

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ
Стоја Обрадовић, магистар фармације

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
<p>1. Датум и орган који је именовео комисију: 10.07.2017. Наставно-научно веће Медицинског факултета, Универзитета у Новом Саду (22. седница)</p> <p>2. Састав комисије са назнаком 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:</p> <ol style="list-style-type: none">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. Проф. др Наташа Милић, ванредни професор, ужа научна област Фармација (Општа и неорганска хемија), изабрана у звање 28.01.2014., Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду;3. Доц. др Ана Пилиповић, доцент, ужа научна област Фармација (Органска хемија), изабрана у звање 17.04.2014., Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду.
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: Стоја, Владо, Обрадовић</p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: 25.10.1988., Нови Сад, Република Србија</p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду, интегрисане студије фармације, магистар фармације</p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија 2013., Докторске академске студије клиничке медицине</p> <p>5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране: /</p> <p>6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука: /</p>
III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:
<p>Термодинамичка стабилност бинарних мешовитих мицела одабраних хомолога из група Бриј сурфактаната и полисорбата</p>

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Докторска дисертација маг. фарм. Стоје Обрадовић садржи 9 поглавља:

1. Увод (стр. 1-2),
2. Општи део (стр. 3-29),
3. Циљ рада (стр. 30-31),
4. Материјал и методе (стр. 32-36),
5. Резултати (стр. 37-60),
6. Дискусија (стр. 61-83),
7. Закључак (стр. 84-86),
8. Литература (стр. 87-100) и
9. Прилог (стр. 101-110).

Докторска дисертација је написана на 110 страна А4 формата и садржи 45 слика, 8 табела, 162 литературна навода и 2 прилога.

На почетку се налази кључна документација са изводом на српском и енглеском језику.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Наслов докторске дисертације је јасно формулисан и упућује на садржај истраживања.

У **Уводу** је описан значај сурфактаната као предмета истраживања у биомедицинским наукама. Наведено је да је специфична структура ових једињења одговорна за низ феномена који се испољавају у њиховим растворима. Ови феномени су разлог за примену сурфактаната у различитим гранама индустрије. Као једна од специфичности у понашању раствора сурфактаната наведено је формирање агрегата - мицела. Истакнуто је да између мономера сурфактаната могу да постоје синергистичке или антагонистичке интеракције које утичу на својства мицеле. Комбиновањем различитих сурфактаната могуће је конструисање мицела са жељеним карактеристикама, а тиме и отварање нових могућности за њихову практичну примену. Једна од значајних предности бинарних смеша сурфактаната је смањење укупне количине сурфактаната неопходне за формирање мицела. Истакнуто је да се применом мицела као носача лековитих супстанци може постићи унапређење фармакокинетског профила лека. Поред позитивног ефекта на пермеабилност биолошких мембрана, наведена је и могућност контролисаног ослобађања активне супстанце, њене заштите од деградације као и смањења њеног ефлукса из ћелије. Као предмет истраживања одабрани су нејонски сурфактанти из класе полисорбата и класе Бријева чија су стабилност, нетоксичност и повољан утицај на биорасположивост лековитих супстанци претходно утврђени у различитим истраживањима. Полисорбат 20, полисорбат 60 и полисорбат 80 се међусобно разликују према дужини и засићености хидрофобног сегмента, док се Бриј сурфактанти међусобно разликују према дужини поларног ланца. Изнета је претпоставка да се комбиновањем ових сурфактаната као градивних јединица мешовите мицеле, а затим и њеним анализирањем, може стећи увид у утицај структуре сурфактаната на стабилност мешовите мицеле.

Комисија сматра да је Уводу јасно истакнута важност бинарних смеша сурфактаната у биомедицинским наукама, као и научни и практични значај њиховог испитивања.

У **Општем делу** су описани структура и својства различитих класа сурфактаната. Детаљно је теоријски објашњена површинска активност сурфактаната која произилази из њиховог амфифилног карактера. Приказан је механизам акумулације сурфактаната на граничним површинама фаза, са посебним освртом на промене у слободној енергији целокупног система. Дефинисана су физичко-хемијска својства одабраних нејонских сурфактаната (полисорбат 20, полисорбат 60, полисорбат 80, Бриј С10, Бриј С20) и начин на који та својства корелирају са њиховом структуром. Наведена су доступна научна сазнања о потенцијалима примене ових једињења као носилаца лековитих супстанци у биолошким системима. Детаљно је описан механизам формирања монокомпонентних и бинарних мешовитих мицела у воденом раствору. Анализиран је утицај структуре мономера сурфактаната и њихове концентрације на величину, облик и унутрашњу организацију мицеле. Дефинисани су појмови солубилизације и солубилизационог капацитета. У овом поглављу су дате теоријске основе термодинамике

