein effectively suppressed the ability of T7 lysozyme to inhibit T7 RNA polymerase, leading to improved enzyme expression. These improvements not only increase the catalytic activity of the enzyme, but also enable more efficient and cost-effective production. Such a dimerisation process could improve industrial and pharmaceutical processes by achieving greater stability and catalytic activity of enzymes. In synergy with bacteriophages, the dimerisation of T7 lysozyme as an alternative to conventional antibiotics could serve as a powerful tool in the fight against antibiotic-resistant bacteria. Moreover, a broader use of enzymes, for example in the food industry, could imply lower production costs and greater sustainability.

Eva Embreuš, Izabela Križanič, Prva gimnazija Maribor
Mentor: Denis Čuček, Prva gimnazija Maribor
Somentor: Roman Kranvogl, Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Maribor
Somentorica: Vesna Breznik, Univerzitetni klinični center Maribor

Vpliv salicilne kisline v hidrokoloidnih obližih za akne: kemijska karakterizacija in klinična ocena

Navadne akne (lat. *acne vulgaris*) so pogosta dermatoza. Za lokalno zdravljenje se velikokrat uporabljajo hidrokoloidni obliži (HO), na trgu pa so tudi HO s salicilno kislino (SA) s keratolitičnim, protivnetnim in komedolitičnim delovanjem. V kemijskem delu naloge smo z visokotlačno tekočinsko kromatografijo z nizom diod (HPLC–DAD) določili maso SA v HO, katerih koncentracije so se gibale med 0,02 in 0,87 µg/HO. V klinični 7-dnevni pilotni študiji smo na 20 preiskovankah primerjali učinkovitost HO z najvišjo in najnižjo izmerjeno koncentracijo SA, HO brez SA ter stanje pri kontrolni skupini, ki ni uporabljala kozmetičnih sredstev. Rezultati so pokazali, da so pri zmanjševanju premera mozoljev najučinkovitejši HO brez SA. Pri HO s SA so se pogosteje pojavljali rdečica, srbenje, pekoč občutek in luščenje. Razlike med obliži z različnimi koncentracijami SA niso bile klinično pomembne.

Eva Embreuš, Izabela Križanič, Prva Gimnazija Maribor Grammar School
Supervisor: Denis Čuček, Prva Gimnazija Maribor Grammar School
Co-supervisor: Roman Kranvogl, National Laboratory of Health, Environment and Food, Maribor
Co-supervisor: Vesna Breznik, University Medical Centre Maribor

Effect of Salicylic Acid in Hydrocolloid Acne Patches: Chemical Characterisation and Clinical Evaluation

Acne (*acne vulgaris*) is a common dermatosis. For its topical treatment, hydrocolloid patches (HP) are often used. Hydrocolloid patches containing added salicylic acid (SA), which has keratolytic, anti-inflammatory, and comedolytic effects, have also become available on the market. In the chemical part of the study, we used high-performance liquid chromatography with a diode array detector (HPLC–DAD) to determine the mass of salicylic acid per HP, with concentrations ranging from 0.02 to 0.87 µg/HP. In a 7-day clinical pilot study involving 20 participants, we compared the effectiveness of HPs with the highest and lowest determined SA concentrations, HPs without SA, and a control group that did not use any cosmetic products. The results showed that HPs without SA were the most effective in reducing pimple diameter, whereas redness, itching, burning sensation, and peeling occurred more frequently with HPs containing SA. Differences between patches with different SA concentrations were not clinically significant.

Manca Boh, Zavod sv. Frančiška Saleškega, Gimnazija Želimlje
Mentorica: Eva Lajevec, Zavod sv. Frančiška Saleškega, Gimnazija Želimlje
Somentorica: Jana Kolar, Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana
Somentorica: Hend Mahgoub, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

Dopolnitev literarnozgodovinske interpretacije opusa Srečka Kosovela s pomočjo naravoslovnih metod

Namen raziskave je bil prispevati k natančnejšemu razumevanju časovnega zaporedja nastanka dokumentov z uporabo spektroskopskih analiznih tehnik. Analizirali smo kemični prstni odtis črnil na datiranih in nedatiranih rokopisih, izhajajoč iz predpostavke, da spremembe v sestavi črnila lahko odražajo časovno sosledje zapisov. Analize so bile izvedene v prostorih rokopisne zbirke Narodne in univerzitetne knjižnice ter v Laboratoriju za dediščinsko znanost na Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo Univerze v Ljubljani. Vizualnemu pregledu dokumentov je sledila kemična karakterizacija črnil s spektroskopijo FTIR, NIR in VNIR. Analize so bile izvedene na 49 dokumentih, na 11 datiranih in 38 nedatiranih. Ob uporabi samo posamezne spektroskopske tehnike je bila zmožnost razlikovanja med vzorci omejena, saj nobena ni omogočila dovolj robustne razdelitve vzorcev za zanesljivo kronološko interpretacijo. Združevanje podatkov različnih analiz je izboljšalo razlikovanje med vzorci in omogočilo identifikacijo treh potencialnih skupin črnil.

Manca Boh, St. Francis de Sales Institution, Gimnazija Želimlje Grammar School
Supervisor: Eva Lajevec, St. Francis de Sales Institution, Gimnazija Želimlje Grammar School
Co-supervisor: Jana Kolar, National and University Library
Co-supervisor: Hend Mahgoub, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana

Accretion to Literary-Historical Interpretation of Srečko Kosovel's Work Using Methods of Natural Science

The aim of this study was to contribute to a better understanding of the chronological sequence of the documents' creation through the use of spectroscopic analytical techniques. We analysed the chemical fingerprint of the ink in dated and undated manuscripts, based on the assumption that changes in the ink's composition may reflect the chronological sequence of the writings. The analyses were conducted in the manuscript collection of the National and University Library and at the Heritage Science Laboratory Ljubljana at the Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana. A visual examination of the documents was followed by the chemical characterisation of the inks using FTIR, NIR, and VNIR spectroscopy. Analyses were performed on 49 documents, 11 dated and 38 undated. Individual spectroscopic techniques showed limited discriminatory power, as none of the methods allowed for sufficiently robust classification of samples to enable reliable chronological interpretation. Combining data from different analyses improved sample differentiation and enabled the identification of three potential ink groups.

Živa Hutar, Brina Kramer, Gimnazija Novo mesto
Mentorica: Branka Klemenčič, Gimnazija Novo mesto
Somentor: Janez Ilaš, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: Matevž Turk, Gimnazija Novo mesto

Sinteza topoizomeraznih zaviralcev

Bakterijske okužbe so predvsem zaradi naraščajoče odpornosti bakterij proti antibiotikom vse večji izziv sodobnega zdravljenja. Zato se razvoj novih protibakterijskih učinkovin usmerja v iskanje tarčno bolj selektivnih zdravil, ki bi hkrati zmanjšala pojav neželenih učinkov. Bakterijska giraza je klinično potrjena tarča za protibakterijsko delovanje, saj encim katalizira kompleksen proces, ki je ključen za razmnoževanje bakterijskih celic. V raziskovalni nalogi smo se osredotočili na sintezo dveh novih katalitičnih zaviralcev bakterijske giraze, da bi razvili nove strategije za zmanjšanje bakterijske odpornosti. Izvedli smo večstopenjsko sintezo in analizo dveh spojin z različnimi funkcionalnimi skupinami izopropoksi oz. N-Boc. V strukturo molekul smo nato vključili fotosenzibilno kinolinsko zaščitno skupino, ki omogoča prehod molekul skozi celično membrano in nadzorovano aktivacijo biološko aktivnih molekul z obsevanjem. Med sintezo smo za spremljanje reakcij in klasifikacijo spojin uporabljali tekočinske kromatografske metode, masno spektrometrijo, tankoplastno kromatografijo ter jedrsko magnetno resonanco za potrditev strukture spojin.

Živa Hutar, Brina Kramer, Gimnazija Novo mesto Grammar School
Supervisor: Branka Klemenčič, Gimnazija Novo mesto Grammar School
Co-supervisor: Janez Ilaš, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana
Co-supervisor: Matevž Turk, Gimnazija Novo mesto Grammar School

Synthesis of Topoisomerase Inhibitors

Bacterial infections pose an increasing challenge for modern medicine, primarily due to the growing resistance of bacteria to existing antibiotics. As a result, the development of new antibacterial agents is increasingly focused on identifying more target-selective drugs that could also reduce the occurrence of side effects. Bacterial DNA gyrase is a clinically validated target for antibacterial action, as this enzyme catalyses a complex process essential for the replication of bacterial cells. In this research project, we focused on the synthesis of two novel catalytic inhibitors of bacterial gyrase with the aim of developing new strategies to reduce bacterial resistance. A multistep synthesis and analysis of two compounds bearing different functional groups, an isopropoxy group and an N-Boc group, was performed. A photosensitive quinoline protecting group was subsequently incorporated into the molecular structures, enabling the molecules to cross the cell membrane and allowing controlled activation of biologically active compounds upon irradiation. During the synthesis, reaction progress monitoring and compound characterisation were carried out using liquid chromatography, mass spectrometry, thin-layer chromatography, and nuclear magnetic resonance spectroscopy to confirm the structures of the synthesised compounds.

Ela Marčič, II. gimnazija Maribor
Mentorica: Natalija Jančič, II. gimnazija Maribor
Somentorja: Muzafera Paljevac, Gašper Vrečer, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru

Od dišeče molekule do polimera z učinkom proti bakterijam

Osnovni namen raziskovalne naloge je bil raziskati možnost priprave polimernih materialov z antibakterijskim delovanjem na osnovi evgenil metakrilata, sintetiziranega z esterifikacijo evgenola in anhidrida metakrilne kisline. Sinteza je potekala 48 ur pri 45 °C s 87-odstotnim izkoristkom, strukturo monomera pa smo potrdili s spektroskopijo FTIR in NMR. Evgenil metakrilat smo uporabili za sintezo poroznih poli(evgenil metakrilat-ko-etilen glikol dimetakrilatnih) monolitov s polimerizacijo emulzije z velikim deležem notranje faze, pri čemer smo pripravili monolite z različno vsebnostjo evgenil metakrilata (med 20 mol % in 80 mol %). Njihovo kemijsko sestavo in strukturo smo analizirali s spektroskopijo FTIR, elementno analizo, porozimetrijo in vrstično elektronsko mikroskopijo. Antibakterijsko delovanje evgenola in evgenil metakrilata smo ovrednotili z metodo difuzije na agarju, inokuliranem z bakterijo *Escherichia coli*. Rezultati so pokazali, da evgenil metakrilat ohranja antibakterijsko delovanje evgenola, kar potrjuje njegov potencial za razvoj materialov z antibakterijskim delovanjem.

Ela Marčič, II. Gimnazija Maribor Grammar School
Supervisor: Natalija Jančič, II. Gimnazija Maribor Grammar School
Co-supervisors: Muzafera Paljevac, Gašper Vrečer, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, University of Maribor

From Fragrant Molecule to Polymer with Antibacterial Activity

The primary objective of this research was to investigate the feasibility of preparing polymeric materials with antibacterial activity based on eugenyl methacrylate, synthesised via esterification of eugenol with methacrylic anhydride. The synthesis was conducted for 48 hours at 45 °C, yielding 87%, and the monomer structure was confirmed by FTIR and NMR spectroscopy. Eugenyl methacrylate was used to synthesise porous poly(eugenyl methacrylate-co-ethylene glycol dimethacrylate) monoliths via high internal phase emulsion polymerisation, resulting in monoliths with varying eugenyl methacrylate contents (between 20 mol% and 80 mol%). Their chemical composition and structure were analysed by FTIR spectroscopy, elemental analysis, porosimetry, and scanning electron microscopy. The antibacterial activity of eugenol and eugenyl methacrylate was evaluated using the agar diffusion method on agar inoculated with *Escherichia coli*. The results showed that eugenyl methacrylate retains the antibacterial activity of eugenol, confirming its potential for the development of antibacterial materials.

Jaka Krošl, Julija Leva, Srednja šola Slovenska Bistrica
Mentorica: Damijana Gregorič, Srednja šola Slovenska Bistrica
Somentorica: Petra Kotnik, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

Enkapsulacija ekstraktov semen črne kumine in njihova gastrointestinalna stabilnost

V raziskovalni nalogi smo s tremi različnimi ekstrakcijskimi metodami pripravili izvlečke semen črne kumine, za ekstrahiranje pa smo izbrali dve različni topili: metanol in heksan. Z lastno pripravljenimi fosfolipidi smo tvorili liposomske formulacije, pripravljene po metodi vbrizgavanja topila (solvent injection) in metodi hidracije tankega lipidnega filma. Metanolni izvleček črne kumine je bil enkapsuliran v liposome, pripravljene s hidracijo tankega lipidnega filma, na njih pa smo nato *in vitro* izvedli simulacijo gastrointestinalnega testa. S plinsko kromatografijo z masno spektrometrijo (GC-MS) smo identificirali bioaktivne komponente črne kumine v enkapsuliranih vzorcih ter po vsakem koraku simulacije prebavnega trakta kvantificirali količino timokinona in karvakrola.

Jaka Krošl, Julija Leva, Slovenska Bistrica Secondary School
Supervisor: Damijana Gregorič, Slovenska Bistrica Secondary School
Co-supervisor: Petra Kotnik, Faculty of Medicine, University of Maribor

Encapsulation of Black Cumin Seed Extracts and Their Gastrointestinal Stability

In this research project, extracts of black cumin seeds were prepared using three different extraction methods, employing two solvents for extraction: methanol and hexane. Liposomal formulations were prepared from self-produced phospholipids using the solvent injection method and the thin lipid film hydration method. The methanolic extract of black cumin was encapsulated in liposomes prepared by the thin lipid film hydration method. They were subsequently subjected to an *in vitro* simulation of gastrointestinal digestion. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was used to identify the bioactive components of black cumin in the encapsulated samples and to quantify the amounts of thymoquinone and carvacrol after each stage of the simulated digestive process.

Manca Pišljar, Nika Mihelčič, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola
Mentor: Marko Jeran, Institut Jožef Stefan, Ljubljana
Somentor: Luka Irenej Pečan, BioStratexa, Biotehnološke rešitve, Piran
Somentorici: Minja Zorc, Anja Tanšek, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Somentorica: Lidija Zavasnik, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola

Identifikacija dolgih nekodirajočih RNA (lncRNA) s skritim kodirnim potencialom v temnih regijah transkriptoma raka dojke

Dolgo je veljalo, da dolge nekodirajoče RNA (lncRNA) ne kodirajo beljakovin in imajo predvsem regulativne funkcije. Novejše raziskave pa kažejo, da nekatere lncRNA vsebujejo majhne odprte bralne okvirje (smORF), ki omogočajo nastanek kratkih, funkcionalno pomembnih proteinov ter pomembno razširjajo razumevanje t. i. temnega genoma. Namen raziskave je bil identificirati lncRNA s skritim kodirnim potencialom v slabo karakteriziranih regijah transkriptoma raka dojke ter primerjati njihov izraz med tumorskim in obtumorskim tkivom. Javno dostopne podatke RNA-seq smo analizirali z bioinformacijskimi orodji v okolju Galaxy. Diferencialno izražanje genov smo ovrednotili z metodo limma-voom, nekodirajoče transkripte pa smo glede na kodirni potencial dodatno analizirali z algoritmom PLEK. Identificirali smo številne statistično značilno diferencialno izražene lncRNA, med katerimi nekatere izkazujejo zvišan ali znižan izraz v tumorskem tkivu ter hkrati možen kodirni potencial. Rezultati kažejo, da so temne regije transkriptoma pomemben in še neraziskan vir novih biološko relevantnih molekul, ki lahko sodelujejo pri razvoju in napredovanju raka dojke. Identificirane lncRNA s potencialno kodirno funkcijo so obetavni kandidati za nadaljnje funkcionalne raziskave ter možne nove biomarkerje ali terapevtske tarče v onkologiji.

