

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ - ФАРМАЦЕУТСКИ ФАКУЛТЕТ

НАСТАВНО - НАУЧНОМ ВЕЋУ

КОМИСИЈИ ЗА ПОСЛЕДИПЛОМСКУ НАСТАВУ - ДОКТОРСКЕ СТУДИЈЕ

Предмет: Извештај Комисије за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата магистра фармације Ане Ћирић

На седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду – Фармацеутског факултета, одржаној 7. 3. 2024. године, Одлуком број 504/2 именовани су чланови Комисије за оцену и одбрану завршене докторске дисертације, кандидата маг. фарм. Ане Ћирић, под насловом:

„Развој микрочестица на бази полиелектролитних комплекса хитозана и ксантан гуме као потенцијалних носача са продуженим ослобађањем за пероралну примену ибупрофена и есцина“

Комисија у саставу:

1. **Др сц. Јелена Ђуриш, редовни професор,** Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет
2. **Др сц. Ђорђе Медаревић, виши научни сарадник,** Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет
3. **Др сц. Лидија Петровић, редовни професор,** Универзитет у Новом Саду – Технолошки факултет Нови Сад
4. **Др сц. Александар Рашковић, редовни професор,** Универзитет у Новом Саду – Медицински факултет Нови Сад
5. **Др сц. Теодора Јанковић, научни саветник,** Институт за проучавање лековитог биља „Др Јосиф Панчић“

прегледала је приложену докторску дисертацију и подноси Наставно-научном већу Универзитета у Београду – Фармацеутског факултета следећи извештај.

ИЗВЕШТАЈ

1. ПРИКАЗ САДРЖАЈА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Докторска дисертација маг. фарм. Ане Ћирић, под називом: „Развој микрочестица на бази полиелектролитних комплекса хитозана и ксантан гуме као потенцијалних носача са продуженим ослобађањем за пероралну примену ибупрофена и есцина“ подељена је у шест целина (1. Увод, 2. Циљ истраживања, 3. Експериментални део, 4. Резултати и дискусија, 5. Закључак, 6. Литература) и написана на 174 стране стандардног формата (проред 1; фонт *Times New Roman* – 12). Поред наведених тематских целина дисертација укључује сажетак на српском и енглеском језику, садржај, прилоге (списак радова и саопштења који чине део докторске дисертације и биографију кандидата), као и изјаве о ауторству, истоветности штампане и електронске верзије и коришћењу докторске дисертације. Дисертација је написана јасним и прегледним стилем и садржи 51 слику, 40 табела и 354 литературна навода.

Увод дисертације је систематичан преглед литературних података од значаја за предмет проучавања дисертације и постављање циљева истраживања. У поглављу 1.1. описани су значај, примена, предности и изазови микроинкапсулације активних фармацеутских супстанци, као једног од савремених приступа формулације фармацеутских препарата. У поглављу 1.2. разматрани су полиелектролитни комплекси (ПЕК-ови) на бази биокомпатибилних полимера као потенцијални носачи активних супстанци, са освртом на њихово добијање, својства и карактеризацију. Такође, коментарисане су полазне супстанце и типови ПЕК-ова, као и најчешће примењиване методе за добијање микрочестица на бази ПЕК-ова. Поглавље 1.3 садржи податке о добијању полисахарида хитозана, најчешће разматране катјонске компоненте ПЕК. Приказани су подаци о својствима хитозана који потврђују његов потенцијал за употребу као фармацеутског ексципијенса, али и ограничења његове самосталне употребе у развоју носача активних супстанци за перорални пут примене, због чега је неопходно комбиновати га са другим полимерима. Поглавље 1.4. је преглед до сада описаних носача на бази ПЕК-ова хитозана и различитих ањонских полиелектролита. Обухвата литературне наводе о способности носача на бази ових ПЕК-ова да постигну жељену кинетику ослобађања и побољшају биолошку расположивост инкорпорираних модел активних супстанци након пероралне примене. У поглављу 1.5. систематизовани су литературни подаци о ксантан гуме (добијање, физичко-хемијска својства и употреба у формулацији фармацеутских препарата) који указују на погодност и значај њеног комбиновања са хитозаном. Поглавље 1.6. описује ПЕК-ове на бази хитозана и ксантан гуме и развој носача активних супстанци на бази ових ПЕК-ова. У оквиру овог поглавља размотрен је утицај услова припреме ПЕК-ова ова два полиелектролита на добијање носача са жељеним карактеристикама, односно дефинисани су параметри чији утицај на формирање и својства ПЕК-ова хитозана и ксантан гуме као носача активних фармацеутских супстанци нису довољно испитани. Поглавље 1.7 садржи преглед података о фармаколошким, физичко-хемијским и биофармацеутским својствима ибупрофена, који је у овом истраживању коришћен као модел активна супстанца која има ограничену и *pH*-зависну растворљивост у води. Ово поглавље приказује и различите технолошке приступе предложене ради превазилажења недостатака примене конвенционалних фармацеутских облика са ибупрофеном, са посебним освртом на развој носача на бази полимера. У поглављу 1.8. описан је есцин, који је у овој дисертацији употребљен као хидросолубилна модел активна супстанца. Описана су физичко-хемијска и фармаколошка својства есцина и изазови његове пероралне примене.