бинарних смеша. Дефинисане су идеалне и реалне смеше. Изложен је модел фазне сепарације и детаљно су приказани релевантни приступи у анализи термодинамике реалних бинарних мешовитих система: теорија регуларних раствора (*Regular solution theory - RST*), метода по Роденасу и метода према Хуангу и Сомасундарану.

Комисија сматра да је у Општем делу јасно, прегледно и свеобухватно приказана проблематика којом се бави докторска дисертација.

У поглављу **Циљ рада** су јасно изложене хипотезе и циљеви истраживања. С обзиром да РСТ одбацује утицај додатне ентропије (S_{ij}^E) на стабилност бинарних смеша сурфактаната, први циљ дисертације је испитати применљивост РСТ на одабране системе. У случају да се утврди постојање ентропијског утицаја на стабилност бинарних мешовитих мицела, неопходно је анализирати термодинамичку стабилност мешовитих мицела како са становишта додатне енталпије, тако и са становишта додатне ентропије. Примарни задатак докторске дисертације је анализа утицаја структуре мономера на термодинамичку стабилност мешовитих мицела. Неопходно је конструисати модел структуре мешовитих мицела који ће на адекватан начин објаснити корелацију између њене термодинамичке стабилности и структуре мономера сурфактаната. Хипотезе су јасно формулисане и у складу су са постављеним циљевима истраживања. Очекивало се да у испитиваним мешовитим мицелама постоји додатна ентропија. Претпостављено је да разлика у дужини хидрофобних сегмената мономера утиче на стабилност мешовите мицеле. Очекивано је да је овај стабилизациони ефекат израженији на високим температурама. Претпостављено је да присуство олефинске везе у хидрофобном сегменту полисорбата 80 утиче на ригидност његових мономера и смањује стабилност његових мешовитих мицела. Такође, претпостављено је да разлика у дужини поларних сегмената мономера у мешовитој мицели такође утиче на њену стабилност.

Комисија сматра да су циљеви истраживања и хипотезе јасно и прецизно дефинисани и да су у складу са формулацијама које су дате у пријави докторске дисертације.

У поглављу **Материјал и методе** изложен је план рада и детаљно су описане примењене методе и супстанце коришћене у експерименталном раду. У дисертацији су коришћени следећи сурфактанти: Бриј С10 (полиоксиетилен (10) стеарил етар), Бриј С20 (полиоксиетилен (20) стеарил етар), Твин 20 (полиоксиетилен (20) сорбитан монолаурат), Твин 60 (полиоксиетилен (20) сорбитан моностеарат), Твин 80 (полиоксиетилен (20) сорбитан моноолеат). Декларисани степен чистоте за све испитиване супстанце је већи од 99%, и оне су коришћене у експериментима без додатног пречишћавања. Вредности критичне мицеларне концентрације (*cmc*) испитиваних сурфактаната и њихових бинарних смеша су добијене методом спектрофотофлуориметрије уз примену пирена као пробног молекула. Мерања су вршена на температурама: 273.15 К, 283.15 К, 293.15 К, 303.15 К и 313.15 К. Подаци добијени спектрофлуориметријским мерењима су обрађени коришћењем програма *OriginPro v.8.5.1*. Физичко-хемијски параметри су израчунати и анализирани применом софтвера *Wolfram Mathematica 10.3*, *OriginPro v.8.5.1* и *Microsoft Excel 2016*.

Комисија сматра да су примењене методе адекватне и савремене, да одговарају постављеним циљевима и да омогућавају добијање поузданих и актуелних научних резултата.

У поглављу **Резултати** је на врло јасан, једноставан и прегледан начин изложен велики број података који су добијени експерименталним путем или провереним математичким прорачунима. Опис методе израчунавања *cmc* из експерименталних података је поткрепљен адекватним графицима.

Комисија сматра да су резултати поуздани и прегледно приказани. Сви поступци рачунања физичко-хемијских параметара и њихове анализе су темељно, систематично и разумљиво описани.