Manca Pišljar, Nika Mihelčič, Biotechnical Educational Centre Ljubljana, General Upper Secondary School and Veterinary Technician School
Supervisor: Marko Jeran, Jožef Stefan Institute, Ljubljana
Co-supervisor: Luka Irenej Pečan, BioStratexa, Biotech & Pharma Strategy, Piran
Co-supervisors: Minja Zorc, Anja Tanšek, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana
Co-supervisor: Lidija Zavasnik, Biotechnical Educational Centre Ljubljana, General Upper Secondary School and Veterinary Technician School

Identification of Long Non-Coding RNAs (lncRNAs) with Hidden Coding Potential in Dark Regions of Breast Cancer Transcriptome

For a long time, long non-coding RNAs (lncRNAs) were considered non-protein-coding molecules with primarily regulatory functions. However, recent studies have shown that some lncRNAs contain small open reading frames (smORFs) that enable the production of short, functionally relevant proteins, thereby significantly expanding our understanding of the 'dark genome'. The aim of this study was to identify lncRNAs with hidden coding potential within poorly characterised regions of the breast cancer transcriptome and to compare their expression between tumour and adjacent normal tissue. Publicly available RNA-seq datasets were analysed using bioinformatics tools implemented in the Galaxy environment. Differential gene expression analysis was performed using the limma-voom method, while non-coding transcripts were further evaluated for coding potential using the PLEK algorithm. We identified numerous statistically significantly differentially expressed lncRNAs, some of which were either upregulated or downregulated in tumour tissue and simultaneously showed potential coding capacity. Our results suggest that dark regions of the transcriptome represent an important and largely unexplored source of biologically relevant molecules that may contribute to breast cancer development and progression. The identified lncRNAs with potential coding function are promising candidates for further functional validation and may serve as novel biomarkers or therapeutic targets in oncology.

Tara Medved, Škofijska gimnazija Antona Martina Slomška, Maribor
Mentorica: Nika Atelšek Hozjan, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru
Somentorica: Andreja Navršnik Kačič, Škofijska gimnazija Antona Martina Slomška, Maribor

Od alg do bioaerogelov: priprava sferičnih nosilcev za peroralno dostavo deksametazona

V okviru raziskovalne naloge smo pripravili sferične bioaerogele iz agarja kot napredne nosilce za peroralno dostavo deksametazona. Polisaharidni aerogeli (bioaerogeli) so obetavna alternativa obstoječim farmacevtskim formulacijam, vendar sferični bioaerogeli iz agarja v znanstveni literaturi še niso opisani. V raziskavi smo s postopkom sol-gel pripravili sferične hidrogele, v katere smo med menjavo topila z etanolom impregnirali kortikosteroid deksametazon. Aerogele smo nato pripravili s postopkom superkritičnega sušenja, pri katerem smo kot delovni plin uporabili ogljikov dioksid. Pripravljene aerogele smo okarakterizirali s plinsko adsorpcijo, termogravimetrično analizo in infrardečo spektroskopijo s Fourierjevo transformacijo. Določili smo tudi stopnjo nabrekanja v simuliranih tekočinah prebavnega trakta ter spremljali sproščanje deksametazona *in vitro*. Rezultati so pokazali, da smo uspešno pripravili mezoporozne materiale z veliko specifično površino. Sferični aerogeli so stabilni v temperaturnem območju, relevantnem za biomedicinske aplikacije, in v simuliranih tekočinah prebavnega trakta ne razpadejo. Učinkovitost impregnacije deksametazona je bila 33,3-odstotna. V začetni fazi je bilo sproščanje deksametazona hitro, nato pa do 21 ur nadzorovano in postopno, kar potrjuje potencial sferičnih aerogelov za uporabo v dostavnih sistemih za podaljšano sproščanje zdravil.

Tara Medved, Anton Martin Slomšek Diocesan Grammar School Maribor
Supervisor: Nika Atelšek Hozjan, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, University of Maribor
Co-supervisor: Andreja Navršnik Kačič, Anton Martin Slomšek Diocesan Grammar School Maribor

From Algae to Bioaerogels: Preparation of Spherical Carriers for Oral Delivery of Dexamethasone

This research project focused on the preparation of spherical agar-based bioaerogels as advanced carriers for the oral delivery of dexamethasone. Polysaccharide aerogels (bioaerogels) represent a promising alternative to conventional pharmaceutical formulations; however, spherical agar-based bioaerogels have not yet been reported in the scientific literature. In this study, spherical hydrogels were prepared using a sol-gel process, and the corticosteroid dexamethasone was impregnated into the hydrogels during solvent exchange with ethanol. The resulting aerogels were produced by supercritical drying using carbon dioxide as the processing fluid. The prepared aerogels were characterised by gas physisorption, thermogravimetric analysis, and Fourier-transform infrared spectroscopy. Their swelling behaviour was also evaluated in simulated gastrointestinal fluids, and the *in vitro* release of dexamethasone was investigated. The results demonstrated the successful preparation of mesoporous materials with a high specific surface area. The spherical aerogels were thermally stable within the temperature range relevant to biomedical applications and remained structurally intact in simulated gastrointestinal fluids. The dexamethasone impregnation efficiency reached 33.3%. Drug release was rapid during the initial phase, followed by a sustained and controlled release for up to 21 hours, confirming their potential for use in sustained-release drug delivery systems.

Lara Mrkela, III. gimnazija Maribor
Mentorica: Tamara Šiško, III. gimnazija Maribor

Sladkor pod nadzorom – analiza učinka kvercetina na α-amilazo

Kvercetin je naravni flavonoid, ki je prisoten v sadju, zelenjavi in čaju, deluje pa kot močan antioksidant in inhibitor encimov. V raziskovalni nalogi smo proučevali njegovo sposobnost zaviranja α-amilaze, ključnega prebavnega encima, ki polisaharid škrob razgrajuje na manjše enote. Ker hitra razgradnja škroba vodi do neželenega zvišanja ravni krvnega sladkorja, lahko zaviranje tega encima s kvercetinom upočasni sproščanje glukoze v krvni obtok, kar je pomembno pri prehranskem obvladovanju sladkorne bolezni tipa 2. Uporabili smo škrobni test z jodovico, ki temelji na spremljanju preostalega nerazgrajenega škroba. Prisotnost škroba smo določali spektrofotometrično z merjenjem absorbance pri valovni dolžini 600 nm po dodatku jodovice, ki s škrobom tvori značilen temno moder kompleks. Ob močnejši inhibiciji encima je kvercetin preprečil razgradnjo škroba, kar je povzročilo večjo absorbanco. Primerjali smo inhibicijski učinek kvercetina iz prehranskega dopolnila in iz naravnega ekstrakta rumene čebule. Proučevali smo vpliv koncentracije kvercetina in zaporedja dodajanja reagentov na stopnjo inhibicije. Rezultati so pokazali, da kvercetin deluje kot koncentracijsko odvisen inhibitor, pri čemer smo predpostavili, da ekstrakt čebule zaradi sinergičnega delovanja polifenolov izkazuje še močnejšo inhibicijo. Ugotovitve potrjujejo potencial kvercetina kot naravne podpore pri nadzoru glikemije in preprečevanju postprandialne hiperglikemije.

Lara Mrkela, III. Gimnazija Maribor Grammar School
Supervisor: Tamara Šiško, III. Gimnazija Maribor Grammar School

Sugar under Control – Analysis of Quercetin's Effect on α-Amylase

Quercetin is a natural flavonoid found in fruits, vegetables, and tea, known for its antioxidant properties and ability to inhibit enzymes. In this research project, we investigated its capacity to inhibit α-amylase, a key digestive enzyme responsible for breaking down starch into smaller units. Since rapid starch digestion can cause undesirable spikes in blood glucose levels, inhibition of this enzyme by quercetin may slow glucose release into the bloodstream and support dietary management of type 2 diabetes. The study employed the starch-iodine assay, which monitors the amount of undigested starch. Starch was quantified spectrophotometrically by measuring absorbance at 600 nm after the addition of iodine solution, which forms a characteristic dark blue complex with starch. Stronger enzyme inhibition resulted in higher absorbance values due to the greater amount of remaining starch. We compared the inhibitory effects of quercetin from a dietary supplement with those of a natural yellow onion extract. The influence of quercetin concentration and the order of reagent addition on enzyme inhibition was also examined. The results demonstrated that quercetin acts as a concentration-dependent inhibitor. We further hypothesised that the onion extract would show stronger inhibition due to synergistic effects among polyphenols. These findings confirm the potential of quercetin as a natural aid in glycemic control and the prevention of postprandial hyperglycaemia.

Jan Arih, Zoja Šorn Vesel, Neža Zupanec, Biotehniški center Naklo
Mentorica: Marjetka Kastelic Švab, Biotehniški center Naklo

Antibiotično in antimikotično delovanje zelnice na izolirane bakterije in plesni kože

Bakterijska in glivna obolenja kože spadajo med najpogostejše okužbe, ki jih največkrat povzročajo oportunistični mikroorganizmi. Glavni namen naloge je bil raziskati, ali lahko oportunistične mikrobe kože zaviramo z zelnico, stranskim produktom fermentacije zelja, ter tako raziskati njen potencial za naravno zdravljenje lažjih kožnih okužb in trajnostno uporabo odpadnega produkta. Pri raziskovanju smo uporabili zelnice šestih sort belega zelja (novoton, almanak, kila princ, terminator, report, respecta) in dveh sort rdečega zelja (amarant, futurima). V praktičnem delu smo z različnimi koncentracijami soli ter dodatkov kalijevega sorbata in vitamina C najprej fermentirali različne sorte zelja. S kože in lasišča smo izolirali bakterije *Staphylococcus hominis, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus*, bakterije rodu *Enterococcus* ter plesen *Penicillium variabile*. Mikroorganizme smo določili z mikroskopiranjem in biokemičnimi testi na podlagi morfoloških značilnosti, nato pa z difuzijskim antibiogramom ovrednotili protimikrobno delovanje 50 vzorcev zelnice. Največji zaviralni učinek na bakterije rodu *Staphylococcus* ima zelnica sorte terminator z dodanima konzervansoma, medtem ko je najučinkovitejše antimikotično delovanje na plesen *Penicillium variabile* pokazala zelnica sorte amarant. Naloga potrjuje, da je zelnica zaradi bogate vsebnosti bioaktivnih snovi obetaven naravni vir protimikrobnih učinkovin in predstavlja možnost trajnostne uporabe stranskega produkta fermentacije.

Jan Arih, Zoja Šorn Vesel, Neža Zupanec, Biotechnical Centre Naklo
Supervisor: Marjetka Kastelic Švab, Biotechnical Centre Naklo

Antibiotic and Antifungal Activity of Cabbage Brine on Isolated Skin Bacteria and Fungi

Bacterial and fungal skin diseases are some of the most common types of infections, often caused by opportunistic microorganisms. The main goal of the study was to explore whether opportunistic skin microbes can be slowed down using fermented cabbage brine, a byproduct of cabbage fermentation, and to investigate its potential as a natural medicine for healing mild skin infections and the sustainable use of the waste product. In the research, we used fermented cabbage brine of six types of white cabbage, 'Novoton', 'Almanak', 'Kila Princ', 'Terminator', 'Report', and 'Respecta', and two types of red cabbage, 'Amarant' and 'Futurima'. We began the practical part of the research by fermenting different species of cabbage using different concentrations of salt, potassium sorbate additives and vitamin C. From the skin and the scalp, we isolated *Staphylococcus hominis, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus*, bacteria from the genus *Enterococcus* and mould *Penicillium variabile*. We identified the microorganisms based on morphological attributes, microscoping and biochemical tests. We determined the antimicrobial activity of 50 fermented cabbage brine samples using the disc diffusion method. We proved that all studied fermented cabbage brines have antibiotic and antimycotic activity. The fermented cabbage juice of the 'Terminator' species with added preservatives had the most prominent effect of slowing down the *Staphylococcus* bacteria, while the fermented cabbage brine of the 'Amarant' species showed the most effective antimycotic activity against the *P. variabile* mould. This study confirms that, due to its rich content of bioactive compounds, cabbage brine represents a promising natural source of antimicrobial agents and offers a viable option for the sustainable use of the fermentation byproduct.

Pia Brcar, Neža Amon, Gimnazija in srednja šola za kemijo in farmacijo Ruše
Mentorica: Andreja Dobaj Štiglic, Gimnazija in srednja šola za kemijo in farmacijo Ruše
Somentorja: Matej Bračič, Olivija Plohl, Fakulteta za strojništvo, Univerza v Mariboru

Hemokompatibilni magnetni nanodelci s hondroitin sulfatom

Krvni strdki v žilah lahko povzročijo resne zdravstvene težave, zato se za njihovo preprečevanje uporabljajo antikoagulacijska zdravila. Ker ta pogosto povečajo tveganje za krvavitve, raziskovalci iščejo varnejše alternative. V tej raziskavi smo proučevali magnetne nanodelce iz železovega oksida, ki jih je mogoče usmerjati z zunanjim magnetnim poljem. Ker lahko goli nanodelci ob stiku s krvjo povzročijo neželene reakcije, smo jih prevlekli s hondroitin sulfatom – naravno snovjo z blagim antikoagulacijskim učinkom. Rezultati so pokazali, da so prevlečeni nanodelci stabilnejši, se manj združujejo in nase vežejo manj fibrinogena, pomembnega za nastanek krvnih strdkov. To zmanjšuje tveganje za strjevanje krvi ob stiku z njimi. Testi so pokazali tudi, da nanodelci s hondroitin sulfatom le rahlo podaljšajo čas strjevanja krvi, bistveno manj kot heparin, zato ne povzročajo večjega tveganja za krvavitve. Magnetni nanodelci, prevlečeni s hondroitin sulfatom, so biokompatibilni, stabilni in varni za stik s krvjo ter imajo blag antikoagulacijski učinek. Zaradi svojih lastnosti se kažejo kot obetavna možnost za ciljno, lokalno preprečevanje strjevanja krvi z uporabo zunanjega magnetnega polja.

Pia Brcar, Neža Amon, Grammar School and Secondary School for Chemistry and Pharmacy Ruše
Supervisor: Andreja Dobaj Štiglic, Grammar School and Secondary School for Chemistry and Pharmacy Ruše
Co-supervisors: Matej Bračič, Olivija Plohl, Faculty of Mechanical Engineering, University of Maribor

Hemocompatible Magnetic Nanoparticles with Chondroitin Sulfate

Blood clots in the veins can cause serious health problems, which is why anticoagulant medications are used to prevent them. Because these medications often increase the risk of bleeding, researchers are looking for safer alternatives. In this study, we investigated magnetic iron oxide nanoparticles that can be directed by an external magnetic field. Since bare nanoparticles can cause adverse reactions upon contact with blood, we coated them with chondroitin sulfate, a natural substance with a mild anticoagulant effect. The results showed that the coated nanoparticles are more stable, aggregate less, and bind less fibrinogen, a substance important in blood clot formation. This reduces the risk of blood clotting upon contact with the nanoparticles. Tests also showed that chondroitin sulfate-coated nanoparticles only slightly prolong blood clotting time – significantly less than heparin – and therefore do not pose a greater risk of bleeding. Magnetic nanoparticles coated with chondroitin sulfate are biocompatible, stable, safe for contact with blood, and have a mild anticoagulant effect. Due to their magnetic properties, they have the potential for targeted, localised prevention of blood clotting through the use of an external magnetic field.