Циљеви су дефинисани као општи и специфични (у склопу три фазе истраживања). Општи циљ био је развој микрочестица на бази ПЕК-ова хитозана и ксантан гуме са карактеристикама носача са продуженим ослобађањем за пероралну примену ибупрофена и комерцијално доступног есцина. Специфични циљеви у оквиру прве фазе подразумевали су проучавање процеса формирања плацебо ПЕК-ова хитозана и ксантан гуме, као и детаљну процену утицаја формулационих параметара на физичко-хемијске особине ПЕК-ова и микрочестица добијених након сушења плацебо ПЕК-ова под амбијенталним условима. Додатни циљ у оквиру прве фазе био је испитивање утицаја плацебо микрочестица на кинетику ослобађања ибупрофена из физичких смеша микрочестица и активне супстанце пуњених у тврде капсуле. У оквиру друге фазе специфични циљеви били су процена утицаја поступака додавања ибупрофена на својства микрочестица на бази ПЕК-ова хитозана и ксантан гуме, проучавање значаја масеног односа хитозан/ксантан гума на формирање ПЕК-ова, физичко-хемијска, фармацеутско-технолошка и биофармацеутска својства добијених микрочестица.

Спроведено је и истраживање процеса формирања ПЕК-ова, као и карактеризација микрочестица са различитим масеним уделима есцина, као и поређење својстава микрочестица добијених сушењем распршивањем и микрочестица еквивалентног састава које су сушене под амбијенталним условима. Специфични циљеви треће фазе обухватили су процену биолошке расположивости, антиноцицептивне и антиедематозне активности микроинкапсулираних модел активних супстанци у микрочестице на бази ПЕК-ова хитозана и ксантан гуме, као и процену њихове нешкодљивости код понављане пероралне примене на пацовима или мишевима.

Експериментални део је обухватио опис коришћених материјала и примењене методологије. Најпре су наведени сви материјали коришћени у експерименталном раду, описано поступање са експерименталним животињама и наведени бројеви дозвола за рад (Етичке комисије за заштиту добробити огледних животиња Универзитета у Новом Саду, бр. одобрења 04-81/123 и Министарства пољопривреде, шумарства и водопривреде Републике Србије, бр. одобрења 323-07-13890/2020-05). У оквиру методологије прве фазе детаљно су описани поступци припреме водених раствора хитозана и ксантан гуме, као и процедура припреме плацебо ПЕК-ова. Описано је и праћење формирања плацебо ПЕК-ова мерењем трансмитанце, електричне проводљивости, *pH* и реолошких параметара. Затим је описан поступак добијања плацебо микрочестица након сушења ПЕК-ова под амбијенталним условима. У даљем опису метода карактеризације микрочестица описан је поступак одређивања приноса, садржаја резидуалне влаге (гравиметријском методом), микроскопске анализе на оптичком и скенирајућем електронском микроскопу (*SEM*), проточности (применом индиректне методе), инфрацрвене спектроскопије са Фуријеовом трансформацијом (*FT-IR*), дифракције X-зрака на узорку прашка (*PXRD*) и диференцијалне скенирајуће калориметрије (*DSC*). Такође, детаљно је описан поступак испитивања способности рехидратације плацебо микрочестица. Коначно, у склопу прве фазе је описана метода за испитивање утицаја плацебо микрочестица на кинетику ослобађања ибупрофена из њихових физичких смеша пуњених у тврде капсуле (на апаратури са ротирајућим лопатицама). Експериментални рад друге фазе био је подељен у четири потфазе како би се остварили сви постављени специфични циљеви. У *првој потфази* најпре је описана припрема ПЕК-ова са ибупрофеном различитим поступцима додавања активне супстанце и наведено да је праћење формирања ових ПЕК-ова обухватило мерење трансмитанце, електричне проводљивости, *pH* и реолошких параметара на начин описан у методологији прве фазе. Наведено је да је карактеризација микрочестица са ибупрофеном добијених након сушења ПЕК-ова под амбијенталним условима (описано у склопу прве фазе) обухватила: одређивање приноса, ефикасности инкорпорирања и садржаја ибупрофена, садржаја резидуалне влаге (Карл-Фишер титрација), морфолошку анализу (оптичка микроскопија) и процену проточности, *FT-IR* спектроскопију, *PXRD*, *DSC*, процену способности рехидратације и испитивање утицаја инкорпорирања ибупрофена у микрочестице на кинетику ослобађања ове активне супстанце. Пошто су сличне методе карактеризације примењене у овој потфази истраживања у односу на прву фазу експерименталног рада, у склопу описа методологије описане су разлике у експерименталним процедурама, а које су се односиле на одређивање садржаја резидуалне влаге и испитивање утицаја инкорпорирања ибупрофена у микрочестице на кинетику ослобађања ове активне супстанце. У *другој потфази* испитиван је утицај масеног односа хитозана и ксантан гуме на формирање ПЕК-ова и на својства микрочестица добијених након сушења ових ПЕК-ова под амбијенталним условима применом идентичне методологије која је описана код прве потфазе друге фазе истраживања. У оквиру *треће потфазе* описана