Поглавље **Дискусија** је подељено на два сегмента у којима су резултати продискутовани на логичан начин. У првом сегменту је, на основу добијених резултата изложен модел грађе монокомпонентних мицела одабраних сурфактаната у воденом раствору. Анализиран је и начин на који се вредности израчунатих физичко-хемијских параметара мењају у зависности од температуре, на основу чега су изведени закључци о утицају температуре на унутрашњу

организацију мицеле. У другом делу дискусије су изложени модели бинарних мешовитих мицела. Детаљно је описан процес мицелизације у воденом раствору бинарне смеше сурфактанта. Објашњен је утицај структуре мономера на организацију и стабилност мешовите мицеле. Потврђено је постојање ентропијског доприноса додатној Гибсовој енергији, услед чега је термодинамичка стабилност бинарних смеша сурфактанта даље анализирана и са аспекта утицаја додатне енталпије и са аспекта утицаја додатне ентропије. Упоредивањем израчунатих параметара за мешовите мицеле које садрже исти Бриј сурфактант и различите Твин косурфактанте, анализиран је утицај дужине и zasiћености хидрофобног сегмента мономера на термодинамичку стабилност мешовите мицеле. Утицај дужине хидрофилног сегмента на термодинамичку стабилност мицеле је објашњен упоређивањем физичко-хемијских параметара мешовитих мицела које садрже исте Твин сурфактанте и различите Бриј косурфактанте. Сва поређења резултата су поткрепљена адекватним графицима и илустрацијама. Комисија сматра да су резултати су протумачени на недвосмислен и логичан начин и потврђују хипотезе постављене у Циљу дисертације.

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

Поглавље **Литература**, садржи списак 162 референце цитиране на уобичајен и правилан начин. Избор референци је актуелан и примерен тематици која је предмет ове дисертације.

У поглављу **Прилог** дати су графици који на прегледан начин приказују и упоређују добијене резултате. На овај начин је поткрепљен садржај приказан у поглављима Резултати и Дискусија.

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

1. Obradović S, Poša M. The influence of the structure of selected Brij and Tween homologues on the thermodynamic stability of their binary mixed micelles. Journal of Chemical Thermodynamics. 2017; 110:41-50. (M21, IF 2.196)
2. Teravčević V, Poša M, Obradović S. Binary Mixed Micelles of Polyoxyethylene (10) Stearyl Ether with Polysorbate 20 and Polysorbate 60: Thermodynamic Description. Journal of Surfactants and Detergents. 2017; 20:379–89. (M22, IF 1.853)
3. Obradović S, Poša M. Binary mixed micelles Brij S10 - Tween 20 and Brij S10 - Tween 60: thermodynamic description. The International Bioscience Conference and the 6th International PSU – UNS Bioscience Conference - IBSC 2016; 2016 September 19-21; Novi Sad, Serbia. Novi Sad, Serbia; 2016. p. 118-119. (M34)

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

На основу измерених *cmc* монокомпонентних раствора анализираних сурфактанта и начина на који се ове вредности мењају са температуром, формулисани су модели монокомпонентних мицела. Утврђено је да се са повећањем температуре повећава и вредност *cmc*. Ово се објашњава повећањем вредности канонске партиционе функције на вишим температурама. На вишим температурама, конформације које се карактеришу већим вредностима енергије постају могуће.

Вредност β интеракционог параметра (β_{ij}) и додатне Гибсове енергије (G_{ij}^E) се за сваки испитивани бинарни систем на свим мереним температурама разликује од 0. Ово потврђује претпоставку да у реалним мешовитим мицелама између различитих градивних јединица постоје синергистичке или антагонистичке интеракције. На основу анализе зависности β_{ij} и G_{ij}^E од температуре, потврђена је хипотеза да постоји додатна ентропија у испитиваним бинарним системима ($S_{ij}^E \neq 0$).

На основу упоређивања S_{ij}^E вредности у испитиваним смешама, закључено је да системи који садрже Твин 20 сурфактант имају више вредности додатне ентропије од система који садрже исти Бриј сурфактант и Твин 60 или Твин 80. Ово потврђује хипотезу да разлика у дужини хидрофобног сегмента сурфактанта утиче на ентропију система. Ова додатна ентропија која се јавља у Бриј – Твин 20 смешама има стабилизациони ефекат на мешовиту мицелу. Претпоставља се да разлика у дужини угљоводоничних ланаца омогућава њихово компактније и ефикасније паковање у хидрофобном језгру. Са повећањем температуре расте и вредност S_{ij}^E у свим испитиваним смешама које садрже Твин 20 сурфактант, што потврђује претпоставку да је на високим температурама стабилизациони ефекат додатне ентропије овог порекла израженији.