Vid Rožman, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Katja Madjar, Biotehniška šola Rakičan
Mentorica: Nataša Horvatić Dolamič, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Mentorici: Jasmina Kozar, Alenka Mujdrica Rožman, Biotehniška šola Rakičan

Embrionalni in postembrionalni razvoj pitovnega in nepitovnega piščanca (*Gallus gallus domesticus*)

Namen raziskave je bil dobiti podatke o embrionalnem in postembrionalnem razvoju pitovnega in nepitovnega piščanca (*Gallus gallus domesticus*). Določali smo morfološke značilnosti jajca, zarodka in piščanca. Pri pitovnem piščancu je bila oplojenost jajc večja za 10,30 %, masa jajčne lupine manjša za 8,94 %, debelina jajčne lupine manjša za 8,69 % in barva rumenjaka intenzivnejša za 1 stopnjo. Masa jajc med valjenjem se je bolj zmanjšala pri pitovnem piščancu (–7,32 %) kot pri nepitovnem (–4,60 %). Masa rumenjaka in beljaka v jajcu med valjenjem se je bolj zmanjšala pri pitovnem piščancu (–61,51 %) kot pri nepitovnem (–54,20 %). Po 19 dneh valjenja smo opazili intenzivno naraščanje mase zarodka pitovnega piščanca. Njegova končna masa je bila v primerjavi z maso zarodka nepitovnega piščanca večja za 12,33 %, končna dolžina zarodka pa daljša za 7,43 %. Razlika je bila tudi v manjši gostoti in dolžini ter barvi operjenosti zarodka pitovnega piščanca. Večja začetna masa jajca pred valjenjem je pomenila večjo začetno maso izvaljenega piščanca – pri obeh vrstah. Povprečna masa izvaljenega pitovnega piščanca je bila za 4,12 % manjša od nepitovnega. Po 40 dneh pitanja je končna masa pitovnega piščanca znašala 378,01 % mase nepitovnega. Končna masa zaužite hrane pitovnega piščanca je znašala 161,47 % končne mase nepitovnega. Raziskava omogoča razumevanje vpliva pasme starševskega organizma na procese med valjenjem jajc ter posledično uspešnost razvoja zarodkov in izvaljenih piščancev.

Vid Rožman, Gimnazija Franc Miklošič Ljutomer Grammar School
Katja Madjar, Biotechnology School Rakičan
Supervisor: Nataša Horvatić Dolamič, Gimnazija Franc Miklošič Ljutomer Grammar School
Supervisors: Jasmina Kozar, Alenka Mujdrica Rožman, Biotechnology School Rakičan

Embryonic and Postembryonic Development of Broiler and Non-Broiler Chicken (*Gallus Gallus Domesticus*)

The aim of this research was to gather data about embryonic and post-embryonic development of broiler and non-broiler chicken (*Gallus gallus domesticus*). Furthermore, we studied the morphological characteristics of the eggs, embryos and chicks. We noted several distinctions between the broiler and non-broiler lines. Firstly, the fertilisation rate of the broiler line was higher by 10.30%; the mass of the eggshells of the broiler line was lower by 8.94% and the thickness of their shells was lower by 8.69%; while the intensity of colouration of the yolk was 1 level higher. During the laying process, the mass of the eggs of the broiler line changed by –7.32%, whereas the reduction in mass of the non-broiler line was –4.60%. Similarly, the change in the mass of yolk and egg white in broiler line eggs was –61.51%, whereas the non-broiler line eggs changed in mass by –54.20%. Nineteen days after hatching, an intensive increase in mass of the broiler line embryos could be noted, with the final mass being on average 12.33% greater than the mass of the embryos of the non-broiler line. Additionally, the length of the average embryo of the broiler line was greater by 7.43% compared to the non-broiler line. Noticeable visual distinctions of the broiler line embryos compared to the non-broiler line were a lower density in feathers, shorter feather length and decreased colouration. A greater initial mass of the egg prior to hatching translated into a higher initial mass of the hatched chick, independent of the parent line. The average mass of the hatched chick of the broiler line was 4.12% lower than in the non-broiler line. However, after 40 days of fattening, the mass of the average broiler line chick was 378.01% greater than that of the non-broiler line. Notably, the average broiler line chick ate 161.47% more food than the non-broiler line chick. Our study improves the understanding of the impact the breed of the parent organism has on the processes during egg hatching and, consequently, the success in the development of both embryo and hatched chick.

Peter Stegu, Šolski center Celje, Srednja šola za kemijo, elektrotehniko in računalništvo
Mentorica: Aleksandra Ferenc, Šolski center Celje, Srednja šola za kemijo, elektrotehniko in računalništvo

Vpliv svetlobe na koncentracijo vitamina D v bukovem ostrigarju

V številnih znanstvenih raziskavah se pojavlja vprašanje, kako učinkovito povečati vsebnost vitamina D_2 v gobah. Ta vitamin lahko v njih nastaja naravno, saj vsebujejo ergosterol, sterolno spojino, ki se ob izpostavljanju ultravijolični (UV) svetlobi pretvori v vitamin D_2. Zato se številne raziskave osredotočajo na proučevanje vpliva UV-obsevanja med rastjo gob ali po njihovem odtrganju na končno vsebnost vitamina D_2. V raziskavi smo uporabili gojene šampinjone (*Agaricus bisporus*) in bukove ostrigarje (*Pleurotus ostreatus*). Obe vrsti gob smo najprej posušili in zmleli, da smo pripravili čim bolj homogene vzorce, ki smo jih nato izpostavili UV-svetlobi. Čeprav uporabljeni vir UV-sevanja ni omogočal natančnega proučevanja povezave med pretvorbo ergosterola in časom obsevanja, so rezultati jasno pokazali, da daljša izpostavljenost UV-svetlobi pomembno poveča vsebnost vitamina D_2. V našem primeru se je njegova koncentracija povečala kar 13-krat, kar potrjuje, da lahko tudi manj optimalen vir UV-svetlobe pomembno vpliva na nastanek vitamina D_2. Zaradi omejitev eksperimentalne opreme smo se pri praktičnem delu osredotočili predvsem na ekstrakcijo vitamina D_2 in sorodnih sterolov iz gob, pri čemer smo podrobneje obravnavali bukovega ostrigarja. Steroli so lipidom podobne molekule, ki imajo ključno vlogo pri zgradbi celičnih membran ter so občutljive za svetlobo in toploto, zato je njihova izolacija zahtevala skrbno načrtovan postopek. Po ekstrakciji smo dobljeni izvleček dodatno selektivno očistili, da smo zagotovili zanesljivo instrumentalno analizo. Ta korak je bistven, saj lahko prisotne nečistoče motijo delovanje analitskih instrumentov in zmanjšajo natančnost rezultatov. Rezultati našega dela potrjujejo pozitiven vpliv UV-svetlobe na nastanek vitamina D_2 v gobah ter so hkrati dobra podlaga za nadaljnje raziskave pri optimizaciji UV-obsevanja in izboljšanja prehranske vrednosti gob. Razvita eksperimentalna metoda omogoča njeno nadaljnjo nadgradnjo in uporabo v prihodnjih raziskavah.

Peter Stegu, School Centre Celje, Secondary School for Chemistry, Electrical Engineering, and Computer Science
Supervisor: Aleksandra Ferenc, School Centre Celje, Secondary School for Chemistry, Electrical Engineering, and Computer Science

Effect of Light on Vitamin D Concentration in Oyster Mushroom

A common question in numerous scientific studies is how to effectively increase the vitamin D_2 content of mushrooms. This vitamin can be formed naturally in mushrooms because they contain ergosterol, a sterol compound that is converted into vitamin D_2 when exposed to ultraviolet (UV) light. For this reason, many studies have focused on investigating how UV irradiation during cultivation or after harvest affects the final concentration of vitamin D_2. In our experiment, we used cultivated button mushrooms (*Agaricus bisporus*) and oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*). Both mushroom species were first dried and ground to obtain as homogeneous a sample as possible. The samples were then selectively exposed to UV light. Although our light source did not allow a precise investigation of the relationship between ergosterol conversion and irradiation time, the obtained results clearly confirmed that prolonged UV exposure significantly increased the vitamin D_2 content. In our study, the concentration increased by approximately thirteenfold, demonstrating that even a non-ideal UV light source can produce a substantial effect. Due to the limitations of our experimental setup, we focused primarily on the extraction of vitamin D_2 and related sterols from mushrooms, with particular attention given to oyster mushrooms. Sterols are lipid-like molecules that are crucial in maintaining the structure of cell membranes and are often sensitive to light and heat, making their extraction dependent on carefully optimised procedures. Following extraction, the resulting extract had to be selectively purified to enable reliable instrumental analysis. This purification step was essential because impurities can interfere with analytical instrumentation and reduce the accuracy of final results. We believe that these procedures provide a solid foundation for future research aimed at optimising UV irradiation conditions and enhancing the nutritional value of mushrooms. Our work not only confirmed the positive effect of UV light on vitamin D_2 formation but also established a robust experimental framework that can be further developed in future studies.

Lu Viola Perko, Lana Medved, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola
Mentor: Metod Kovačič, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola

Zaščitne lastnosti bioplastične embalaže pri zaviranju razrasti plesni na siru

Mikrobiološko kvarjenje živil in okoljska problematika konvencionalne plastične embalaže spodbujata razvoj bioosnovanih embalažnih materialov z izboljšanimi zaščitnimi lastnostmi. Namen raziskave je bil primerjati zaščitne lastnosti konvencionalne plastične embalaže, navadne bioplastike in bioplastike z dodatkom eteričnega olja rožmarina oz. origana pri zaviranju razrasti plesni na siru. Bioplastične folije smo pripravili iz koruznega škroba, glicerola in alkoholnega kisa, nekaterim smo dodali eterično olje rožmarina oz. origana. Vzorce sira gavda smo inokulirali s plesnijo, ovili v posamezne vrste embalaže in devet dni hranili pri sobni temperaturi. Razrast plesni smo kvantitativno ovrednotili z analizo slik v programu Fiji. Največji delež plesni je bil ugotovljen pri konvencionalni plastični embalaži, bistveno manjši pri navadni bioplastiki, najmanjši pa pri bioplastiki z eteričnim oljem rožmarina oz. origana. Rezultati kažejo, da sestava embalaže pomembno vpliva na razrast plesni. Ker nismo obravnavali migracije komponent embalaže ali mehanizmov njihovega delovanja, vzroka opaženih razlik ne moremo zanesljivo pojasniti. Raziskava predstavlja izhodišče za nadaljnji razvoj in proučevanje biofunkcionalnih embalažnih materialov.

Lu Viola Perko, Lana Medved, Biotechnical Educational Centre Ljubljana, General Upper Secondary School and Veterinary Technician School
Supervisor: Metod Kovačič, Biotechnical Educational Centre Ljubljana, General Upper Secondary School and Veterinary Technician School

Protective Properties of Bioplastic Packaging in Inhibiting Mould Growth on Cheese

Microbial food spoilage and the environmental impact of conventional plastic packaging have encouraged the development of bio-based packaging materials with improved protective properties. The aim of this study was to compare the protective properties of conventional plastic packaging, plain bioplastic and bioplastic supplemented with rosemary or oregano essential oil in inhibiting mould growth on cheese. Bioplastic films were prepared from corn starch, glycerol and acetic acid, with selected films supplemented with rosemary or oregano essential oil. Gouda cheese samples were inoculated with mould, wrapped in different packaging materials, stored at room temperature for nine days and analysed using Fiji. The highest mould coverage was observed in conventional plastic packaging, followed by plain bioplastic. The lowest mould coverage was observed on cheese wrapped in bioplastic packaging supplemented with oregano or rosemary essential oil. The results indicated that packaging composition may substantially influence mould growth. As the migration of packaging components and the underlying mechanisms were not investigated, the observed differences cannot be conclusively explained. This study provides a basis for further research into biofunctional packaging materials.

Eva-Arolea Trdan, Gimnazija Ledina
Mentorica: Nika Cebin, Gimnazija Ledina
Somentor: Peter Rodič, Institut Jožef Stefan, Ljubljana
Somentor: Matic Može, Fakulteta za strojništvo, Univerza v Ljubljani

Razvoj funkcionalnih hidrofobnih bakrenih površin za izboljšano korozijsko odpornost in higiensko varnost

V raziskovalni nalogi smo proučevali vpliv laserskega strukturiranja in kemične funkcionalizacije s stearinsko kislino na korozijsko odpornost, hidrofobnost, samočistilni učinek in higiensko varnost bakrenih površin. Primerjali smo vodno brušeni, lasersko strukturirani (LS) ter lasersko strukturirani in s stearinsko kislino (STA) funkcionalizirani baker. Lastnosti vzorcev smo vrednotili z merjenjem kontaktnega kota, analizo površine, elektrokemičnimi korozijskimi preizkusi ter preizkusi samočistilnega učinka in površinskega obraščanja. Funkcionalizirani vzorec je dosegel največji kontaktni kot in s tem superhidrofobnost, pokazal najboljšo korozijsko odpornost ter tudi po dolgotrajni izpostavitvi vodnemu mediju ohranil površino brez vidnih znakov obraščanja. Rezultati potrjujejo, da kombinacija laserskega strukturiranja in kemične funkcionalizacije bistveno izboljša funkcionalne lastnosti bakra ter predstavlja obetaven pristop za uporabo v medicini, farmaciji in drugem okolju z visokimi higienskimi zahtevami.

Eva-Arolea Trdan, Gimnazija Ledina Grammar School
Supervisor: Nika Cebin, Gimnazija Ledina Grammar School
Co-supervisor: Peter Rodič, Jožef Stefan Institute, Ljubljana
Co-supervisor: Matic Može, Faculty of Mechanical Engineering, University of Ljubljana

Development of Functional Hydrophobic Copper Surfaces for Enhanced Corrosion Resistance and Hygienic Safety

In this research project, we investigated the influence of laser surface structuring and chemical functionalisation with stearic acid on the corrosion resistance, hydrophobicity, self-cleaning performance, and hygienic safety of copper surfaces. Three types of samples were compared: ground copper, laser-structured (LS) copper, and laser-structured copper chemically functionalised with stearic acid (LS+STA). The surface properties were evaluated by contact angle measurements, surface characterisation, electrochemical corrosion testing, self-cleaning tests, and surface fouling experiments. The functionalised sample exhibited the highest contact angle, achieving superhydrophobicity, while also demonstrating the best corrosion resistance and maintaining its surface free of visible fouling after prolonged exposure to an aqueous environment. The results confirm that the combination of laser structuring and chemical functionalisation significantly enhances the functional properties of copper and represents a promising approach to applications in medicine, the pharmaceutical industry, and other environments with high hygiene requirements.

Eva Dragovan, Sara Kopina, Manca Sladič, Šolski center Novo mesto, Srednja zdravstvena in kemijska šola
Mentorica: Mojca Viščček, Šolski center Novo mesto, Srednja zdravstvena in kemijska šola
Somentor: Matej Pegam, Šolski center Novo mesto, Srednja zdravstvena in kemijska šola
Somentor: Matjaž Retelj, Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Maribor

Izolacija, analiza in antibakterijsko delovanje piperina iz črnega popra (*Piper nigrum* L.)

Črni poper (*Piper nigrum* L.) je pomemben vir bioaktivne spojine piperin, ki popru daje njegov značilni pekoči okus in ima številne biološke učinke. Zaradi potencialnega protimikrobnega delovanja je piperin zanimiv za raziskave na področju kemije naravnih spojin in farmacije. Namen raziskovalne naloge je bil primerjati učinkovitost različnih ekstrakcijskih metod (Soxhletove, refluksne, ultrazvočne) in topil pri izolaciji piperina iz črnega popra ter določiti optimalne pogoje za njegov izkoristek in čistost ekstrakta. Proučevale smo tudi vpliv različnih organskih topil na izkoristek in selektivnost ekstrakcije. Rezultati so pokazali, da izbira metode in topila ključno vpliva na uspešnost izolacije. Soxhletova ekstrakcija je bila najučinkovitejša metoda za pridobivanje piperina, medtem ko je bil diklorometan najprimernejše topilo za doseganje velikega izkoristka. Po drugi strani pa smo s kombinacijo ultrazvočne ekstrakcije in izopropanola pridobile čistejši ekstrakt, torej je to učinkovita in manj toksična alternativa. Z difuzijskim testom z diski smo potrdile protimikrobni učinek piperina na bakterijo *Streptococcus pyogenes*.

Eva Dragovan, Sara Kopina, Manca Sladič, School Centre Novo mesto, Secondary School of Nursing and Chemistry
Supervisor: Mojca Viščček, School Centre Novo mesto, Secondary School of Nursing and Chemistry
Co-supervisor: Matej Pegam, School Centre Novo mesto, Secondary School of Nursing and Chemistry
Co-supervisor: Matjaž Retelj, National Laboratory of Health, Environment and Food, Maribor

Isolation, Analysis and Antibacterial Activity of Piperine from Black Pepper (*Piper Nigrum* L.)