је припрема ПЕК-ова са различитим масеним уделима есцина и наведено да је праћење формирања ових ПЕК-ова (мерење трансмитанце, проводљивости, *pH* и реолошких параметара) спроведено према протоколима описаним у методологији прве фазе експерименталног рада. Затим су наведене методе карактеризације микрочестица са есцином добијених након сушења ПЕК-ова под амбијенталним условима, у складу са протоколима сушења и карактеризације који су описани у претходним фазама експерименталног рада. У овој потфази детаљно су описани поступци за квантификацију есцина *HPLC* методом, испитивање способности *pH*-зависне рехидратације микрочестица на бази ПЕК-ова хитозан/ксантан гума и испитивање утицаја инкорпорирања ибупрофена и есцина у микрочестице на бази ових ПЕК-ова на могућност постизања *pH*-зависног ослобађања активних супстанци, које је праћено у апаратури са ротирајућом корпицом. У оквиру *четврте потфазе* детаљно је описан поступак сушења распршивањем за добијање микрочестица и наведене су методе карактеризације микрочестица (одређивање приноса, ефикасности инкорпорирања, садржаја модел активне супстанце и садржаја резидуалне влаге, *SEM*, процена проточности, *FT-IR* спектроскопија, *PXRD*, *DSC*, процена способности *pH*-зависне рехидратације и постизања *pH*-зависног ослобађања микроинкапсулираних модел активних супстанци), уз назнаку да су спроведене према процедурама описаним у претходним фазама истраживања. У оквиру *треће фазе* експерименталног рада (*in vivo* студија) описана је припрема третмана коришћених у истраживању. Затим је описана метода за испитивање утицаја микроинкапсулације ибупрофена и есцина на њихову биолошку расположивост након пероралне примене код пацова. Такође, описан је протокол за испитивање нешкодљивости микрочестица на бази ПЕК-ова хитозан/ксантан гума након њихове понављане четрнаестодневне пероралне примене на пацовима. Дефинисани су и протоколи за процену утицаја микроинкапсулације обе модел активне супстанце на њихову антидемотозну активност (на пацовима) и антиноцицептивну активност (на мишевима). На крају је дефинисан поступак статистичке обраде резултата *in vivo* студије.

Резултати и дискусија су прегледно приказани у три целине које одговарају дефинисаним фазама експерименталног рада, при чему је друга целина подељена у четири потфазе. Резултати докторске дисертације су приказани јасно и систематично, текстуално и на 43 слике и 38 табела. Дискусија је обухватила анализу и разматрање приказаних резултата са критичким освртом на резултате сродних истраживања.

Закључак докторске дисертације садржи концизно приказане закључке свих фаза и потфаза истраживања, а који су проистекли из постављених циљева. На крају је наведен и општи закључак и научни допринос докторске дисертације.

У оквиру **Литературе** наведено је 354 референци коришћених у докторској дисертацији које су цитиране Харвардским стилем.

Прилози садрже списак радова и саопштења који чине део докторске дисертације и кратку биографију кандидата.

2. ОПИС ПОСТИГНУТИХ РЕЗУЛТАТА

У оквиру ове докторске дисертације утврђени су оптимални параметри за припрему микрочестица на бази ПЕК-ова хитозана и ксантан гуме као носача са продуженим и *pH*-зависним ослобађањем за пероралну примену ибупрофена и есцина. Такође, утврђен је значајан утицај микроинкапсулације обе модел активне супстанце на

одређене фармакокинетичке параметре, као и на антиедематозну и антиноцицептивну активност. Показана је и нешкодљивост микрочестица након понављане четрнаестодневне примене.

Резултати **прве фазе** показали су да на растворљивост хитозана утичу pH и тип киселине коришћене као средства за подешавање pH , да се боље раствара у разблаженим растворима органских киселина и да је оптимално средство за подешавање pH које резултује најбољим растварањем хитозана сирћетна киселина. Мерењем трансмитанце, електричне проводљивости, pH и реолошких параметара током формирања плацебо ПЕК-ова (при масеном односу хитозан/ксантан гума 1:1) показано је да се најекстензивније интеракције између полимера у њима остварују коришћењем сирћетне киселине као средства за подешавање pH и при pH 3,6 или 4,6, када је постигнуто потпуно растварање хитозана. Током сушења уочен је брз развој микроорганизама у ПЕК-овима који су садржали млечну киселину као средство за подешавање pH , па ови ПЕК-ови нису разматрани у даљем истраживању. Показано је да су плацебо микрочестице добијене након сушења ПЕК-ова под амбијенталним условима имале релативно низак принос (18,02 – 40,88%), зависан од pH и типа киселине коришћене за подешавање pH , али и релативно високе вредности садржаја резидуалне влаге (~10%). Резултати $FT-IR$ спектроскопије показали су да су у свим припремљеним плацебо микрочестицама (са различитим киселинама и при различитим pH) остварене искључиво нековалентне интеракције између хитозана и ксантан гуме, али да су оне биле најекстензивније када је pH подешавана на 3,6 или 4,6 сирћетном киселином. $PXRD$ и DSC показале су некристалну природу плацебо микрочестица. Показана је и способност свих плацебо микрочестица да у контакту са фосфатним пуфером pH 7,2 потпуно рехидратишу након 10 h , мада је брзина рехидратације зависила од pH (најбрже су рехидратисале микрочестице на бази ПЕК чија је pH подешена на 5,6, а најспорије оне на бази ПЕК-ова чија је pH била 3,6). Разликама у брзини рехидратације ових микрочестица објашњене су разлике у кинетици ослобађања ибупрофена из физичких смеша са њима и утврђени су следећи параметри за припрему плацебо микрочестица са највећим потенцијалом за постизање продуженог ослобађања ибупрофена: pH 4,6 и 5,6 и сирћетна киселина као средство за подешавање pH раствора хитозана, па су само ови параметри разматрани у даљем истраживању.