Вредности ентропије у системима који садрже Твин 80 су ниже од S_{ij}^E вредности у системима који садрже Твин 20 и Твин 60 сурфактанте што потврђује хипотезу да олефинска веза присутна у молекулима Твин 80 сурфактанта повећава ригидност његове структуре и дестабилизује његове мицеле. Претпоставља се да ригидна *cis* конформација двоструке везе узрокује неефикасно паковање угљоводоничних ланаца у мешовитој мицели, што даље резултује интензивнијом хидратацијом хидрофобног језгра мицеле.

Утврђено је да постоје разлике у тенденцијама β_{ij} и G_{ij}^E вредности у системима који садрже Твин 80 сурфактант од оних у системима који садрже Твин 20 и Твин 60. У Бриј – Твин 20 и Бриј – Твин 60 системима вредности ових параметара се смањују са порастом температуре. У Бриј – Твин 80 системима вредности $G_{ij}^E = f(T)$ и $\beta_{ij} = f(T)$ су растуће функције. Ово такође потврђује претпоставку да *cis* двострука веза полисорбата 80 узрокује дестабилизацију мешовите мицеле. Наиме ентропијска стабилизација услед повећања конформационе слободе угљоводоничних ланаца на високим температурама, је код мицела које садрже Твин 80 ограничена. Површина хидрофобног домена његових мицела је хидратисана у већој мери што је и са енталпијског и са ентропијског становишта неповољно за стабилност мешовите мицеле.

Упоређивањем вредности S_{ij}^E за системе који садрже различите Бриј сурфактанте и исте Твин косурфактанте утврђено је да мешовите мицеле које садрже Бриј С20 имају ниже S_{ij}^E вредности. Овим је потврђена хипотеза да дужина поларног сегмента утиче на стабилност бинарног мешовитог система. Уколико је разлика у дужини хидрофобног сегмента између косурфактаната већа, остварује се и већи број водоничних и дипол–дипол интеракција са молекулима воде. Што је већи број молекула воде који ступањем у ове интеракције губе степен слободе кретања, додатна ентропија система има ниже вредности.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

Кандидат Стоја Обрадовић, маг. фарм., је у потпуности и успешно обавила истраживања предвиђена планом изложеним у пријави докторске дисертације. Добијени резултати истраживања су, графички и табеларно, јасно, систематично и прегледно приказани. Резултати су тумачени на стручан и логичан начин, чиме је кандидат показао добро познавање истраживане научне области и метода одређивања. Интерпретирани резултати и тумачења су у складу са релевантним литературним наводима, повезани су у целину са теоријским поставкама рада. Закључци логично произилазе из добијених резултата рада.

Комисија позитивно оцењује начин приказа и тумачења резултата истраживања.

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме

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

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

<p>Дисертација садржи све битне елементе оригиналног научног рада неопходне за разумевање обрађене теме и добијених резултата.</p>
<p>3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци</p> <p>У оквиру докторске дисертације су испитани бинарни системи Твин 20, Твин 60, Твин 80, Бриј С10 и Бриј С20 сурфактаната који потенцијално могу имати примену у области фармације, а који до сада нису били предмет истраживања. Добијени резултати су нови и објашњени су на логичан и јасан начин. Резултати истраживања пружају увид у утицај структуре сурфактаната на термодинамичку стабилност мешовитих мицела као и на сам процес мицелизације. Изложени резултати и изведени закључци представљају значајан научни допринос и потенцијално могу имати значајну улогу у развоју нових фармацеутских формулација.</p> <p>Потврда оригиналности добијених резултата и закључака докторске дисертације је и публиковање истих у научним радовима у међународним часописима са СЦИ листе.</p>
<p>4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања</p> <p>Недостаци докторске дисертације нису уочени.</p>
<p>X ПРЕДЛОГ:</p> <p>На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже да се докторска дисертација „Термодинамичка стабилност бинарних мешовитих мицела одабраних хомолога из група Бриј сурфактаната и полисорбата“ прихвати, а кандидату маг. фарм. Стоји Обрадовић одобри одбрана.</p>

датум: 18.07.2017.

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

Проф. др Марија Сакач, редовни професор

Проф. Др Наташа Милић, ванредни професор

Доц. др Ана Пилиповић, доцент