Black pepper (*Piper nigrum* L.) is an important source of the bioactive compound piperine, which is responsible for its characteristic pungent taste and exhibits a range of biological effects. Due to its potential antimicrobial properties, piperine is of interest in natural product chemistry and pharmaceutical research. The aim of this study was to compare the efficiency of different extraction methods (Soxhlet, reflux, and ultrasound-assisted) and solvents for the isolation of piperine from black pepper and to determine the optimal conditions for extraction yield and extract purity. The influence of different organic solvents on extraction efficiency and selectivity was also investigated. The results showed that both the extraction method and the solvent play a crucial role in the isolation process. Soxhlet extraction proved to be the most effective method for piperine extraction, while dichloromethane was identified as the most suitable solvent for achieving a high extraction yield. In contrast, ultrasound-assisted extraction combined with isopropanol enabled the isolation of a purer extract, representing an efficient and less toxic alternative. The antimicrobial effect of piperine on *Streptococcus pyogenes* was confirmed using a disk diffusion test.

Lenka Rojs, Maruša Topolovec, Srednja šola Slovenska Bistrica
Mentorica: Vera Cunk Manić, Srednja šola Slovenska Bistrica

Analiza okoljskega stanja izbranih potokov severovzhodne Slovenije na podlagi abiotskih, kemijskih in biotskih dejavnikov

V raziskovalni nalogi smo proučevali okoljsko stanje štirih manjših potokov severovzhodne Slovenije (Studenic, Jelovščice, Oplotnice, Bistrice). Namen je bil ugotoviti, ali biološki elementi kakovosti, predvsem bentoški nevretenčarji in biotski indeks Trent (TBI), zanesljivo prikazujejo okoljsko stanje vodotokov. Preverili smo vpliv lege v toku, rabe tal in abiotskih dejavnikov. Uporabili smo abiotske, kemijske in biološke metode, pri čemer je bil glavni pokazatelj TBI. Rezultati so pokazali, da imajo zgornji tokovi ugodnejše okoljske razmere, večjo biotsko raznolikost in večje vrednosti TBI, medtem ko so spodnji tokovi bolj izpostavljeni antropogenim vplivom, višjim temperaturam in večjemu deležu tolerantnih vrst. Večina hipotez je bila potrjena. Ugotovili smo, da biološki elementi kakovosti omogočajo zanesljivo dolgoročno oceno okoljskega stanja ter pomembno dopolnjujejo kemijske meritve pri spremljanju in varovanju vodnih ekosistemov.

Lenka Rojs, Maruša Topolovec, Slovenska Bistrica Secondary School
Supervisor: Vera Cunk Manić, Slovenska Bistrica Secondary School

Analysis of Environmental Status of Selected Streams in Northeastern Slovenia Based on Abiotic, Chemical, and Biotic Factors

This research investigated the environmental status of four small streams in the northeastern Slovenia (Studenica, Jelovščica, Oplotnica, and Bistrica). The aim was to determine whether biological quality elements, particularly benthic macroinvertebrates and the Trent Biotic Index (TBI), reliably reflect the environmental status of watercourses. The effects of stream section, land use, and abiotic factors were examined. Abiotic, chemical, and biological methods were applied, with the TBI serving as the principal biological indicator. The results showed that upstream sections exhibited more favourable environmental conditions, higher biodiversity, and higher TBI values, whereas downstream sections were more exposed to anthropogenic pressures, higher temperatures, and a greater proportion of pollution-tolerant taxa. Most of the proposed hypotheses were confirmed. The findings demonstrate that biological quality elements provide a reliable long-term assessment of the environmental status of small streams and effectively complement chemical measurements in the monitoring and conservation of aquatic ecosystems.

Matevž Brulc, Zoja Špilar, Gimnazija Novo mesto
Mentorica: Branka Klemenčič, Gimnazija Novo mesto
Somentor: Primož Benkič, Krka, d. d., Novo mesto

Priprava in karakterizacija kreatin citratnih sistemov

Kreatin ima ključno vlogo pri energijskem metabolizmu in regeneraciji ATP v skeletnih mišicah. Zaradi slabe topnosti standardnega monohidrata se razvijajo alternativne, bolje topne oblike, med katerimi so tudi kreatin citratni sistemi, o katerih pa so podatki v literaturi neenotni. V raziskovalni nalogi smo eksperimentalno proučili vpliv izbire topila in molskega razmerja reagentov na nastanek teh struktur. Razvili smo selektivno metodo HPLC ter produkte kristalizacije karakterizirali z metodami NMR, ATR-IR in XRPD. Ugotovili smo, da na uspešen nastanek kokristala odločilno vplivata presežek citronske kisline ter ravnotežje med protonacijo in solvatacijo reagentov, kar smo usmerjali z izbiro topil z različnimi amfiprotičnimi lastnostmi. Rezultati pojasnjujejo dosedanja razhajanja v literaturi in pomenijo trdno podlago za ciljni razvoj procesov kristalizacije kreatinskih kokristalov.

Matevž Brulc, Zoja Špilar, Gimnazija Novo mesto Grammar School
Supervisor: Branka Klemenčič, Gimnazija Novo mesto Grammar School
Co-supervisor: Primož Benkič, Krka d. d., Novo mesto

Preparation and Characterisation of Creatine Citrate Systems

Creatine plays a crucial role in energy metabolism and ATP regeneration in skeletal muscles. Owing to the poor solubility of the standard monohydrate, alternative, more soluble forms are being developed, including creatine-citrate systems, although the literature data on these remain inconsistent. In this research paper, we experimentally investigated the influence of solvent choice and reactant molar ratios on the formation of these structures. Accordingly, a selective HPLC method was developed, and the crystallisation products were characterised using NMR, ATR-IR, and XRPD. We found that successful formation of the co-crystal is strongly influenced by an excess of citric acid and by the equilibrium between protonation and solvation of the reactants, which was controlled through the selection of solvents with different amphiprotic properties. The results obtained clarify existing discrepancies in the literature and provide a solid foundation for the targeted development of crystallisation processes for creatine co-crystals.

Lara Bastar, Gimnazija Bežigrad
Mentorica: Nina Kacjan Maršić, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani

Vpliv načina pridelave na rast rastlin in kakovost pridelka vrtne solate

Namen raziskovalne naloge je bil primerjati rast in kakovost solate (*Lactuca sativa* L.), pridelane v hidroponskem sistemu, s solato, pridelano v tleh. Ob tem je bil ovrednoten tudi vpliv koncentracije hranilne raztopine na vsebnost nitratov. V poskus je bila vključena ena sorta solate, pridelana na tri načine: v hidroponskem sistemu s 100-odstotno in s 70-odstotno hranilno raztopino ter v tleh (v šotnem substratu). Poskus je potekal v jesenskem obdobju in trajal 55 dni. Pri pridelku so bili izmerjeni višina rastline, premer rozete, celotna in tržna masa, število zavrženih listov, vsebnost suhe snovi ter vsebnost nitratov v listih. Rezultati so pokazali, da je bila rast v hidroponskem sistemu intenzivnejša, saj so rastline dosegle večjo višino, premer in maso od rastlin, pridelanih v tleh. Vsebnost nitratov je bila najvišja pri 100-odstotni raztopini (2790 mg NO_3^-/kg sveže mase), nižja pri 70-odstotni raztopini (2382 mg NO_3^-/kg sv. m.) in najnižja pri pridelavi v tleh (935 mg NO_3^-/kg sv. m.). Kljub večjemu pridelku je bil pri hidroponski pridelavi večji delež odpada (odstraniti je bilo treba več listov, del rastlin je odmrl). Ugotovitev raziskave je, da hidroponika omogoča večji pridelek, vendar za ohranjanje njegove kakovosti zahteva natančno uravnavanje, prilagojeno razmeram (gojenju jeseni). Rezultati poudarjajo pomen hidroponike kot sodobnega in učinkovitega načina pridelave kakovostne hrane.

Lara Bastar, Gimnazija Bežigrad Grammar School
Supervisor: Nina Kacjan Maršić, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana

Impact of Cultivation Method on Plant Growth and Yield Quality of Lettuce

The aim of this study was to compare the growth and quality of lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown in a hydroponic system with those of lettuce cultivated in soil. Additionally, the effect of nutrient solution concentration on nitrate content was evaluated. The experiment included a single lettuce cultivar grown under three treatments: a hydroponic system supplied with a 100% solution, a hydroponic system supplied with a 70% solution, and cultivation in soil (peat substrate). The experiment was conducted during the autumn season over a period of 55 days. The following parameters were measured: plan height, rosette diameter, total and marketable fresh weight, number of discarded leaves, dry matter content, and nitrate content in the leaves. The results showed that growth was more vigorous in the hydroponic system, as plants achieved greater height, larger rosette diameter, and higher biomass compared to those grown in soil. Nitrate content was highest in the 100% nutrient solution treatment (2,790 mg NO_3^-/kg of fresh weight), lower in the 70% nutrient solution treatment (2,382 mg NO_3^-/kg of FW), and the lowest in the soil-grown plants (935 mg NO_3^-/kg of FW). Despite the higher yield, hydroponically grown lettuce exhibited a greater proportion of waste, as more leaves had to be removed and some plants died during cultivation. The study demonstrated that hydroponics can achieve higher yields than soil cultivation; however, maintaining product quality requires careful adjustment of growing conditions to the specific cultivation environment, particularly during autumn production. The results highlighted the importance of hydroponics as a modern and efficient method for producing high-quality food.

Maša Muhič, III. gimnazija Maribor
Mentorica: Simona Pečnik Posel, III. gimnazija Maribor
Somentorica: Maša Knez Marevci, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru

Vpliv okolja na kvaliteto medu

V nalogi smo raziskovali, ali izvor medu vpliva na njegovo kvaliteto, ki se vrednoti z vsebnostjo določenih sestavin. Proučevali smo, ali med iz različnega okolja vsebuje različne količine glukoze, saharoze, skupnih ogljikovih hidratov in skupnih fenolov ter ali ima različno antioksidativno aktivnost. Količine teh sestavin in antioksidativna aktivnost bi lahko bili parametri za ocenjevanje kvalitete medu. S tankoplastno kromatografijo smo preverjali prisotnost glukoze in saharoze v medu, s spektrofotometričnimi analiznimi metodami pa vsebnost skupnih ogljikovih hidratov, skupnih fenolov in antioksidativno aktivnost medu. Obravnavali smo kvaliteto komercialnega, v mestnem okolju in na podeželju pridelanega slovenskega medu. Ugotovili smo, da je po večini meril najkvalitetnejši med iz okolja, ki je manj onesnaženo s pesticidi, v tem primeru v mestu pridelani med. Vsebuje največ glukoze in skupnih fenolov ter je najbolj antioksidativno aktiven. Sledi mu cvetlični med s podeželja, kjer je razširjena uporaba pesticidov, ter nazadnje komercialni cvetlični med, kupljen v trgovini.

Maša Muhič, III. Gimnazija Maribor Grammar School
Supervisor: Simona Pečnik Posel, III. Gimnazija Maribor Grammar School
Co-supervisor: Maša Knez Marevci, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, University of Maribor

Impact of Environment on Quality of Honey

In the research paper, we investigated whether the origin of honey affects its quality, which is evaluated by the content of certain components of honey. We studied whether honeys from different environments contain different amounts of glucose, sucrose, total carbohydrates and phenols and have different antioxidant activity. The research methods included thin-layer chromatography (TLC) to check the presence of glucose and sucrose in honey, and spectrophotometric analysis methods to check the content of total carbohydrates, total phenols and antioxidant activity of honey. We researched the quality of commercial, urban and rurally produced Slovenian honey. The results showed that according to the criteria related to the content of the researched ingredients in honey, the highest quality honey comes from an environment less polluted with pesticides, in this case urban honey, as it has the highest content of glucose, total phenols and the highest antioxidant activity. Urban honey is followed by flower honey from rural areas, where the use of pesticides is widespread, and finally by commercial flower honey purchased in stores.

Taj Žmitek Pravst, Florijan Rauter, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola
Mentor: Marko Jeran, Institut Jožef Stefan, Ljubljana
Somentorica: Anita Kušar, Inštitut za nutricionistiko, Fakulteta za aplikativne vede, Ljubljana
Somentorica: Martina Oder, Zdravstvena fakulteta, Univerza v Ljubljani
Somentorica: Lidija Zavasnik, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola

Hranilna sestava in protibakterijski potencial skupnih fenolnih spojin izbranih sort v Sloveniji pridelanih jabolk

Raziskovalno delo proučuje kemično sestavo različnih sort jabolk, pridelanih v Sloveniji, ter raziskuje povezavo med to sestavo in njihovim biološkim delovanjem. Poudarjena sta protibakterijsko delovanje na *Escherichio coli* (*E. coli*) in vpliv na tvorjenje biofilma. Bakterija *E. coli* povzroča okužbe, je pa tudi pokazatelj fekalnega onesnaženja, zato je njena prisotnost ključna za varnost živil in higieno v prehranski verigi. Sorte z večjo vsebnostjo skupnih fenolnih spojin so običajno kazale večje protibakterijsko delovanje, vendar povezava ni bila povsem linearna, saj na biološko učinkovitost vplivajo tudi sestave fenolnih spojin in organskih kislin ter vsebnost sladkorjev. Primerjava konvencionalno in ekološko pridelanih jabolk sorte gala je pokazala, da sam način pridelave ne zagotavlja večje vsebnosti fenolnih spojin ali večjega protibakterijskega delovanja. Rezultati raziskovalnega dela poudarjajo pomen celotne kemične sestave jabolka pri oceni njegove biološke dejavnosti in nakazujejo potencial naravnih spojin kot dopolnilnih učinkovin za omejevanje rasti in tvorjenje biofilma *E. coli*, kar je pomembno tudi za varnost živil. Delo prikazuje možnosti za nadaljnje prehranske inovacije in izpostavlja nove poti promocije lokalno pridelanih živil. Ključno je, da so v celotni verigi pridelave in predelave vključeni vsi deležniki, saj lahko s skupnim delom zagotavljajo največjo uporabno vrednost raziskovalnih rezultatov.

Taj Žmitek Pravst, Florijan Rauter, Biotechnical Educational Centre Ljubljana, General Upper Secondary School and Veterinary Technician School
Supervisor: Marko Jeran, Jožef Stefan Institute, Ljubljana
Co-supervisor: Anita Kušar, Institute of Nutrition, Ljubljana, and VIST – Faculty of Applied Sciences, Ljubljana
Co-supervisor: Martina Oder, Faculty of Health Sciences, University of Ljubljana
Co-supervisor: Lidija Zavasnik, Biotechnical Educational Centre Ljubljana, General Upper Secondary School and Veterinary Technician School

Nutritional Composition and Antibacterial Potential of Total Phenolic Compounds in Selected Apple Cultivars Grown in Slovenia

This research examines the chemical composition of various apple cultivars grown in Slovenia and investigates the relationship between this composition and biological activity, focusing specifically on antibacterial action against *Escherichia coli* (*E. coli*) and its impact on biofilm formation. In addition to causing infections, *E. coli* serves as an indicator of faecal contamination; its presence is therefore a critical factor in food safety and hygiene within the food supply chain. Cultivars with higher total phenolic content generally exhibited greater antibacterial activity, although the correlation was not strictly linear, as biological efficacy is also influenced by the specific profiles of phenolic compounds and organic acids, as well as sugar content. A comparison between conventionally and organically grown Gala apples showed that the cultivation method alone does not guarantee a higher phenolic content or stronger antibacterial activity. The study's findings underscore the importance of the apple's overall chemical profile in assessing its biological activity and highlight the potential of natural compounds as complementary agents for inhibiting *E. coli* growth and biofilm formation, both factors of considerable relevance to food safety. This work opens avenues for further nutritional innovation and suggests new strategies to promote locally grown produce. Involving all stakeholders throughout the production and processing chain is essential, as collaborative efforts help to ensure that the research results have maximum practical value.