У оквиру **прве потфазе друге фазе** истраживања мерењем трансмитанце, електричне проводљивости, pH и реолошких параметара показано је да се ПЕК-ови хитозан/ксантан гума (при масеном односу полимера 1:1) могу припремити и у присуству слабо растворне модел активне супстанце, ибупрофена (при масеном односу ибупрофена и укупног садржаја полимера 1:1), да се екстензивније интеракције између компонената ПЕК остварују када се ибупрофен додаје током формирања ПЕК (у поређењу са додавањем активне супстанце након комплексирања полимера), нарочито када је за припрему ПЕК коришћен раствор хитозана pH 4,6 (у поређењу са раствором чија је pH 5,6). Присуство ибупрофена у ПЕК-овима резултовало је и повећањем приноса (48,04 – 54,14%) и смањењем садржаја резидуалне влаге (3,27 – 5,80%) у микрочестицама са ибупрофеном у поређењу са плацебо микрочестицама (прва фаза истраживања). Резултати $FT-IR$ спектроскопије указали су да су у микрочестицама са ибупрофеном интеракције између свих компонената ПЕК-ова нековалентне природе, а да су најекстензивније одржане у микрочестицама на бази ПЕК-а припремљеног са раствором хитозана pH 4,6 када је ибупрофен додат током формирања ПЕК-а. $PXRD$ и DSC показале су кристалну природу микрочестица са ибупрофеном, али и делимично нарушавање кристалне решетке ибупрофена у односу на чисту супстанцу. Уочен је

значајан утицај поступка инкорпорирања ибупрофена и pH раствора хитозана на рехидратациону способност микрочестица. Најспорије су рехидратисале микрочестице на бази ПЕК-а са најекстензивнијим интеракцијама (припремљен са раствором хитозана pH 4,6 када је ибупрофен додат током формирања ПЕК-а). Показано је продужено ослобађање микроинкапсулираног ибупрофена, са око 60% ослобођене активне супстанце током 12 h из свих микрочестица, али је утврђено да на кинетику ослобађања микроинкапсулираног ибупрофена у већој мери утиче pH раствора хитозана коришћеног за припрему ПЕК-ова него поступак инкорпорирања активне супстанце. Такође, показано је да се најбоља контрола ослобађања микроинкапсулираног ибупрофена постиже из микрочестица на бази ПЕК-а припремљеног са раствором хитозана pH 4,6 када је ибупрофен додат током формирања ПЕК-а, па су наведени pH и поступак додавања активне супстанце одабрани као оптимални и једини су разматрани у даљем истраживању.

Резултати мерења трансмитанце, електричне проводљивости, pH и реолошких параметара током **друге потфазе друге фазе истраживања** показали су да ПЕК-ови хитозан/ксантан гума могу бити формирани при масеном уделу ксантан гуме који је два или три пута већи од масеног удела хитозана (масени однос хитозан/ксантан гума 1:2 или 1:3), како у присуству ибупрофена (ПЕК-ови са ибупрофеном), тако и у одсуству модел активне супстанце (плацебо ПЕК-ови). Утврђено је да се степен интеракција у овим ПЕК-овима није значајно променио када је масени удео ксантан гуме био душло већи од удела хитозана, али са додатним повећањем удела ксантан гуме у ПЕК-у, при односу 1:3, долазило је до слабљења интеракција. Показано је и да повећање масеног удела ксантан гуме у ПЕК-овима резултује извесним повећањем приноса микрочестица, али и повећањем садржаја резидуалне влаге. *FT-IR* спектроскопија је и код ових микрочестица показала искључиво нековалентне интеракције, као и екстензивније интеракције при масеном односу полимера 1:2. Да је ибупрофен у микрочестице инкорпориран у кристалном облику показано је *PXRD* и *DSC* анализом, али је уочено и делимично нарушавање кристалне решетке микроинкапсулиране активне супстанце. И плацебо микрочестице и микрочестице са ибупрофеном са масеним односима хитозан/ксантан гума 1:2 и 1:3 имале су способност да потпуно рехидратишу у фосфатном пуферу pH 7,2 након 12 h , али је спорија рехидратација због екстензивнијих интеракција уочена при односу 1:2 код оба типа микрочестица. Из микрочестица са ибупрофеном при масеном односу полимера 1:2 ослобођено је 58,04% ибупрофена током 12 h , а у случају микрочестица са односом полимера 1:3 ослобођено је 67,60% активне супстанце, мада је модел-независна анализа показала да су профили ослобађања слични. Закључено је да микрочестице са ибупрофеном на бази ПЕК-а добијеног мешањем хитозана раствореног на pH 4,6 и двоструко веће количине ксантан гуме има најбољи однос степена интеракција, приноса, контроле и кинетике ослобађања модел активне супстанце, тако да је само масени однос полимера 1:2 разматран у даљем истраживању.

