

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

<b>I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ</b>
1. Датум и орган који је именовано комисију: 27.12.2016. године, Наставно-научно веће Медицинског факултета, Универзитета у Новом Саду, 16. Седница, Одлука број 05-14/16-2016/3/21-4.1
2. Састав комисије са знаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен: 1. Проф. др Марија Сакач, редовни професор, ужа научна област Органска хемија, изабрана у звање 08.11.2007, Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду; 2. Доц. др Милица Атанацковић-Крстоношић, доцент за ужу научну област Фармација (аналитика лекова), изабрана у звање 23.01.2014. године, Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду; 3. Доц. др Весна Тепавчевић, доцент за ужу научну област Фармација (аналитичка хемија), изабрана у звање 10.10.2014. године, Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду.
<b>II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ</b>
1. Име, име једног родитеља, презиме: <b>Коста, Јован, Поповић</b>
2. Датум рођења, општина, држава: <b>29.07.1988., Нови Сад, Република Србија</b>
3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив <b>Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду, интегрисане студије фармације, дипломирани фармацеут</b>
4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија <b>2012., Докторске академске студије Клиничке медицине</b>
5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране: -
6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука: -
<b>III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b> <b>Термодинамичка стабилност одабраних мицеларних система жучних соли значајних за нове фармацеутске формулације</b>
<b>IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b> Докторска дисертација се састоји из осам делова: увод, општи део, циљеви и хипотезе истраживања, експериментални део, резултати и дискусија, закључак, литература и прилог. Дисертација садржи 119 страна, 7 поглавља, 52 слике, 18 табела, 127 референци и 1 прилог. На почетку је дата кључна документација са изводом на српском и енглеском језику. Увод јасно дефинише мотивацију за истраживањем, општи део даје јасан и детаљан приказ

досадашњих научних сазнања у испитиваној области, циљеви и хипотезе истраживања концизно дефинишу научну оправданост. Материјал и методе истраживања јасно описују коришћене супстанце, као и методу мерења. Резултати и дискусија истраживања подељени су у две целине. Дискусија обухвата све добијене резултате истраживања који су тумачени уз упоређивање са резултатима из литературе за које постоје релевантни литературни подаци. Закључци су објединили најважнија научна сазнања произашла из испитивања и тумачења резултата ове докторске дисертације. Литература даје преглед коришћених литературних навода. Докторска дисертација је у целини написана у складу са пропозицијама писања и објављивања ове врсте научног рада.

## V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

У **Уводу** дисертације јасно су и систематски описани предмет и значај истраживања ове дисертације. Објашњен је значај примене сурфактаната и смеша сурфактаната, односно мешовитих мицела у фармацеутској индустрији.

Наведено је да се систем сурфактаната жељених особина може добити хемијском модификацијом већ постојећих молекула површински активних супстанци, и на други начин конструкцијом бинарних смеша сурфактаната. У фармацеутској и прехранбеној индустрији увелико се примењују бинарне смеше површински активних молекула. Истакнуто је да је за исти ефекат површинске активности потребна мања количина бинарне смеше, него чистог сурфактанта. Различите градивне јединице бинарне мицеле у мицеларној псеудофази могу формирати специфичне регије које могу везивати лекове одређених структурних карактеристика. Погодно је да једна градивна јединица буде круте конформације, нпр. соли жучних киселина, док је друга градивна јединица конформационо покретљива (угљоводонични низови изнад C10), јер се тако повећава солубилизациони капацитет мешовите мицеле у односу на монокомпонентну мицелу крутог сурфактанта. Повећањем дужине угљоводоничног низа конформационо покретног сурфактанта повећава се вероватноћа прихватања молекула госта. Мицеларни системи, како монокомпонентних мицела, тако и бинарних мешовитих мицела, додатно се могу термодинамички стабилизovati повећањем јонске јачине раствора. За хидратацију катјона троше се молекули воде из система, што повећава ефекат десолватизације хидрофобне површине сурфактаната, те се због тога поспешује самоасоцијација.

Истакнута је предност употребе смеша сурфактаната, односно мешовитих мицела у односу на појединачне сурфактанте и објашњен значај испитивања и потенцијална примена мицеларних система који су предмет испитивања ове дисертације, у фармацији и биомедицини.