Isidora Dinić, II. gimnazija Maribor
Mentorica: Helena Bajec, II. gimnazija Maribor

Učinki tekstilnih mikrovlaken iz sušilnih strojev na fiziološke parametre navadne redkvice (*Raphanus sativus*)

Mikrovlakna iz oblačil so prikrit, a naraščajoč vir onesnaževanja okolja. V naravi se drobijo na manjše delce in prehajajo v prst, kar neposredno vpliva na talni ekosistem in rastline. V raziskovalni nalogi smo proučevali vpliv mikrovlaken iz sušilnih strojev na rast in razvoj navadne redkvice (*Raphanus sativus*). Uporabljena mikrovlakna smo glede na sestavo razdelili v tri skupine: sintetična, mešana in pretežno bombažna. Rezultati so ob upoštevanju standardnih deviacij pokazali določene trende razlik med skupinami. Povprečna sveža masa odebeljenih korenin je bila večja pri vzorcih, gojenih v prisotnosti sintetičnih vlaken. Pri tej skupini se povprečna dolžina in število listov nista bistveno razlikovala od kontrolne skupine, medtem ko smo pri mešanih in bombažnih vlaknih zaznali trend zmanjšanja obeh parametrov. Analiza pokrovnosti tankih korenin v rastnih posodah ter ocena številčnosti mikroorganizmov na hranilnem agarju v substratu sta v primerjavi z vsemi vzorci z dodanimi mikrovlakni pokazali najvišje vrednosti v kontrolni skupini. Prav tako je bila v kontrolni skupini najvišja vsebnost klorofila. V prisotnosti mikrovlaken je bila znižana, najbolj negativen vpliv pa se je pokazal v prisotnosti bombažnih vlaken.

Isidora Dinić, II. Gimnazija Maribor Grammar School
Supervisor: Helena Bajec, II. Gimnazija Maribor Grammar School

Effects of Textile Microfibres from Dryers on Physiological Parameters of Common Radish (*Raphanus Sativus*)

Microfibres from clothing represent a covert yet growing source of environmental pollution. In the environment, they fragment into smaller particles and enter the soil, directly affecting terrestrial ecosystems and plant life. This research project investigated the impact of clothing microfibres originating from clothes dryers on the growth and development of radish (*Raphanus sativus*). The microfibres were categorised based on their material composition into synthetic, mixed, and predominantly cotton fibres. The results, taking the calculated standard deviations into account, indicated distinct trends in development. The average fresh weight of hypocotyls (thickened roots) was higher in samples exposed to synthetic fibres. For this group, the average leaf length and leaf count did not differ substantially from the control group, whereas a decreasing trend in both parameters was observed for mixed and cotton fibres. Furthermore, the analysis of fine root coverage in the growth jars and the assessment of microorganism abundance on nutrient agar (NA) in the substrate both yielded the highest values in the control group. Chlorophyll content followed a similar pattern, with the highest levels observed in the control group and lower levels in all microfibre-treated samples, while cotton fibres exerted the most pronounced negative effect.

Ana Kočnar, Strokovni izobraževalni center Alme M. Karlin, Celje
Mentorji: Darja Rizmal, Mitja Suvajac, Liza Zagožen, Strokovni izobraževalni center Alme M. Karlin, Celje

Antibakterijski učinek lesa

V raziskovalni nalogi smo proučevali antibakterijski učinek različnih vrst lesa in ga primerjali s plastično površino. Uporabili smo bakterijo *Escherichia coli*. Analizirali smo les hrasta, oreha, smreke, macesna, češnje in bukve ter plastiko iz polietilena visoke gostote (HDPE). Raziskovali smo tudi vpliv površinskih premazov, tako da smo smreko obdelali z lanenim oljem in premazom Osmo TopOil. Antibakterijski učinek smo določili z merjenjem inhibicijskih con v petrijevkah. Rezultati so pokazali, da lesene površine bolje zavirajo rast bakterij kot plastika, pri čemer sta največji antibakterijski učinek pokazala hrast in oreh. Ugotovili smo tudi, da lahko površinska obdelava vpliva na razvoj bakterij na lesu.

Ana Kočnar, School Centre Celje, Alma M. Karlin Secondary School
Supervisors: Darja Rizmal, Mitja Suvajac, Liza Zagožen, School Centre Celje, Alma M. Karlin Secondary School

Antibacterial Effect of Wood

This study investigated the antibacterial effects of different wood species and compared them with the antibacterial effect of a plastic surface using the bacterium *Escherichia coli*. Oak, walnut, spruce, larch, cherry and beech wood were tested together with high-density polyethylene (HDPE). The influence of surface coatings was also examined after applying linseed oil and Osmo TopOil on spruce. Antibacterial activity was evaluated by measuring inhibition zones. The results showed that wooden surfaces inhibit bacterial growth more effectively than plastic, with oak and walnut showing the strongest effect. Surface treatments were also found to influence bacterial growth on wood.

Ema Lovrin, Špela Rukše, Alja Pureber, Šolski center Novo mesto, Srednja zdravstvena in kemijska šola
Mentorica: Ema Novinec, Šolski center Novo mesto, Srednja zdravstvena in kemijska šola
Somentorica: Špela Vičič, Šolski center Novo mesto, Srednja zdravstvena in kemijska šola

Uživanje protibolečinskih zdravil brez recepta pri dijakih Srednje zdravstvene in kemijske šole

Ko občutimo bolečino, si pogosto pomagamo s protibolečinskimi zdravili, ki jih lahko brez recepta kupimo v lekarni. Zaradi izzivov na družbenih omrežjih lahko prihaja do zlorab teh zdravil med mladostniki. Z raziskavo smo želeli ugotoviti, kako pogosto in ob kakšnih težavah dijaki jemljejo protibolečinska zdravila, katera zdravila izberejo, kakšne navade imajo ob jemanju in kakšno je njihovo poznavanje zdravil. Zanimalo nas je tudi, kako stres, utrujenost in tesnoba vplivajo na njihovo jemanje. V ta namen smo pripravili anketo, ki so jo izpolnili dijaki Srednje zdravstvene in kemijske šole na Šolskem centru Novo mesto. Ugotovili smo, da 28 % dijakov protibolečinska zdravila jemlje vsak teden, dobra polovica dijakov pa približno enkrat na mesec. Pri dekletih je uporaba pogostejša kot pri fantih. Najpogosteje jih jemljejo zaradi menstrualnih bolečin in glavobola. Ob jemanju protibolečinskih zdravil ne uporabljajo drugih substanc, kot so kava, cigarete ali energijske pijače. Dijaki, ki so pogosto utrujeni, tesnobni ali pod stresom, večkrat jemljejo ta zdravila.

Ema Lovrin, Špela Rukše, Alja Pureber, School Centre Novo mesto, Secondary School of Nursing and Chemistry
Supervisor: Ema Novinec, School Centre Novo mesto, Secondary School of Nursing and Chemistry
Co-supervisor: Špela Vičič, School Centre Novo mesto, Secondary School of Nursing and Chemistry

Use of Over-the-Counter Analgesics among Students from Secondary School of Nursing and Chemistry

In life, we come across different types of pain and when we do, we ease it with painkillers that we can buy in the pharmacy over the counter. Due to challenges posted on social media, these medications can be abused among adolescents. In our research, we wanted to determine how often students use painkillers, at what occasions they use them, which medication they take, what are their habits in relation to taking painkillers, and what is their knowledge of medication use. We were also interested in how stress, tiredness and anxiety influence their use of painkillers. For this purpose, we prepared a survey that was filled out by students from the Secondary School of Nursing and Chemistry at the Novo mesto School Centre. We determined that 28% of students use painkillers at least once a week, and more than half of the students approximately once a month. Girls use them more often than boys. Students mostly use painkillers for menstrual cramps and headaches. When taking painkillers, they do not use other substances, such as coffee, cigarettes or energy drinks. Students who are more tired and experience more stress and anxiety tend to use the medications more often than those who do not.

Arina Zhdanova, II. gimnazija Maribor
Mentorica: Natalija Jančič, II. gimnazija Maribor
Somentorica: Muzafera Paljevac, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru

Od monomera do biokatalizatorja: sinteza polimernih zrn za imobilizacijo encima

V raziskovalni nalogi smo s suspenzijsko polimerizacijo emulzije z velikim deležem notranje faze sintetizirali porozna polimerna zrna poli(GMA-ko-EGDMA), ki smo jih uporabili kot nosilce za imobilizacijo encima betagalaktozidaza. Uspešnost sinteze polimernih zrn smo potrdili z vrstično elektronsko mikroskopijo (SEM) in infrardečo spektroskopijo s Fourierjevo transformacijo (FTIR), imobilizacijo encima pa s spektroskopijo FTIR. Katalitično aktivnost prostega in imobiliziranega encima betagalaktozidaza smo primerjali pri različnih temperaturah, imobilizirani encim pa smo nato uporabili v petih zaporednih reakcijskih ciklih, s čimer smo proučili možnost njegove večkratne uporabe. Rezultati so pokazali, da imobilizirani encim ohrani katalitično aktivnost, v primerjavi s prostim encimom je bolj temperaturno stabilen in omogoča večkratno uporabo brez bistvenega zmanjšanja učinkovitosti. Raziskava potrjuje, da so polimerna zrna poli(GMA-ko-EGDMA) primeren in obetaven nosilec za imobilizacijo encimov v trajnostnih biokatalitičnih procesih.

Arina Zhdanova, II. Gimnazija Maribor Grammar School
Supervisor: Natalija Jančič, II. Gimnazija Maribor Grammar School
Co-supervisor: Muzafera Paljevac, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, University of Maribor

From Monomer to Biocatalyst: Synthesis of Polymer Beads for Enzyme Immobilisation

This research paper focuses on the synthesis of porous polymer beads of poly(GMA-co-EGDMA) via suspension polymerisation of a high internal phase emulsion, using it as a carrier for the immobilisation of the enzyme β-galactosidase. The successful synthesis of the polymer beads was confirmed with scanning electron microscopy (SEM) and Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. Enzyme immobilisation was verified using FTIR spectroscopy. The catalytic activity of free and immobilised β-galactosidase was compared at different temperatures, and the immobilised enzyme was subsequently applied in five consecutive reaction cycles to evaluate its reusability. The results demonstrated that the immobilised enzyme retained its catalytic activity, exhibited enhanced thermal stability compared to the free enzyme, and enabled repeated use without significant loss of efficiency. This study confirms that poly(GMA-co-EGDMA) polymer beads are a suitable and promising carrier for enzyme immobilisation in sustainable biocatalytic processes.

Matjaž Alič, II. gimnazija Maribor
Mentorica: Katja Holnthaner Zorec, II. gimnazija Maribor

Vpliv $MnCl_4$, $FeSO_4$ in K_2HPO_4 na nastanek ROS v kvasovkah *Saccharomyces cerevisiae* po obsevanju z UVB-žarki

Reaktivne kisikove spojine (ROS) so kisikovi derivati, katerih presežek povzroča oksidativni stres, ki celice poškoduje, lahko pa vodi tudi v celično smrt. Eden izmed pomembnih zunanjih povzročiteljev nastajanja ROS so UVB-žarki, ki lahko kožo poškodujejo, če je dlje izpostavljena soncu. Kot modelni organizem se pogosto uporablja kvasovka *Saccharomyces cerevisiae*. V raziskovalni nalogi smo ugotavljali, kako dodajanje $MnCl_2$, $FeSO_4$ in K_2HPO_4 v gojišča kvasovk vpliva na količino nastalih ROS po izpostavitvi UVB-žarkom. S pomočjo reagenta DCFH-DA, ki deluje kot fluorigena sonda, in spektrofluorimetra smo ugotovili, da je dodajanje $MnCl_2$ in K_2HPO_4 zmanjšalo količino nastalih ROS v celicah kvasovk, dodajanje $FeSO_4$ pa jo je povečalo. Primerjava antioksidativnih mehanizmov celic kvasovk in kožnih celic keratinocitov kaže, da bi z uspešnim prenosom Mn^{2+}, K^+ in HPO_4^{2-} v kožne celice lahko zaščitili kožo in pospešili njeno regeneracijo po izpostavitvi UVB-sevanju.

Matjaž Alič, II. Gimnazija Maribor Grammar School
Supervisor: Katja Holnthaner Zorec, II. Gimnazija Maribor Grammar School

Influence of $MnCl_4$, $FeSO_4$, and K_2HPO_4 on Reactive Oxygen Species (ROS) Formation in Yeast *Saccharomyces Cerevisiae* Following UV-B Irradiation

Reactive oxygen species (ROS) are oxygen-derived molecules that, in excess, induce oxidative stress, which damages cells and may ultimately lead to cell death. One of the principal external and continuously present sources of ROS formation is UV-B radiation, which can damage the skin during prolonged exposure to sunlight. In this research paper, the yeast *Saccharomyces cerevisiae* was used as a model organism to investigate how supplementation of the growth medium with $MnCl_2$, $FeSO_4$, and K_2HPO_4 affects ROS production following UV-B exposure. Using the reagent DCFH-DA acting as a fluorogenic probe and measuring fluorescence with a spectrofluorimeter, we found that supplementation with $MnCl_2$ and K_2HPO_4 reduced ROS levels, whereas $FeSO_4$ increased ROS production. The comparison of the antioxidant mechanisms in yeast cells and human skin keratinocytes indicates that with the successful transfer of Mn^{2+}, K^+ and HPO_4^{2-} ions into skin cells we could potentially ensure protection and promote skin regeneration following UV-B exposure.

Eva Merklin, Anej Kramer, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola
Mentor: Marko Jeran, Institut Jožef Stefan, Ljubljana
Somentorici: Patricija Lap, Maja Ponikvar-Svet, Institut Jožef Stefan, Ljubljana
Somentorica: Lidija Zavasnik, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola

Delovanje vodotopnih ionov redkih zemelj kot potencialnih okoljskih polutantov na kvasovko *Saccharomyces cerevisiae* in bakterije človeškega izvora v kontekstu trajnostnega razvoja novih materialov

V zadnjih desetletjih se je uporaba elementov redkih zemelj (REE) močno povečala, predvsem v visokotehnoloških aplikacijah, elektroniki, zeleni energiji in laserski tehnologiji. Mednje spada tudi lantan, ki se uporablja v baterijah, metalurgiji in medicini. Njegovi biološki učinki so slabo raziskani, znano pa je, da je respiratorno toksičen in lahko povzroči pnevmokoniozo. V raziskovalnem delu smo proučevali vpliv lantana na rast in razmnoževanje kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* ter bakterij človeške mikroflore kože in ustne votline, da bi ocenili možne vplive na zdravje ljudi, ki so mu poklicno izpostavljeni. Ugotovili smo, da so bile bakterije občutljivejše od kvasovke *S. cerevisiae*. Izrazito antibiotično delovanje se je pri bakterijah pojavilo pri koncentraciji 20 mg/ml, pri kvasovkah pa pri 50 mg/ml. Pri najvišji koncentraciji (500 mg/ml) smo pri vseh organizmih opazili izrazito toksičnost in veliko inhibicijo rasti. Meritve optične gostote so pri *S. cerevisiae* pokazale tudi tvorbo biofilma, kar je nakazovalo zaščitni odziv na lantanove(III) ione. Na podlagi rezultatov lahko sklepamo, da je lantan škodljiv za mikroorganizme človeške mikroflore in *S. cerevisiae*. Menimo, da bodo ugotovitve prispevale k boljšemu razumevanju bioloških učinkov REE in k razvoju njihove varnejše uporabe.