У оквиру **треће потфазе друге фазе истраживања** мерењем трансмитанце, електричне проводљивости, pH и реолошких параметара утврђено је да се ПЕК-ови хитозан/ксантан гума (однос полимера 1:2) могу формирати и у присуству хидросолубилне модел активне супстанце, есцина, при различитим масеним односима есцина и укупног садржаја полимера (1:1, 1:2 и 1:4). Резултати нису указали на значајне разлике у екстензивности интеракција између компонената ПЕК-ова при различитим масеним уделима есцина, али је установљено да су међумолекулске интеракције биле знатно екстензивније у ПЕК-овима са хидросолубилним есцином у поређењу са ПЕК-овима са слабо растворним ибупрофеном, а нарочито у поређењу са

плацебо ПЕК-овима са истим масеним односом полимера. Уочен је много већи утицај масеног удела есцина на својства микрочестица са есцином добијених након сушења ПЕК-ова под амбијенталним условима. Пораст масеног удела есцина резултовао је повећањем приноса микрочестица и ефикасности инкорпорирања активне супстанце. Ипак, примећено је да је присуство ове хидросолубилне супстанце у ПЕК-овима (без обзира на масени удео) резултовало нешто већим садржајем резидуалне влаге у микрочестицама (8,41 – 9,74%) у поређењу са присуством ибупрофена (претходна потфазе истраживања). *FT-IR* спектроскопијом је и код микрочестица са есцином утврђено постојање искључиво нековалентних интеракција између компонената ПЕК-ова, а утврђене су екстензивније међумолекулске интеракције при највећем масеном уделу есцина. *PXRD* и *DSC* анализа показале су да је есцин задржао своју аморфну природу након инкорпорирања у микрочестице. Показано је да су све испитиване микрочестице теже и спорије рехидратисале у медијуму *pH* 1,2 у односу на медијум *pH* 7,4, и да су показале значајан потенцијал за *pH*-зависну рехидратацију. За микроинкапсулирани ибупрофен је утврђено да је знатно мања количина активне супстанце ослобођена у медијуму *pH* 1,2 током 3 *h* (1,70%) у поређењу са медијумом *pH* 7,4 током 9 *h* (26,06%). Оптимално *pH*-зависно ослобађање микроинкапсулираног есцина је постигнуто из микрочестица са масеним односом есцина и укупног садржаја полимера 1:1 (4,30% при *pH* 1,2 током 3 *h* и 37,93% при *pH* 7,4 током 9 *h*). Показано је да микроинкапсулација ибупрофена и есцина може обезбедити продужено и одложено (*pH*-зависно) ослобађање активне супстанце.

Резултати **четврте потфазе друге фазе** истраживања показали су да се сушењем распршивањем могу припремити микрочестице на бази ПЕК-ова хитозан/ксантан гума са и без активне супстанце. Међутим, утврђено је да се овом методом сушења добијају значајно нижи приноси микрочестица (7,37 – 27,18%), као и вишеструко мања ефикасност инкорпорирања и садржај инкорпорираних активних супстанци. Уочено је да са повећањем екстензивности међумолекулских интеракција у ПЕК-овима који се подвргавају сушењу опадају вредности наведених параметара. *FT-IR* спектроскопија показала је знатно слабије међумолекулске интеракције у микрочестицама добијеним сушењем распршивањем у поређењу са микрочестицама еквивалентног састава које су добијене сушењем под амбијенталним условима. *PXRD* и *DSC* анализа показале су да се сушењем распршивањем постиже потпуна аморфизација ибупрофена, док есцин и у микрочестицама добијеним овом методом сушења задржава аморфни карактер. Показано је да микрочестице добијене сушењем распршивањем подједнако добро рехидратишу и у медијуму *pH* 1,2 и у медијуму *pH* 7,4. Сушењем распршивањем добијене су микрочестице са ибупрофеном које могу обезбедити жељени профил ослобађања активне супстанце (4,91% при *pH* 1,2 током 3 *h* и 25,64% при *pH* 7,4 током 9 *h*), док у случају есцина нису добијене микрочестице које могу обезбедити *pH*-зависно ослобађање активне супстанце. Због већег потенцијала да омогуће *pH*-зависно ослобађање активних супстанци, бољег приноса и ефикасности инкорпорирања активних супстанци, оптималним носачима су сматране микрочестице са ибупрофеном и микрочестице са есцином добијене сушењем под амбијенталним условима, те су оне укључене у *in vivo* студију.