У **Општем делу** дисертације представљене су основне особине сурфактаната, њихова структура и примена, као и начин формирања њихових сложених агрегата – мицела. Приказане су примарне жучне киселине (холна и хенодеоксихолна киселина), секундарне жучне киселине (деоксихолна, хиодеоксихолна и литохолна киселина) и њихове соли, полисорбати Твин 20, Твин 60 и Твин 80 (Tween 20, Tween 60, Tween 80) и Тритон 100 (Triton X-100). Сурфактанте који су предмет истраживања докторске дисертације детаљно су описани, као и утицај структуре на њихова физичко-хемијска својства.

Описане су монокомпонентне и бинарне мешовите мицеле, као и фактори који утичу на мицелизацију. Детаљно је теоријски објашњен комплексан процес формирања монокомпонентне нејонске мицеле, који се састоји од трансфера угљоводоничних сегмената из водене у липидну фазу, формирања мицеларне хидрофобне фазе, хидратисања слободне хидрофобне површине мицеле и укључивања стерне репулзивне интеракције између поларних група (глава) сурфактаната. Представљена је теорија фазне сепарације и приказан модел фазне сепарације код бинарне мешовите мицеле. Сви представљени модели мешовитих мицела сурфактаната актуелни су и релевантни. Описан је Хофмајстеров ефекат (Hofmeister), односно утицај катјона и анјона на растворљивост протеина.

Дисертација садржи јасно дефинисане **Циљеве** истраживања којима се проверава ваљаност очекиваних резултата, односно постављених **хипотеза**. Због широке примене испитиваних сурфактаната у фармацеутској индустрији, проучавање њиховог међусобног деловања и проналажење оптималног односа је од великог научног интереса. Као циљеви истраживања дефинисани су: испитивање примене промене киселинске константе (pKa) мицеларно везане жучне киселине у односу на слободну жучну киселину за описивање степена термодинамичке стабилизације бинарне мешовите мицеле, постављање физичко хемијског модела који описује

промену рКа вредности мицеларно везане жучне киселине и испитивање Хофмајстеровог ефекта при различитим температурама на термодинамичку стабилизацију мицеларних система.

Комисија је мишљења да су циљеви истраживања и хипотезе јасно и прецизно формулисани.

У **Експерименталном делу** докторске дисертације наведен је материјал, односно супстанце које су коришћене приликом експерименталног рада, као и примењена експериментална метода. Коришћени су Твинови 20 и 60 (Т20, Т60 – чистоће >99%), Тритон 100 (>99%), а од соли жучних киселина (чистоће >99%) натријум хиодеоксихолат (HD), натријум деоксихолат (DC) и натријум холат (С). Катјони ( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Rb}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ ) су добијени у воденим растворима из хлорида ових метала. Све супстанце које су коришћене у изради докторске дисертације веома су заступљене у савременим фармацеутским, козметичким и прехранбеним производима. Детаљно су приказане коришћене методе: спектрофлуориметрија, титрација, одређивање слободне количине контра јона, термометријска титрација и нуклеарна Оверхаусерова (Overhauser) спектроскопија (NOESY). Изабране методе су адекватне и савремене, одговарају постављеним циљевима и омогућавају добијање актуелних научних резултата.

У поглављу **Резултати и дискусија**, резултати експерименталног рада су прегледно, јасно и систематски представљени. Резултати су продискутовани на јасан и логичан начин. Приказани су резултати експерименталног рада који се састоји из три дела. Први део истраживања бави се термодинамичком карактеризацијом бинарних смеша сурфактанта: натријум хиодеоксихолата (HD) и полисорбата Tween 20 (Т20), затим HD и Tween 60 (Т60). Упоредени су термодинамички параметри мицеларних система HD-Т20, односно HD-Т60 са термодинамичким параметрима мицеларних система натријум холата С-Т20, односно С-Т60, ради проучавања утицаја дужине хидрофобног сегмента полисорбата, односно стереохемије ОН група стероидног скелета на синергистичке ефекте између различитих градивних јединица мешовите мицеле, односно на додатну Гибсову (Gibbs) енергију. Овим истраживањем повезана је константа протолизе мицеларне жучне киселине са синергистичким ефектом између различитих градивних јединица бинарне мешовите мицеле (тј. термодинамичком стабилношћу мицеле). У другом делу истраживања извршена су испитивања рКа вредности жучних киселина у облику мицеле и испитивања термодинамичке стабилизације реалних бинарних мешовитих мицела Тритона 100 и изабраних жучних соли. Трећи део истраживања односи се на Хофмајстеров ефекат. Извршено је одређивање критичних мицеларних концентрација натријум холата и натријум деоксихолата, чистих и са додатком LiCl, NaCl, KCl, RbCl, CsCl. Дата су детаљна објашњења, резултати су прегледно приказани у табелама. Бројне слике са графицима допринеле су јасном и свеобухватном разумевању и дискусији резултата. Резултати потврђују постављене хипотезе.