Eva Merklin, Anej Kramer, Biotechnical Educational Centre Ljubljana, General Upper Secondary School and Veterinary Technician School
Supervisor: Marko Jeran, Jožef Stefan Institute, Ljubljana
Co-supervisors: Patricija Lap, Maja Ponikvar-Svet, Jožef Stefan Institute, Ljubljana
Co-supervisor: Lidija Zavasnik, Biotechnical Educational Centre Ljubljana, General Upper Secondary School and Veterinary Technician School

Impact of Water-Soluble Rare Earth Ions as Potential Environmental Pollutants on *Saccharomyces Cerevisiae* and Bacteria of Human Origin in Context of Sustainable Development of New Materials

In recent decades, the use of rare earth elements (REEs) has increased significantly, particularly in high-tech applications, electronics, green energy, and laser technology. Lanthanum, one of rare earth elements, is used in batteries, metallurgy, and medicine. Its biological effects are poorly studied, but it is known to be toxic to the respiratory system, potentially causing pneumoconiosis. In this study, we examined the effect of lanthanum on the growth and reproduction of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* and bacteria from the human skin and oral cavity microflora to assess possible health effects on people occupationally exposed to it. We found that the bacteria were more sensitive than the yeast *S. cerevisiae*. A pronounced antibiotic effect was observed in bacteria at a concentration of 20 mg/ml, and in yeast at 50 mg/ml. At the highest concentration (500 mg/ml), pronounced toxicity and significant growth inhibition were observed in all organisms. Optical density measurements also showed biofilm formation in *S. cerevisiae*, suggesting a protective response to lanthanum(III) ions.

Ivana Karolina Budna, Uroš Jocić, Jon Milič, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Mentorica: Marija Meznarič, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Somentorica: Manca Kovač Viršek, Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana

Mikroplastika v prsti javnih, zasebnih in kmetijskih zemljišč

Vse večja uporaba plastike vodi do onesnaževanja okolja z mikroplastiko. To so delci, manjši od 5 mm, ki nastanejo z razkrojem in mehansko obrabo plastičnih izdelkov. V prsti spreminjajo njene fizikalne lastnosti, kot sta gostota in poroznost, ter negativno vplivajo na rastline, mikroorganizme in posredno na zdravje ljudi. V raziskovalni nalogi smo proučevali prisotnost mikroplastike v vzorcih prsti z različnih lokacij, vključno z gozdom, domačim vrtom, parkom in okolico čistilne naprave. Za izolacijo delcev smo uporabili metodo ločevanja na osnovi gostote z nasičeno raztopino NaCl, ki je omogočila, da so delci mikroplastike izplavali na površje. Vzorce smo nato prefiltrirali in analizirali pod mikroskopom, da smo delce kategorizirali glede na njihovo število, obliko (vlakna, fragmenti, filmi, peleti, granule in pene), barvo in vrsto. Rezultati so potrdili prisotnost mikroplastike na vseh proučevanih lokacijah, najpogosteje opažena pa so bila vlakna in fragmenti različnih barv. Raziskava dokazuje vsesplošno onesnaženost tal z mikroplastiko v našem okolju.

Ivana Karolina Budna, Uroš Jocić, Jon Milič, Gimnazija Franc Miklošič Ljutomer Grammar School
Supervisor: Marija Meznarič, Gimnazija Franc Miklošič Ljutomer Grammar School
Co-supervisor: Manca Kovač Viršek, National Institute of Biology, Ljubljana

Microplastics in Soil of Public, Private and Agricultural Land

The increasing use of plastic leads to environmental pollution with microplastics. These are particles smaller than 5 mm formed through the degradation and mechanical wear of plastic products. In soil, these particles alter physical properties such as density and porosity and negatively affect plants, microorganisms, and indirectly human health. In this research, we investigated the presence of microplastics in soil samples from various locations, including a forest, a home garden, a park, and a site in the vicinity of a wastewater treatment plant. For particle isolation, a density separation method using a saturated NaCl solution was employed, allowing microplastic particles to float to the surface. The samples were then filtered and analysed using microscopy, where particles were categorised based on their quantity, shape (fibres, fragments, films, pellets, granules, and foams), colour, and type. Results confirmed the presence of microplastics at all studied locations, with fibres and fragments of various colours being the most frequently observed. The study proves the widespread contamination of soil with microplastics in our environment.

Erik Šemen, Lara Osvaldič, II. gimnazija Maribor
Mentorica: Sanja Cvar, II. gimnazija Maribor
Somentorici: Muzafera Paljevac, Maša Islamčević Razboršek, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru

Sinteza akrilatnih polimerov za odstranjevanje ostankov zdravil iz vodnih medijev

Namen raziskovalne naloge je proučiti možnost uporabe poroznih akrilatnih polimerov za učinkovito odstranjevanje ostankov zdravil iz vodnih medijev, ki so zaradi vse večje prisotnosti velik okoljski izziv. V raziskavi so bili na podlagi akrilatnih monomerov z reakcijo tiol-en klik in verižno radikalsko polimerizacijo sintetizirani trije različni visokoporozni polimerni materiali. Polimeri so bili ovrednoteni z metodami FTIR, SEM in BET. Adsorpcijske lastnosti so bile proučevane na vodnih raztopinah, onesnaženih z natrijevim diklofenakom in paracetamolom, koncentracija zdravil pa spremljana z metodo HPLC-UV. Rezultati so pokazali dobro adsorpcijsko učinkovitost sintetiziranih polimerov, pri čemer se je natrijev diklofenak adsorbiral učinkoviteje kot paracetamol, kar je mogoče pripisati močnejšim intermolekularnim interakcijam. Raziskava potrjuje možnost uporabe polimernih adsorbentov za odstranjevanje ostankov zdravil iz vodnih medijev.

Erik Šemen, Lara Osvaldič, II. Gimnazija Maribor Grammar School
Supervisor: Sanja Cvar, II. Gimnazija Maribor Grammar School
Co-supervisors: Muzafera Paljevac, Maša Islamčević Razboršek, Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, University of Maribor

Synthesis of Acrylate Polymers for Removal of Pharmaceutical Residues from Aqueous Media

Due to the growing environmental issue of aqueous media contamination with pharmaceutical residues, the aim of this research was to investigate the potential use of porous acrylate polymers for their effective removal. In this study, three different highly porous polymer materials based on acrylate monomers were synthesised using thiol–ene click and chain radical polymerisation. The polymers were characterised using FTIR, SEM and BET techniques. Adsorption properties were studied in aqueous solutions contaminated with diclofenac sodium and paracetamol, with drug concentrations monitored using the HPLC-UV method. The results demonstrated good adsorption efficiency of the synthesised polymers, with diclofenac sodium being adsorbed more effectively than paracetamol, which can be attributed to stronger intermolecular interactions. The study confirmed the potential of polymeric adsorbents for the removal of pharmaceutical residues from aqueous media.

Anže Cukrov, Vid Lipovšek, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola
Mentorica: Damijana Urankar, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani
Somentor: Tomaž Žigon, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola

Od semen do svetlobe

Iz semen rastline *Peganum harmala* smo z ekstrakcijo in kolonsko kromatografijo izolirali β-karbolinska alkaloida harmin in harmalin ter pripravili njune metilirane derivate. Namen raziskave je bil vzpostaviti povezavo med kemijsko strukturo, fotofizikalnimi lastnostmi in celičnim vedenjem teh spojin ter oceniti njihov potencial za uporabo kot fluorescenčne sonde. Za vse spojine sta značilna močna fluorescenca in učinkovito prehajanje v celice, pri čemer metiliranje bistveno vpliva na intenziteto fluorescence in znotrajcelično lokalizacijo. Derivati se izraziteje akumulirajo v celičnem jedru, kar nakazuje selektivne interakcije z DNA. Rezultati dokazujejo, da lahko enostavne strukturne modifikacije β-karbolinov natančno uravnavajo njihove optične in biološke lastnosti ter omogočajo racionalno usmerjanje celičnega tarčenja. Proučevane spojine so obetavno izhodišče za razvoj novih fluorescenčnih sond z aplikativnim potencialom v bioanalitiki in raziskavah nukleinskih kislin.

Anže Cukrov, Vid Lipovšek, Biotechnical Educational Centre Ljubljana, General Upper Secondary School and Veterinary Technician School
Supervisor: Damijana Urankar, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana
Co-supervisor: Tomaž Žigon, Biotechnical Educational Centre Ljubljana, General Upper Secondary School and Veterinary Technician School

From Seed to Light

From the seeds of *Peganum harmala*, the β-carboline alkaloids harmine and harmaline were isolated and their methylated derivatives prepared. This study investigated how structural modification influences photophysical properties and cellular behaviour, with emphasis on their potential as fluorescent probes. All compounds exhibited strong fluorescence and efficient cellular uptake, while methylation significantly modulated emission intensity and intracellular distribution. Notably, several derivatives showed enhanced nuclear accumulation, suggesting possible interactions with DNA. These findings demonstrated that simple chemical modifications of β-carbolines enable precise tuning of optical and biological properties, supporting their use as a versatile platform for fluorescent probes in bioanalytical and nucleic acid research.

Taja Ribič, Biotehniška šola Maribor
Mentor: Uroš Mikolič, Biotehniška šola Maribor
Mentorica: Tadeja Vajdič, Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Univerza v Mariboru
Mentor: Maksimiljan Brus, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede, Univerza v Mariboru

Primerjava protimikrobnega delovanja laktoferina na izbrane bakterijske vrste

Odpornost bakterij proti antibiotikom je eden največjih izzivov sodobne humane in veterinarske medicine. Laktoferin, multifunkcionalni glikoprotein v kolostrumu, opravlja različne obrambne naloge. V poskusu s tremi ponovitvami smo preverjali protimikrobno delovanje treh koncentracij laktoferina na bakterijskih kulturah *Escherichia coli, Bacillus subtilis, Bacillus cereus* in *Salmonella Typhimurium*. Na mikrobiološko gojišče Müller-Hinton smo nanesli bakterijske kulture in dodali laktoferin v različnih koncentracijah. Kontrolna vzorca in nacepljeno gojišče smo inkubirali 24 ur pri 37 °C, nato smo izmerili inhibicijske cone. Rezultati so pokazali, da laktoferin na *B. cereus* deluje bakteriostatično pri vseh treh koncentracijah. Ker laktoferin v prebavilih sodeluje pri prirojeni odpornosti, smo raziskavo dopolnili z mikrobiološko analizo blata telet. Razredčili smo vzorce blata treh telet (starih 3, 17 in 26 dni), jih nacepili na mikrobiološko gojišče ter inkubirali 24 ur pri 37 °C. Rezultati so pokazali, da je skupno število bakterij v blatu največje pri vzorcu najmlajšega teleta.

Taja Ribič, Maribor Biotechnical School
Supervisor: Uroš Mikolič, Maribor Biotechnical School
Supervisors: Tadeja Vajdič, Faculty of Natural Sciences and Mathematics, University of Maribor
Maksimiljan Brus, Faculty of Agriculture and Life Sciences, University of Maribor

Comparison of Lactoferrin's Antimicrobial Activity against Selected Bacterial Strains

Antimicrobial resistance is a major challenge in contemporary human and veterinary medicine. Lactoferrin, a multifunctional glycoprotein present in colostrum, has protective functions. In a triplicate experiment, I evaluated the antimicrobial activity of three lactoferrin concentrations against *Escherichia coli, Bacillus subtilis, Bacillus cereus*, and *Salmonella typhimurium*. Bacterial suspensions with lactoferrin and controls were inoculated onto Müller-Hinton agar and incubated at 37 °C for 24 hours before measuring the zones of inhibition. The results showed that lactoferrin exerts a bacteriostatic effect on *B. cereus* at all concentrations. Since lactoferrin acts in the gastrointestinal tract as part of innate immunity, the study also included microbiological analysis of calf faeces. Faecal samples from three calves (aged 3, 17, and 26 days) were serially diluted, plated, and incubated at 37 °C for 24 hours. The results showed a higher bacterial count in the faeces of the youngest calf tested.

Mima Hren, Staš Nesić, Srednja šola Slovenska Bistrica
Mentorica: Vera Cunk Manić, Srednja šola Slovenska Bistrica
Mentorica: Nina Klobasa Štrucl, Biotehniška šola Maribor

Vpliv splošne anestezije na vrednosti kreatin kinaze (CK) in aspartat aminotransferaze (AST) pri konjih

V raziskovalni nalogi smo proučevali vpliv splošne anestezije na serumske koncentracije mišičnih encimov kreatin kinaze (CK) in aspartat aminotransferaze (AST) pri konjih. Izhajali smo iz raziskovalnega vprašanja, ali splošna anestezija povzroča merljive biokemične spremembe, ki so klinično pomembne v veterinarski praksi. Namen naloge je bil ugotoviti spremembe vrednosti CK in AST pred splošno anestezijo in po njej ter ovrednotiti njihov pomen pri interpretaciji laboratorijskih izvidov. Postavili smo dve hipotezi: po splošni anesteziji se serumske koncentracije CK in AST pri večini konjev pomembno zvišajo, obseg teh sprememb pa se med konji razlikuje. Uporabili smo opisno analizo biokemičnih parametrov krvi konjev, odvzete pred splošno anestezijo in po njej. Encimsko aktivnost smo določili z biokemičnim analizatorjem VetScan VS2. Rezultati so pokazali zvišanje CK in AST pri večini konjev, pri čemer so bile spremembe individualno raznolike. Ugotovitve potrjujejo, da je splošna anestezija pomemben stresni dejavnik, vendar laboratorijskih rezultatov brez celostne klinične presoje, poznavanja bazalnih vrednosti in splošnega zdravstvenega stanja živali ni mogoče interpretirati. Encima CK in AST sta uporabna kazalnika poanestetične mišične obremenitve pri konjih, saj omogočata razlikovanje med pričakovanimi fiziološkimi odzivi in potencialnimi patološkimi zapleti.

Mima Hren, Staš Nesić, Slovenska Bistrica Secondary School
Supervisor: Vera Cunk Manić, Slovenska Bistrica Secondary School
Supervisor: Nina Klobasa Štrucl, Biotechnical School Maribor

Effect of General Anaesthesia on Creatine Kinase (CK) and Aspartate Aminotransferase (AST) Levels in Horses

In this research project, we studied the effect of general anaesthesia on the serum concentrations of the muscle enzymes creatine kinase (CK) and aspartate aminotransferase (AST) in horses. We investigated whether general anaesthesia causes measurable biochemical changes that are clinically significant in veterinary practice. The aim of the study was to determine changes in CK and AST values before and after general anaesthesia and to evaluate their significance for the interpretation of laboratory results. We formulated two hypotheses: that serum CK and AST concentrations significantly increase in most horses after general anaesthesia, and that the extent of these changes varies among individual horses. We used descriptive analysis of biochemical parameters in blood collected from horses before and after general anaesthesia. Enzyme activities were determined using the VetScan VS2 biochemical analyser. The results showed elevated CK and AST in most horses, with individual variations. The findings confirm that general anaesthesia is a significant stress factor; however, laboratory results cannot be interpreted without a comprehensive clinical assessment, knowledge of baseline values, and the animal's overall health status. The CK and AST enzymes are useful indicators of post-anaesthetic muscle stress in horses, as they allow differentiation between expected physiological responses and potential pathological complications.

Tija Gostiša, Tevž Papič, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola
Mentor: Miha Slapničar, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola
Somentor: Janez Mavri, Kemijski inštitut, Ljubljana

Vezava naravnih in sintetičnih kanabinoidov na jedrne receptorje – *in silico* analiza endokrine motnje

Kanabinoidi so lipofilne snovi, ki kot eksogeni ligandi vplivajo na jedrne hormonske receptorje in potencialno delujejo kot endokrini motilci. Jedrni receptorji kot transkripcijski faktorji so ključne tarče za tovrstne spojine s pomembno vlogo pri vzdrževanju homeostaze. Proučili smo tri predstavnike – THC, CBD, sintetični kanabinoid JWH-018 – in njihove glavne metabolite ter analizirali vezavo na 14 različnih jedrnih receptorjev, vključno z estrogenskim, androgenim, glukokortikoidnim in mineralkortikoidnim receptorjem, receptorji PPAR, LXR in RXR ter ščitničnimi receptorji. Vezavo smo simulirali z molekulskim sidranjem s programom Endocrine Disruptome in afiniteto ocenili na podlagi vezavnih energij. Rezultati kažejo, da moč interakcij pretežno določata lipofilnost in struktura spojine. Sintetični kanabinoid JWH-018 in njegovi metaboliti so najmočneje interagirali z mineralkortikoidnim in estrogenskim receptorjem. THC je dosegel višji razred verjetnosti vezave na progesteronski receptor, čeprav absolutna vrednost vezavne energije nakazuje, da interakcija morda ni biološko relevantna. Interakcije CBD in njegovih metabolitov so šibkejše. Naloga potrjuje predvideno delovanje kanabinoidov kot endokrinih motilcev ter je lahko izhodišče za nadaljnje eksperimentalne in klinične študije.