У оквиру **треће фазе** истраживања (*in vivo* студија) показано је да је инкорпорирање обе модел активне супстанце у микрочестице на бази ПЕК-ова хитозан/ксантан гума значајно утицало на поједине фармакокинетичке параметре. У случају ибупрофена примећено је да је максимална концентрација у серуму (C_{max}) била око 3 пута већа након пероралне примене микрочестица у поређењу са суспензијом ибупрофена. Показано је и да се микроинкапсулацијом ибупрофена постиже статистички значајно

продужење полувремена елиминације ($t_{1/2}$) у односу на интравенску примену раствора ибупрофена. Ипак, биолошка расположивост ибупрофена није се значајно разликовала након интравенске примене раствора ове активне супстанце и пероралне примене суспензије и микрочестица са ибупрофеном. У случају есцина примећен је утицај микроинкапсулације на вредност C_{max} (повећање око 2,5 пута) и на биолошку расположивост након пероралне примене (повећање око 1,3 пута) у односу на раствор есцина. Процентом нешкодљивости микрочестица након четрнаестодневне пероралне примене нису уочени статистички значајни пораст концентрација триглицерида, холестерола и показатеља функције бубрега (креатинин, мокраћна киселина и уреа), као ни повећана активност трансaminaза јетре у односу на контролну групу, на основу чега је закључено да се микрочестице са ибупрофеном и микрочестице са есцином на бази ПЕК-ова хитозан/ксантан гума могу сматрати нешкодљивим носачима. Значајан антидемотозни ефекат микроинкапсулираног ибупрофена и микроинкапсулираног есцина, сличан ефекту дексаметазона, уочен је 4 до 6 h након пероралне примене. Показано је и да микроинкапсулирани есцин бољи антидемотозни ефекат остварује при дози активне супстанце 10 mg/kg у поређењу са 20 mg/kg (ефекат није дозно зависан). Процентом антиноцицептивног ефекта показано је да се 30 min након пероралне примене постиже статистички значајан антиноцицептивни ефекат микроинкапсулираних активних супстанци у поређењу са контролном групом и да се овај ефекат одржава током 8 h. Најснажнији антиноцицептивни ефекат микроинкапсулираног ибупрофена, сличан ефекту морфина, уочен је 1 h након примене, а трајао је 4 h. Микроинкапсулирани есцин (10 mg/kg) имао је ефикасност сличну морфину током 8 h, а максимални ефекат уочен је 2 h након примене. Показано је да антиноцицептивни ефекат микроинкапсулираног есцина није дозно зависан.

3. УПОРЕДНА АНАЛИЗА СА РЕЗУЛТАТИМА ИЗ ЛИТЕРАТУРЕ

Микроинкапсулација је један од савремених приступа формулацији фармацеутских препарата којим се може значајно утицати на стабилност, безбедност, терапијску ефикасност и постизање контролисаног ослобађања активних супстанци (1,2). Микрочестице као носачи активних фармацеутских супстанци најчешће се састоје од једног или комбинације више полимера синтетског или природног порекла (3). Природни полимери све више добијају предност над синтетским јер обезбеђују одрживост у развоју лекова (енгл. *sustainable drug development*), због доступности у великим количинама из обновљивих извора, биокомпатибилности и биоразградивости (4). Приликом формулисања микрочестица на бази полимера врло често се прибегава њиховом комбиновању како би се превазишли недостаци употребе појединачних полимера. Пажњу истраживача привлачи приступ који се базира на формирању ПЕК-ова који се доминантно заснивају на јонским интеракцијама између полимера, због једноставности припреме и избегавања употребе потенцијално токсичних реагенаса (5). Најчешће се као катјонска компонента ПЕК-ова користи хитозан, као природни, биокомпатибилни и биоразградиви полимер (6). До сада су испитивани различити природни полимери као ањонске компоненте ПЕК-ова, а један од најперспективнијих је ксантан гума (7). Иако се неколико истраживачких група бавило развојем носача активних супстанци на бази ПЕК-ова хитозана и ксантан гуме (7,8), бројни аспекти њихове припреме и употребе остали су недовољно разјашњени.

У **првој фази** ове докторске дисертације мерењем трансмитанце је показано да се хитозан најбоље раствара у присуству сирћетне киселине при pH у опсегу 3,6 – 4,6. Наведено запажање је у сагласности са литературним подацима да се хитозан боље