У поглављу **Закључак**, на основу добијених резултата и дискусије закључци су јасно и концизно изведени, те се могу сматрати поузданим и научно заснованим и одговарају постављеном циљу дисертације.

Поглавље **Литература** се састоји од 127 референци, које су цитиране на уобичајен и правилан начин. Наведена литература је адекватна и актуелна. Наведене су најзначајније референце из области која је истраживана, укључујући и најновија истраживања.

Комисија позитивно оцењује све делове докторске дисертације.

## **VI СПИСАК НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КОЈИ СУ ОБЈАВЉЕНИ ИЛИ ПРИХВАЋЕНИ ЗА ОБЈАВЉИВАЊЕ НА ОСНОВУ РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА У ОКВИРУ РАДА НА ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ**

Poša M, **Popović K**, Ćirin D, Farkaš Z. Binary mixed micelles of polysorbates (Tween 20 and Tween 60) and bile salts (Na-hyodeoxycholate and Na-cholate): Regular solution theory and change of pKa values of micellar bile acid - a novel approach to estimate of the stability of the mixed micelles. Fluid Phase Equilibria 2015;396:1-8. (M21)

Poša M, **Popović K**, Ćirin D, Farkaš Agatić Z. Binary mixed micelles of Triton X-100 and selected bile salts: thermodynamic stabilization and pKa values of micellar bile acids. Journal of Chemical Thermodynamics, 2016; 103: 333-341. (M21)

## VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

Код бинарних мешовитих мицела хиодеоксихолата и полисорбата систем (мешовита мицела) T20-HD је термодинамички стабилнији од мешовите мицеле T60-HD. Код бинарних мешовитих мицела холата и полисорбата је обрнуто, тј. термодинамички је стабилнија мешовита мицела T60-C од мешовите мицеле T20-C. Мешовита мицела полисорбата са C12 хидрофобним сегментом и хиодеоксихолатом термодинамички је стабилнија од мешовите мицеле са истим полисорбатом и ањоном холне киселине. Уколико је у бинарној мешовитој мицели једна од градивних јединица полисорбат T60 (C18 хидрофобни сегмент), онда је термодинамички стабилнији систем са ањоном холне киселине (друга градивна јединица) у односу на систем са ањоном хиодеоксихолне киселине (друга градивна јединица). рКа вредност жучне киселине у мицеларној фази већа је од рКа вредности слободне жучне киселине. Са повећањем молског удела полисорбата у бинарној смеси сурфактанта расте рКа вредност жучне киселине из мицеларне псеудофазе. Повећање рКа вредности жучне киселине код испитиваних мицеларних система полисорбата у односу на рКа вредност жучне киселине из воденог раствора је мера за термодинамичку стабилност реалне мешовите мицеле у односу на идеалну бинарну мешовиту мицелу. Стога од различитих бинарних система хомологних сурфактанта типа: полисорбат (или неки други нејонски класични сурфактант) – жучна со, једноставним експериментом потенциометријске титрације, тј. коришћењем једног раствора од сваког типа бинарне смеси сурфактанта изнад критичне мицеларне концентрације, на основу рКа вредности може се одабрати систем сурфактанта (који је термодинамички највише стабилизван) за детаљнију термодинамичку анализу.