Tija Gostiša, Tevž Papič, Biotechnical Educational Centre Ljubljana, General Upper Secondary School and Veterinary Technician School
Supervisor: Miha Slapničar, Biotechnical Educational Centre Ljubljana, General Upper Secondary School and Veterinary Technician School
Co-supervisor: Janez Mavri, National Institute of Chemistry, Ljubljana

Binding of Natural and Synthetic Cannabinoids to Nuclear Receptors – *In Silico* Analysis of Endocrine Disruption

Cannabinoids are lipophilic compounds that, as exogenous ligands, have the potential to interact with nuclear hormone receptors and act as endocrine disruptors. As transcription factors, nuclear receptors represent important targets for such compounds and play a key role in maintaining homeostasis. Three representative cannabinoids, THC, CBD, and the synthetic cannabinoid JWH-018, along with their main metabolites, were examined for their binding to 14 different nuclear receptors, including estrogen, androgen, glucocorticoid, and mineralocorticoid receptors, as well as PPAR, LXR, RXR, and thyroid receptors. Binding was simulated using molecular docking with the Endocrine Disruptome program, and affinity was evaluated based on binding energies. The results showed that the strength of interactions largely depended on the lipophilicity and molecular structure of the compounds. JWH-018 and its metabolites exhibited the strongest interactions, particularly with the mineralocorticoid and estrogen receptors. THC reached a higher binding-probability class for the progesterone receptor, although the absolute binding energy suggests that this interaction may not be biologically relevant. Interactions involving CBD and its metabolites were comparatively weaker. This work supports the hypothesis that cannabinoids may act as endocrine disruptors and provides a foundation for further experimental and clinical studies.

Primož Dornik, Gimnazija Jožeta Plečnika Ljubljana
Mentor: Grega Celcar, Gimnazija Jožeta Plečnika Ljubljana

Raziskava možnosti pretvorbe toplote v električno energijo s pomočjo zaprtega sistema z nizkim tlakom, medija in faznih sprememb

Izhodišče za raziskovalno nalogo je problem pomanjkanja učinkovitih in zanesljivih trajnostnih virov energije. Sončni paneli, hidroelektrarne in vetrne elektrarne ter njim podobne alternative, ki so širši javnosti poznane kot čisti viri za pridobivanje električne energije, kljub izkoriščanju trajnostnih virov niso za okolje popolnoma neškodljive naprave, saj pri njihovi izdelavi ali prenehanju delovanja nastaja okoljski odtis, ob nepravilni reciklaži in shranjevanju odpadkov pa tudi onesnažujejo okolje in vodne vire. Zato obstaja in ostaja vprašanje načina izkoriščanja obnovljivih virov energije za električno energijo na čim bolj trajnosten in okolju neškodljiv način. V nalogi sem preizkusil idejo, da bi ob nižjem tlaku v zaprtem sistemu le s pomočjo toplote in medija, kot je voda (H_2O), ter z izkoriščanjem faznih sprememb lahko pridobivali električno energijo neposredno iz prejete toplote, brez velikih izgub. Poskuse bi z dodajanjem različnih spremenljivk lahko nadaljeval, vendar sem ob upoštevanju širše slike delovanja takega sistema ugotovil, da ta način pridobivanja električne energije ni mogoč, saj je v nasprotju z matematičnimi in fizikalnimi zakoni ter bi pravzaprav šlo za spremenjeno idejo idealnega toplotnega stroja.

Primož Dornik, Gimnazija Jože Plečnik Ljubljana Grammar School
Supervisor: Grega Celcar, Gimnazija Jože Plečnik Ljubljana Grammar School

Possibility of Converting Heat into Electrical Energy Using Closed Low-Pressure System, Working Fluid and Phase Changes

The research problem addressed in this paper is the lack of efficient, reliable, and sustainable energy sources. Although solar panels, hydroelectric power plants, wind turbines, and similar technologies are widely recognised as clean methods of generating electricity, they are not entirely environmentally friendly. Their manufacture, operation, and end-of-life disposal all leave an environmental footprint. Furthermore, improper recycling and waste management can contribute to environmental pollution and the contamination of water resources. Consequently, the question of how renewable energy can be harnessed in the most sustainable and environmentally responsible manner remains highly relevant. In this study, I investigated the idea that, within a closed low-pressure system, heat alone, together with a working fluid such as water (H_2O), could be used to exploit phase transitions for the generation of electrical energy directly from absorbed thermal energy with minimal losses. While additional variables and design modifications could be explored in future investigations, a broader thermodynamic analysis demonstrated that such a system cannot operate as proposed. Its operation would contradict established mathematical and physical laws, particularly the laws of thermodynamics, and would effectively represent a modified concept of an ideal heat engine.

Gaja Bičič, Rahela Bograf, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola
Mentorica: Miša Mojca Cajnko, Kemijski inštitut, Ljubljana
Somentor: Tomaž Žigon, Biotehniški izobraževalni center Ljubljana, Gimnazija in veterinarska šola

Ekstrakcija antioksidativnih spojin iz cimetovega čaja s pomočjo konvencionalnih in evtektičnih topil

Namen raziskave je bil primerjati vpliv konvencionalnih in evtektičnih topil ter oceniti njihov vpliv na izkoristek ekstrakcije, selektivnost in stabilnost izoliranih antioksidantov. Konvencionalna topila so široko uporabljena zaradi dostopnosti in enostavne uporabe, vendar pogosto pomenijo okoljske in varnostne izzive. Evtektična topila pa so zaradi nizke toksičnosti, biorazgradljivosti in možnosti prilagoditve lastnosti bolj trajnostna alternativa. Učinkovitost ekstrakcije smo ovrednotili s spektrofotometričnimi metodami za določanje skupne antioksidativne aktivnosti in vsebnosti fenolnih spojin. Rezultati kažejo, da evtektična topila dosegajo primerljive ali celo boljše izkoristke kot konvencionalna, hkrati pa so za okolje boljša rešitev. Naloga prispeva k razumevanju potenciala evtektičnih topil kot zelene alternative v ekstrakcijskih procesih ter opozarja na možnost njihove širše uporabe v prehranski, farmacevtski in kozmetični industriji.

Gaja Bičič, Rahela Bograf, Biotechnical Educational Centre Ljubljana, General Upper Secondary School and Veterinary Technician School
Supervisor: Miša Mojca Cajnko, National Institute of Chemistry, Ljubljana
Co-supervisor: Tomaž Žigon, Biotechnical Educational Centre Ljubljana

Extraction of Antioxidant Compounds from Cinnamon Tea Using Conventional and Eutectic Solvents

The aim of the study was to compare the effects of conventional and eutectic solvents on the extraction yield, selectivity, and stability of the obtained antioxidants. Conventional solvents are widely used due to their availability and ease of use; however, they often pose environmental and safety concerns. In contrast, eutectic solvents represent a more sustainable alternative due to their low toxicity, biodegradability, and tunable properties. Extraction efficiency was evaluated using spectrophotometric methods to determine total antioxidant activity and phenolic content. The results indicated that eutectic solvents achieve comparable or even higher yields than conventional solvents while offering a more environmentally friendly alternative. This work contributes to a better understanding of the potential of eutectic solvents as a green alternative in extraction processes and highlights their applicability in the food, pharmaceutical, and cosmetic industries.

Sara Lovrenčič, Anja Vide, II. gimnazija Maribor
Mentorica: Helena Bajec, II. gimnazija Maribor
Somentor: Jure Škraban, II. gimnazija Maribor

Vpliv načina pridelave na kakovost izbranih vrst listnate zelenjave (*Lactuca sativa*, *Cichorium endivia* in *Cichorium intybus*)

Kakovost pridelane hrane pomembno vpliva na zdravje, saj določa hranilno vrednost in varnost živil. Listnata zelenjava je pomemben del uravnotežene prehrane, saj vsebuje številne vitamine, minerale, vlaknine in bioaktivne spojine. Na njeno kakovost vplivajo način pridelave, okoljski dejavniki, skladiščenje in obdelava. V raziskovalni nalogi smo primerjali izbrane parametre kakovosti doma in komercialno pridelane listnate zelenjave ter ovrednotili vpliv različnih postopkov izpiranja na mikrobiološko obremenitev. Analizirali smo navadno solato (*Lactuca sativa* L., sorta gentile), endivijo (*Cichorium endivia*) in radič (*Cichorium intybus* L.). Določali smo skupno število mikroorganizmov (CFU/ml), delež suhe mase (mg/g) in vsebnost klorofila (enote SPAD). Rezultati so pokazali, da je bilo pri doma pridelani zelenjavi povprečno več mikroorganizmov kot pri komercialno pridelani. Ugotovili smo tudi, da je izpiranje z vodo učinkoviteje zmanjšalo število mikroorganizmov kot izpiranje z raztopino sode bikarbone. Doma pridelana zelenjava je imela večji delež suhe mase, medtem ko je bila vsebnost klorofila nekoliko manjša kot pri komercialno pridelani zelenjavi. Raziskava prispeva k boljšemu razumevanju vpliva različnih načinov pridelave na kakovost listnate zelenjave ter poudarja pomen ustrezne priprave živil za varno in kakovostno prehrano.

Sara Lovrenčič, Anja Vide, II. Gimnazija Maribor Grammar School
Supervisor: Helena Bajec, II. Gimnazija Maribor Grammar School
Co-supervisor: Jure Škraban, II. Gimnazija Maribor Grammar School

Influence of Cultivation Method on Quality of Selected Leafy Vegetables (*Lactuca Sativa*, *Cichorium Endivia*, and *Cichorium Intybus*)

The quality of food production significantly affects human health, as it determines both the nutritional value and safety of food products. Leafy vegetables are an important part of a balanced diet because they contain numerous vitamins, minerals, dietary fibres, and bioactive compounds. Their quality is influenced by cultivation methods, environmental factors, as well as storage and processing conditions. In this research project, we compared selected quality parameters of home-grown and commercially produced leafy vegetables and evaluated the effects of different washing procedures on microbial contamination. We analysed lettuce (*Lactuca sativa* L., cultivar 'Gentile'), endive (*Cichorium endivia*), and chicory (*Cichorium intybus* L.). The analysed parameters included total microbial count (CFU/ml), dry matter content (mg/g), and chlorophyll content (SPAD units). The results showed that home-grown vegetables contained, on average, a higher number of microorganisms than commercially produced samples. We also found that washing with water was more effective in reducing microbial load than washing with a baking soda solution. Home-grown vegetables exhibited a higher dry matter content, whereas commercially produced vegetables had slightly higher chlorophyll values. The study contributes to a better understanding of the influence of cultivation methods on the quality of leafy vegetables and highlights the importance of appropriate food preparation in ensuring safe and nutritious diets.

Lučka Rotar, Gimnazija Ledina
Jan Knez, Srednja tehniška in poklicna šola Trbovlje
Mentorica: Nika Cebin, Gimnazija Ledina
Mentorica: Stana Kovač Hace, Srednja tehniška in poklicna šola Trbovlje
Somentorica: Ana Kroflič, Kemijski inštitut, Ljubljana

Vsi delci v zraku niso enaki

Oksidativni potencial (OP) je zmožnost lebdečih delcev (PM), da povzročajo oksidativni stres, ki je eno večjih tveganj za zdravje in počutje ljudi. Meritve OP so v Sloveniji redke (do sedaj so bile izvedene v Anhovem in Desklah), tako da zapolnjujemo raziskovalno vrzel na tem področju. Namen raziskave je bil določiti OP delcev v središču Ljubljane in Trbovelj, oceniti njihove učinke na zdravje ljudi ter proučiti povezavo med koncentracijo PM v zraku in izmerjeno vrednostjo OP. Meritve so potekale januarja in februarja 2026. Pri delu smo uporabili vzorčevalnik PM, pridobljene vzorce pa smo analizirali po protokolu z askorbinsko kislino. Rezultati kažejo višji OP v Trbovljah kot v Ljubljani, kljub temu da je bila povprečna koncentracija PM_{10} v času meritev na obeh lokacijah enaka. Iz tega sklepamo, da onesnaženost s PM v Trbovljah pomeni večje tveganje za zdravje ljudi kot v Ljubljani. Gre za prve javne meritve OP v Ljubljani in Trbovljah, zato so lahko koristne za oblikovanje ustreznih strategij in ukrepov za izboljšanje kakovosti življenja ljudi.

Lučka Rotar, Gimnazija Ledina Grammar School
Jan Knez, Secondary Technical and Vocational School Trbovlje
Supervisors: Nika Cebin, Gimnazija Ledina Grammar School,
Stana Kovač Hace, Secondary Technical and Vocational School Trbovlje
Co-supervisor: Ana Kroflič, National Institute of Chemistry, Ljubljana

Not All Airborne Particles Are the Same

Oxidative potential (OP) is the ability of particulate matter (PM) to cause oxidative stress, which poses one of the greatest risks to human health and well-being. OP measurements are rare in Slovenia (to date, measurements have been conducted in Anhovo and Deskle), and this study fills a research gap in this area. The aim of the study was to determine the OP of particles in the city centre of Ljubljana and Trbovlje, assess the effects on human health, and examine the relationship between the concentration of PM particles in the atmosphere and the OP value. Measurements were conducted between January and February 2026 using a PM sampler. The resulting samples were analysed according to the protocol with ascorbic acid. The results indicated a higher OP in Trbovlje than in Ljubljana, despite the same average PM_{10} concentration measured at both locations. This led us to conclude that there is a greater risk to human health in Trbovlje than in Ljubljana. The results of the study provide the first OP assessment in Ljubljana and Trbovlje and may be useful for developing appropriate strategies and measures to improve people's quality of life.

Tjaša Polutnik, II. gimnazija Maribor
Mentorica: Sabina Fijan, Fakulteta za zdravstvene vede, Univerza v Mariboru
Somentorica: Katja Holnthaner Zorec, II. gimnazija Maribor

Preverjanje skladnosti deklariranega števila mikroorganizmov v probiotičnih zdravilih in prehranskih dopolnilih z gojitveno metodo štetja

Število probiotičnih izdelkov, ki so kupcem na voljo na trgovskih policah, se je v zadnjem desetletju zelo povečalo. Pomembno je, da imajo ti izdelki ustrezne deklaracije, saj so te ključni vir informacij o izdelku ter povezujejo proizvajalca in potrošnika. V raziskovalni nalogi smo z inkubacijsko metodo razmaza na trdna gojišča ugotavljali število kolonij mikroorganizmov v 16 probiotičnih zdravilih in prehranskih dopolnilih s slovenskega, italijanskega in avstrijskega trga ter ga primerjali z deklarirano vrednostjo. Preverjali smo tudi ustreznost poimenovanj mikroorganizmov na deklaracijah izdelkov. Pričakovali smo, da bodo deklaracije pri zdravilih ustreznejše kot pri prehranskih dopolnilih. Ugotovili smo, da je 75 % zdravil vsebovalo ustrezno in 25 % delno ustrezno število kolonij mikroorganizmov glede na deklaracijo, neustreznih vzorcev pa ni bilo. Pri prehranskih dopolnilih pa jih je 58 % vsebovalo ustrezno, 25 % delno ustrezno in 17 % neustrezno število kolonij mikroorganizmov glede na deklaracijo. Pri njih smo prav tako zasledili neveljavna imena mikroorganizmov, pri zdravilih pa ne.