раствара у растворима органских киселина у поређењу са растворима неорганских киселина (9). Праћењем формирања плацебо ПЕК-ова између хитозана и ксантан гуме при масеном односу полимера 1:1 потврђено је да се комплексирање ова два полимера успешно одвија мешањем раствора у којима је концентрација оба полимера 0,65% (7). У овој докторској дисертацији је први пут систематично размотрен комбиновани утицај pH и врсте средства за подешавање pH на екстензивност међумолекулских интеракција између хитозана и ксантан гуме у ПЕК-овима. Мерењем трансмитанце и привидног вискозитета, у склопу реолошке карактеризације, утврђено је да су најекстензивније интеракције између хитозана и ксантан гуме биле у ПЕК-овима припремљеним са сирћетном киселином и при pH раствора хитозана 3,6 и 4,6, када је најбоља растворљивост хитозана. У литератури се наводи да се највеће вредности привидних вискозитета повезују са најекстензивнијим интеракцијама у систему (10). Анализом $FT-IR$ спектра плацебо микрочестица показано је да су између хитозана и ксантан гуме успостављене искључиво нековалентне интеракције, а пошто је познато да је интензитет пикова на спектрима у негативној корелацији са интензитетом интеракција у систему (8), показано је да је највећи степен интеракција између хитозана и ксантан гуме у ПЕК-овима припремљеним у присуству сирћетне киселине при pH 3,6 или 4,6 одржан и у сувом стању, након добијања микрочестица. Доказане разлике у обиму интеракција између хитозана и ксантан гуме у ПЕК-овима припремљеним при различитим pH и коришћењем различитих средстава за подешавање pH утицале су на брзину рехидратације од њих добијених плацебо микрочестица, као и на кинетику ослобађања ибупрофена из физичких смеша са овим микрочестицама у фосфатном пуферу pH 7,2. У ранијим истраживањима се такође наводи да су рехидратација и капацитет бубрења носача на бази ПЕК-ова хитозан/ксантан гума у фосфатном пуферу pH 7,2 засновани на одбијању негативно наелектрисаних ланаца ксантан гуме и да најспорије рехидратишу они са најекстензивнијим интеракцијама између полимера (11). Поред тога, са порастом иницијалне pH раствора хитозана (од 3,6 до 5,6) долазило је до повећања утицаја добијених плацебо микрочестица на брзину ослобађања ибупрофена из физичких смеша и закључено је да се микрочестице на бази ПЕК-ова припремљених са растворима хитозана pH 4,6 и 5,6, која је подешена сирћетном киселином, могу сматрати оптималним за постизање продуженог ослобађања ибупрофена.

Резултати **друге фазе** истраживања обухватају измерене вредности трансмитанце, електричне проводљивости и реолошких параметара, на основу којих је показано да се ПЕК-ови хитозан/ксантан гума при масеном односу полимера 1:1 могу формирати и у присуству ибупрофена, при чему је масени однос ибупрофена и укупног садржаја полимера износио 1:1. Највеће вредности привидног вискозитета ПЕК-ова припремљених под различитим условима (pH раствора хитозана 4,6 или 5,6 и додавање ибупрофена током или након комплексирања полимера) измерене су када је ибупрофен додаван током формирања комплекса и коришћењем раствора хитозана pH 4,6. Веће вредности привидних вискозитета могу бити повезане са екстензивнијим интеракцијама, што доводи до формирања система са боље организованом структуром (10). Зато су се као оптимални услови припреме ПЕК-ова са ибупрофеном издвојили pH раствора хитозана 4,6 (подешена сирћетном киселином) и додавање ибупрофена током формирања комплекса. Садржај резидуалне влаге у микрочестицама са ибупрофеном био је мањи у поређењу са садржајем влаге у плацебо микрочестицама испитаним у првој фази, на основу чега је закључено да инкорпорирање активне супстанце у ПЕК-ове може бити погодно са аспекта микробиолошке стабилности (12). Анализом $FT-IR$ спектра микрочестица са ибупрофеном доказано је учешће ове модел

активне супстанце у успостављању јонских интеракција у ПЕК-овима, јер се у литератури може наћи потврда да јонске интеракције у систему резултују померањем таласних бројева ка већим вредностима у поређењу са чистом супстанцом (13). Пошто је интензитет пикова на спектрима у негативној корелацији са интензитетом интеракција у систему (8), потврђене су најекстензивније интеракције у микрочестицама на бази ПЕК-а припремљеног са раствором хитозана pH 4,6 додавањем ибупрофена током његовог формирања. *PXRD* дифрактограм чистог ибупрофена потврдио је кристалну структуру ове активне супстанце, а добијене 2θ вредности биле су у сагласности са резултатима других истраживачких група (14,15). Дифрактограми микрочестица са ибупрофеном показали су пикове на сличним вредностима 2θ , што је објашњено инкорпорирањем кристалног облика активне супстанце. Ипак, интензитети пикова на дифрактограмима микрочестица са ибупрофеном били су значајно мањи у поређењу са чистим ибупрофеном, што је објашњено делимичним нарушавањем кристалне решетке ибупрофена услед успостављања интеракција са хитозаном и ксантан гумом. И друге истраживачке групе повезују смањење интензитета пикова са нарушавањем кристалне решетке ибупрофена (14). Ослобађање микроинкапсулираног ибупрофена било је продужено током 12 h и пратило је *Korsmeyer-Peppas*-ов модел, који је према литературним наводима типичан за носаче на бази полимера са високом способношћу бубрења (16). Поред тога, вредности дифузионих експонената за *Korsmeyer-Peppas*-ов модел (n) биле су близу 1 што је значило да се ослобађање ибупрофена из микрочестица може објаснити кинетиком нултог реда са великим степеном поузданости (17). Због тога је количина ибупрофена ослобађана из свих микрочестица у јединици времена скоро константна. На основу вредности коефицијента детерминације (R^2) за нулти ред закључено је да је најбоља контрола ослобађања ибупрофена постигнута из микрочестица на бази ПЕК-а припремљеног са раствором хитозана pH 4,6 додавањем активне супстанце у току формирања комплекса. У наставку друге фазе испитана је могућност формирања плацебо ПЕК-ова и ПЕК-ова са ибупрофеном при масеним односима хитозан/ксантан гума 1:2 и 1:3. На основу резултата реолошких мерења и става да је већи привидни вискозитет повезан са екстензивнијим интеракцијама у систему (8), показано је да масени однос хитозан/ксантан гума 1:2 резултује већим степеном међумолекулских интеракција у поређењу са односом 1:3. Смањење привидног вискозитета при односу 1:3 приписано је екстензивнијим нејонским интеракцијама између самих молекула ксантан гуме и смањењу броја молекула доступних за ступање у јонске интеракције са хитозаном. Узимајући у обзир чињеницу да су јонске интеракције јаче у односу на нејонске (18), које су се у већој мери јављале само при односу 1:3, већи привидни вискозитет измерен за ПЕК-ове при масеном односу полимера 1:2 у поређењу са односом 1:3 био је очекиван. Изглед *FT-IR* спектра потврђује слабење међумолекулских интеракција у ПЕК-овима са повећањем масеног удела ксантан гуме и у сувом стању. Слабијим и мање обимним интеракцијама при масеном односу 1:3 објашњена је нешто већа количина ослобођеног ибупрофена из микрочестица са наведеним односом полимера (око 70%) у поређењу са микрочестицама где је однос полимера 1:2 (око 60%). Поред тога, n вредности близу 1 у *Korsmeyer-Peppas*-овом моделу потврдиле су да се ослобађање ибупрофена из оба типа микрочестица може објаснити кинетиком нултог реда са високим степеном поузданости (17), а вредности R^2 указују да се боља контрола ослобађања постиже при масеном односу полимера 1:2. У наставку друге фазе показано је да се ПЕК-ови хитозан/ксантан гума могу формирати при различитим масеним односима есцина, хидросолубилне модел активне супстанце (19) и укупног садржаја полимера (1:1, 1:2 и 1:4). Примећена је блага тенденција повећања привидног вискозитета са повећањем удела есцина у ПЕК-у.