На основу извршених испитивања рКа вредности жучних киселина и термодинамичке стабилизације реалних бинарних мешовитих мицела са Тритоном 100, могу се извести следећи закључци. Мешовите мицеле HD – Тритон 100 се карактеришу негативним вредностима параметра интеракције (што представља синергистичке интеракције), реалне бинарне мешовите мицеле су термодинамички стабилније, него идеалне мешовите мицеле. Две екваторијалне групе, С3-ОН и С6-ОН, у молекулу HD, посебно доприносе термодинамичкој стабилизацији мешовите мицеле због формирања кооперативних водоничних веза са Тритоном 100. рКа вредности мицеларно везаних жучних киселина HD и С су веће него код жучних киселина ван мицеле.  $\Delta$ рКа вредности представљају скривену разлику између стандардне промене Гибсове енергије протолизе мицеларно везане жучне киселине и стандардне промене Гибсове енергије протолизе жучне киселине из воденог раствора. Стога су  $\Delta$ рКа вредности повезане са додатном Гибсовом енергијом ( $G_{HA}^E$ ), која је последица водоничних веза које се формирају између стероидних ОН група жучне киселине и полиоксиетиленских (ПОЕ) група Тритона 100 у мешовитој мицели. Ово значи да у мешовитим мицелама жучних соли и Тритона 100,  $\Delta$ рКа вредности показују синергистичке интеракције између различитих градивних јединица, слично као коефицијент интеракције из Теорије регуларних раствора (Regular Solution Theory - RST).

Како код натријум холата, тако и код натријум деоксихолата, NaCl, KCl, RbCl, CsCl на свакој испитиваној температури значајно снижавају вредност критичне мицеларне концентрације (СМС) у односу на систем сурфактанта без испитиваних јона. Утицаји KCl и NaCl на криву СМС у функцији од температуре се међусобно не разликују. У интервалу температуре од 0° до 20°С утицај RbCl и CsCl на функцију СМС(Т) се значајно разликује у односу на деловање NaCl и KCl.

Изнад температуре од 20° С испитиване соли имају исто дејство на функцију СМС(Т). Термодинамички најстабилније мицеле натријум холата и натријум деоксихолата се добијају у присуству RbCl или CsCl при концентрацији од 400mM и на температури од 15°С. Овај ефекат се може објаснити тиме што катјони Rb и Cs имају највећу површину, стога могу везати највећи број молекула воде из хидратационог слоја са хидрофобне стране мономера - долази до изражаја конфигурациони ефекат хидратације у односу на електростатички ефекат привлачења дипола молекула воде и густине површинског наелектрисања јона.

## VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

Кандидат Коста Поповић, магистар фармације, успешно је у потпуности обавио истраживања која су била предвиђена планом у пријави докторске дисертације. Добијени резултати истраживања су јасно, систематично и прегледно приказани, логичним редоследом. Резултати су тумачени на

стручан и логичан начин, чиме је кандидат показао добро познавање одабране теме. Интерпретирани резултати и тумачења су у складу са релевантним литературним наводима, повезани су у целину са теоријским поставкама рада, те се начин приказа и тумачења резултата истраживања оцењује позитивно.

#### **IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

Дисертација је написана у потпуности у складу са предложеним испитивањима и образложењем наведеним у пријави теме.

Дисертација садржи све битне елементе потребне за овакву врсту научног рада.

Добијени резултати истраживања представљају оригинални допринос науци, због тога што је испитан велики број система сурфактаната који до сада нису били предмет истраживања, при чему су добијени нови резултати, објашњени на јединствен начин. Такође, испитивани системи сурфактаната, као и сами резултати имају значајну могућност примене у фармацији и медицини. Добијене вредности критичних мицеларних концентрација испитиваних смеша представљају значајно физичко-хемијско својство испитиваних система, чије је познавање неопходно при развоју фармацеутских формулација. Детаљна и опсежна дискусија ових резултата пружа значајан допринос у развоју нових смеша сурфактаната са што бољим и пожељним својствима, за примену у фармацији и медицини.

Нису уочени недостаци дисертације.

#### **X ПРЕДЛОГ:**

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

- да се докторска дисертација прихвати, а кандидату одобри одбрана.

**Комисија предлаже да се докторска дисертација под називом „Термодинамичка стабилност одабраних мицеларних система жучних соли значајних за нове фармацеутске формулације“ прихвати, а кандидату Кости Поповићу одобри одбрана.**

датум: 09.01.2017. године

НАВЕСТИ ИМЕ И ЗВАЊЕ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ  
ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

Проф. др Марија Сакач, редовни професор

---

Доц. др Милица Атанацковић-Крстоношић

---

Доц. др Весна Тепавчевић

---