Tjaša Polutnik, II. Gimnazija Maribor Grammar School
Supervisor: Sabina Fijan, Faculty of Health Sciences, University of Maribor
Co-supervisor: Katja Holnthaner Zorec, II. Gimnazija Maribor Grammar School

Verification of Declared Number of Microorganisms in Probiotic Medicines and Dietary Supplements Using Culture-Based Enumeration Method

The number of probiotic products available to consumers has increased significantly over the past decade. These products must be accurately labelled, as product declarations represent a key source of information and serve as a bridge between manufacturers and consumers. In this research, we used a culture-based spread plate method on solid media to enumerate microbial colonies in 16 probiotic medicines and dietary supplements available in Slovenia, Italy, and Austria. We compared the results with the declared values on the product labels. We also evaluated the correctness of the microbial nomenclature used on the labels of the analysed products. We expected probiotic medicines to have more accurate labelling than dietary supplements. Our results showed that 75% of the analysed medicines contained microbial colony counts consistent with the declared value, 25% were partially consistent, and none were inconsistent. Among the analysed dietary supplements, 58% were consistent with the declared value, 25% were partially consistent, and 17% were inconsistent. Invalid microbial names were found on the labels of dietary supplements, whereas no such inaccuracies were observed on the labels of medicines.

Ana Cvelbar, Ana Štubljar, Gimnazija Novo mesto
Mentorica: Alenka Dražić, Gimnazija Novo mesto
Somentor: Goran Dražić, Kemijski inštitut, Ljubljana

Sinteza srebrovih nanodelcev (AgNP) z glukozo: vpliv stabilizatorja PVP na velikost, stabilnost in morfologijo koloidov

V raziskovalni nalogi smo proučevali sintezo srebrovih nanodelcev (AgNP) z metodo kemijske redukcije srebrovih ionov iz srebrovega(I) nitrata z uporabo glukoze kot redukcijskega sredstva. Posebno pozornost smo namenili vplivu stabilizatorja polivinilpirolidona (PVP) na stabilnost, velikost in morfologijo nastalih nanodelcev. V eksperimentalnem delu smo primerjali sintezo brez stabilizatorja in sintezo v prisotnosti PVP. Rezultati so pokazali, da se nanodelci brez stabilizatorja hitro združujejo in tvorijo večje aglomerate, medtem ko prisotnost PVP omogoča stabilnejši koloidni sistem in enakomernejšo porazdelitev nanodelcev. Mikroskopske analize (STEM, TEM) so pokazale pomembne razlike v morfologiji obeh vzorcev. Pri sintezi v prisotnosti PVP so nastale dobro kristalizirane nanostrukture, med katerimi so bile opažene tudi heksagonalne ploščice in votle strukture v obliki nanoprstanov. Analiza uklonskih slik je potrdila urejeno kristalno strukturo srebrovih nanodelcev. Rezultati potrjujejo, da stabilizator PVP pomembno vpliva na rast, stabilnost in morfologijo srebrovih nanodelcev. Raziskava tako prispeva k boljšemu razumevanju procesov nastanka različnih oblik srebrovih nanostruktur in kaže, kako lahko z nadzorom sinteznih pogojev vplivamo na njihove lastnosti.

Ana Cvelbar, Ana Štubljar, Gimnazija Novo mesto Grammar School
Supervisor: Alenka Dražić, Gimnazija Novo mesto Grammar School
Co-supervisor: Goran Dražić, National Institute of Chemistry, Ljubljana

Synthesis of Silver Nanoparticles (AgNPs) with Glucose: Influence of PVP Stabiliser on Size, Stability, and Morphology of Colloids

In this research project, we investigated the synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) using the chemical reduction of silver ions from silver(I) nitrate with glucose as the reducing agent. Special attention was given to the influence of the stabiliser polyvinylpyrrolidone (PVP) on the stability, size, and morphology of the resulting nanoparticles. In the experimental part, we compared the synthesis without a stabiliser and the synthesis carried out in the presence of PVP. The results showed that nanoparticles synthesised without a stabiliser tend to aggregate rapidly and form larger agglomerates, whereas the presence of PVP enables the formation of a more stable colloidal system and a more uniform particle distribution. Microscopic analyses (STEM and TEM) revealed significant differences in morphology between the two samples. In the sample synthesised with PVP, well-defined crystalline nanostructures were observed, including hexagonal nanoplates and hollow structures in the form of nanorings. Diffraction analysis confirmed the ordered crystalline structure of the silver nanoparticles. The results of this study demonstrate that the PVP stabiliser plays an important role in controlling the growth, stability, and morphology of silver nanoparticles. The research therefore contributes to a better understanding of the formation mechanisms of different silver nanostructures and shows how synthesis conditions can influence their structural properties.

Ana Iza Jaklin, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Mentorica: Nina Žuman, Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer

Vpliv kemijske sestave nikotinskih vrečk na zaznano in dejansko moč

Namen raziskave je bil ugotoviti, kako fizikalno-kemijske lastnosti nikotinskih vrečk vplivajo na njihovo moč in uporabniško zaznavo. Analiziranih je bilo pet vrst nikotinskih vrečk z različnimi vsebnostmi nikotina, pri čemer so bili določeni pH, delež prostobaznega nikotina in druge lastnosti, povezane z absorpcijo nikotina. Rezultati so pokazali, da deklarirana količina nikotina ni najboljši kazalnik moči izdelka. Ključno vlogo imata pH in delež prostobaznega nikotina, saj višje vrednosti omogočajo hitrejšo absorpcijo ter povzročajo močnejši in hitrejši učinek. Sociološka raziskava med 401 uporabnikom je pokazala, da subjektivna zaznava moči in hitrosti delovanja dobro sovpada z eksperimentalnimi rezultati. Raziskava je potrdila, da pri nikotinskih vrečkah na uporabniško izkušnjo pomembno vplivajo njihove fizikalno-kemijske lastnosti, ne le skupna količina nikotina.

Ana Iza Jaklin, Gimnazija Franc Miklošič Ljutomer Grammar School
Supervisor: Nina Žuman, Gimnazija Franc Miklošič Ljutomer Grammar School

Influence of Chemical Composition of Nicotine Pouches on Perceived and Actual Strength

The aim of this study was to determine how the physicochemical properties of nicotine pouches influence their actual strength and users' perception of their effects. Five types of nicotine pouches with different nicotine contents were analysed, focusing on pH, the proportion of free-base nicotine, and other properties related to nicotine absorption. The results showed that the declared nicotine content is not the best indicator of product strength. pH and the proportion of free-base nicotine play a key role, as higher values enable faster nicotine absorption and produce stronger and more rapid effects. A survey involving 401 users revealed that subjective perceptions of strength and onset of effects closely matched the experimental findings. The study confirmed that the user experience of nicotine pouches is strongly influenced by their physicochemical properties and not only by the total nicotine content.

KAZALO

INDEX

KAZALO AVTORJEV

151 | Matjaž Alič
136 | Neža Amon
82 | Eirini Andreasidou
135 | Jan Arih
124 | Manca Bajuk
71 | Urban Barbič
144 | Lara Bastar
98 | Miha Berk Bevc
109 | Pia Bertoncelj
160 | Gaja Bičič
122 | Jernej Birk
160 | Rahela Bograf
128 | Manca Boh
81 | Elvira Boršić Mlinarič
136 | Pia Brcar
143 | Matevž Brulc
153 | Ivana Karolina Budna
156 | Anže Cukrov
164 | Ana Cvelbar
125 | Jan Čagalj
147 | Isidora Dinić
159 | Primož Dornik
141 | Eva Dragovan
103 | Anja Drnovšek
69 | Filip Dugonik
127 | Eva Embreuš
99 | Kaja Eržen
95 | Dominik Fendre
89 | Svit Ferjančič Benetik
38 | Alen Gabrič
90 | Marija Gjorgoska
158 | Tija Gostiša
118 | Monika Gregorič Tasić
76 | Nina Katarina Grilc
115 | Lena Grošelj
72 | Vito Ham
106 | Patrik Hlebanja
83 | Selena Horvat
157 | Mima Hren
97 | Jan Hrovat
94 | Tadej Humar
129 | Živa Hutar
97 | Vid Ibic
165 | Ana Iza Jaklin

KAZALO AVTORJEV

97 | Samo Jaklin
69 | Urška Jeršič
153 | Uroš Jocić
69 | Lejla Kač
110 | Neža Kastelec
120 | Iza Klemenčič
162 | Jan Knez
148 | Ana Kočnar
96 | Jan Kogovšek
141 | Sara Kopina
116 | Anja Kores
78 | Sebastjan Kralj
119 | Tilen Kralj
129 | Anej Kramer
152 | Brina Kramer
100 | Črt Krebs
127 | Izabela Križanič
131 | Jaka Krošl
111 | Lina Krulec
111 | Petra Kubelj
77 | Maria Laimou-Geraniou
131 | Julija Leva
155 | Vid Lipovšek
79 | Martin Ljubič
126 | Tisa Lombar
161 | Sara Lovrenčič
149 | Ema Lovrin
137 | Katja Madjar
130 | Ela Marčič
88 | Nika Marolt
139 | Lana Medved
133 | Tara Medved
152 | Eva Merklin
62 | Eva Klara Merzel Šabović
153 | Jon Milič
132 | Nika Mihelčič
101 | Maša Mihelič
134 | Lara Mrkela
145 | Maša Muhič
157 | Staš Nešić
87 | Tadej Ojsteršek
117 | Lara Omahen
70 | Žiga Oražem
154 | Lara Osvaldič
158 | Tevž Papič
139 | Lu Viola Perko
126 | Urban Perko
121 | Eva Pinter
132 | Manca Pišljar
163 | Tjaša Polutnik
102 | Katja Pregeljc
91 | Urh Pucihar

KAZALO AVTORJEV

149 | Alja Pureber
86 | Edvin Purić
93 | Anja Pungartnik
112 | Hana Rakuša
146 | Florijan Rauter
108 | Jure Rebselj
156 | Taja Ribič
142 | Lenka Rojs
162 | Lučka Rotar
137 | Vid Rožman
149 | Špela Rukše
84 | Ana Siljanovska Virant
141 | Manca Sladič
138 | Peter Stegu
44 | Sandi Svetič
154 | Erik Šemen
114 | Ema Šimc
92 | Katja Šketa
68 | Aljoša Škorjanc
135 | Zoja Šorn Vesel
143 | Zoja Špilar
164 | Ana Štubljar
80 | Žan Testen
92 | Anja Tomazin
142 | Maruša Topolovec
50 | Armando Tratenšek
140 | Eva-Arolea Trdan
107 | Jakob Trebše
123 | Marcel Tušek
113 | Katarina Velkov
161 | Anja Vide
56 | Mercedes Vitek
104 | Valentina Vutolen
85 | Veronika Weiss
105 | Kaja Zajc
150 | Arina Zhdanova
135 | Neža Zupanec
146 | Taj Žmitek Pravst

KAZALO MENTORJEV IN SOMENTORJEV

86 | Marko Anderluh
133 | Nika Atelšek Hozjan
147 | Helena Bajec
143 | Primož Benkič
107 | Maja Bjelošević Žiberna
79 | Jure Borišek
136 | Matej Bračič
78 | Urban Bren

KAZALO MENTORJEV IN SOMENTORJEV

127 | Vesna Breznik
121 | Barbara Breznik Vittori
156 | Maksimiljan Brus
97 | Miran Brvar
92 | Jasna But Hadžić
160 | Miša Mojca Cajnko
162 | Nika Cebin
159 | Grega Celcar
84 | Janez Cerkovnik
142 | Vera Cunk Manić
154 | Sanja Cvar
105 | Matej Černe
127 | Denis Čuček
101 | Jaka Dernovšek
136 | Andreja Dobaj Štiglic
112 | Leja Dolenc Grošelj
164 | Alenka Dražić
164 | Goran Dražić
50 | David Drobne
117 | Mateja Erdani Kreft
102 | Barbara Faganel Kotnik
138 | Aleksandra Ferenc
163 | Sabina Fijan
71 | Martin Gazvoda
85 | Martina Gobec
103 | Mirjam Gosenca Matjaž
69 | Lidija Gradišnik
131 | Damijana Gregorič
124 | Nataša Gros
81 | Iva Hafner Bratkovič
77, 82 | Ester Heath
38 | Žiga Hodnik
151, 163 | Katja Holnthaner Zorec
137 | Nataša Horvatić Dolamič
93 | Martina Hrast Rambaher
87 | Grega Hudovornik
38, 129 | Janez Ilaš
154 | Maša Islamčević Razboršek
130 | Natalija Jančič
117 | Aleksandar Janev
62 | Miodrag Janić
85 | Žiga Jakopin
132, 146, 152 | Marko Jeran
80 | Marjan Jereb
78 | Marko Jukič
97 | Damijana Mojca Jurič
144 | Nina Kacjan Maršić
135 | Marjetka Kastelic Švab
100 | Klemen Kirbus
93 | Anja Klančnik
129, 143 | Branka Klemenčič
157 | Nina Klobasa Štrucl

KAZALO MENTORJEV IN SOMENTORJEV

120 | Bojan Knap
114 | Damijan Knez
145 | Maša Knez Marevci
110 | Petra Kocbek
128 | Jana Kolar
91 | Tilen Kopač
44 | Klemen Korasa
89 | Urban Košak
70, 122 | Janez Košmrlj
131 | Petra Kotnik
162 | Stana Kovač Hace
153 | Manca Kovač Viršek
82 | Ana Kovačič
139 | Metod Kovačič
98 | Sebastjan Kovačič
137 | Jasmina Kozar
95 | Krištof Kranjc
127 | Roman Kranvogl
76 | Julijana Kristl
162 | Ana Kroflič
108 | Klara Kuret Hodnik
146 | Anita Kušar
128 | Eva Lajevec
88, 90 | Tea Lanišnik Rižner
152 | Patricija Lap
109 | Katja Leben Zupet
107 | Marija Nika Lovšin
113 | Miha Lukšič
128 | Hend Mahgoub
98 | Aleksander Saša Markovič
69 | Tina Maver
158 | Janez Mavri
153 | Marija Meznarič
156 | Uroš Mikolič
126 | Alenka Mozer
140 | Matic Može
137 | Alenka Mujdrica Rožman
133 | Andreja Navršnik Kačič
121 | Metka Novak
149 | Ema Novinec
96, 123, 126 | Marko Novinec
126 | Ana Obaha
89 | Aleš Obreza
146 | Martina Oder
120 | Joško Osredkar
38 | Stane Pajk
130, 150, 154 | Muzafera Paljevac
98 | Darja Pečar
132 | Luka Irenej Pečan
145 | Simona Pečnik Posel
141 | Matej Pegam
79 | Andrej Perdih

KAZALO MENTORJEV IN SOMENTORJEV

83 | Anja Pišlar
119 | Odon Planinšek
136 | Olivija Plohl
152 | Maja Ponikvar-Svet
103 | Monika Prašnikar
92 | Ivica Ratoša
125 | Lea Rems
141 | Matjaž Retelj
148 | Darja Rizmal
140 | Peter Rodič
99 | Robert Roškar
112 | Damjana Rozman
158 | Miha Slapničar
109 | Anže Smole
111 | Tomaž Snoj
79 | Marija Sollner Dolenc
148 | Mitja Suvajac
94, 115 | Jurij Svete
134 | Tamara Šiško
105 | Miha Škerlavaj
161 | Jure Škraban
72 | Martina Štampar
132 | Anja Tanšek
99 | Žane Temova Rakuša
101 | Tihomir Tomašič
129 | Matevž Turk
108 | Jernej Ule
68 | Nejc Umek
155 | Damijana Urankar
156 | Tadeja Vajdič
113 | Katja Venko
149 | Špela Vičič
141 | Mojca Višček
50 | Tomaž Vovk
130 | Gašper Vrečer
44, 87 | Franc Vrečer
104 | Marija Vukomanović
148 | Liza Zagožen
132, 146, 152 | Lidija Zavasnik
69 | Tanja Zidarič
132 | Minja Zorc
76, 104 | Špela Zupančič
56 | Alenka Zvonar Pobirk
72 | Bojana Žegura
100 | Lovro Žiberna
155, 160 | Tomaž Žigon
116 | Taja Železnik Ramuta
106 | Polona Žnidaršič Plazl
165 | Nina Žuman

#krkinenagrade | www.krkinenagrade.si