Ceschan и сарадници наводе да повећање вискозитета може бити последица већег садржаја чврстих састојака (честица) у узорку (20). Овим је образложен најбољи принос, ефикасност инкорпорирања есцина и највећи обим интеракција (показан анализом *FT-IR* спектра) у микрочестицама са масеним односом есцин/полимери 1:1. Примећен је значајан утицај *pH* медијума на рехидратацију свих испитиваних микрочестица на бази ПЕК-ова хитозан/ксантан гума добијених сушењем ПЕК-ова под амбијенталним условима. Бржа и потпунија рехидратација уочена је при *pH* 7,4 у поређењу са *pH* 1,2, што је објашњено вишком полианјона ксантан гуме у структури ПЕК-ова од којих су микрочестице добијене (масени однос хитозан/ксантан гума 1:2). Слична запажања имали су *Malik* и сарадници за хидрогелове на бази ПЕК-ова ова два полимера као потенцијалне носаче ацикловира (21). Резултати испитивања *pH*-зависног ослобађања су показали да се знатно мања количина микроинкапсулираног ибупрофена ослобађа у медијуму *pH* 1,2 током 3 *h* (1,70%) у поређењу са медијумом *pH* 7,4 у којем се током наредних 9 *h* ослобађа 26,06% ибупрофена. Ово је од посебног значаја због доказаног иритационог потенцијала перорално примењеног ибупрофена на слuzницу желуца (22). Микроинкапсулацијом ибупрофена потенцијално се може постићи његово ослобађање у танком цреву, што би могло смањити иритацију желуца. Есцин такође може да доведе до иритације слuzокоже и успореног пражњења желуца након пероралне примене (23), и пожељно је инкорпорирати га у носаче који би обезбедили његово *pH*-зависно ослобађање у цревима (24). За испитиване микрочестице *pH*-зависно ослобађање микроинкапсулираног есцина било је најизраженије за масени однос есцин/полимери 1:1 (4,30% активне супстанце ослобођено при *pH* 1,2 после 3 *h*, а преосталих 37,93% при *pH* 7,4 током наредних 9 *h*), па су сматране најперспективнијим носачем за постизање *pH*-зависног ослобађања есцина након пероралне примене. У последњем делу друге фазе истраживања показано је да се микрочестице на бази ПЕК-ова хитозан/ксантан гума као носачи ибупрофена и есцина могу добити сушењем ових ПЕК-ова распршивањем. Ипак, због релативно јаких међумолекулских интеракција у ПЕК-овима који су сушени добијени су ниски приноси, ефикасност инкорпорирања и садржај активних супстанци у њима. Како наводе *Sosnik* и *Seremeta* (25), принос код сушења распршивањем под лабораторијским условима није висок. Они наводе и да је највећи вискозитет узорка који обезбеђује задовољавајуће приносе након сушења распршивањем 300 mPa·s, а ПЕК-ови припремани у овом истраживању имали су веће привидне вискозитете. Поређењем *FT-IR* спектра утврђено је да су интензитети карактеристичних пикова микрочестица добијених сушењем распршивањем били већи у поређењу са оним код микрочестица добијених сушењем под амбијенталним условима, што потврђује слабије међумолекулске интеракције (8,13), па је закључено да се интегритет ПЕК-ова делимично нарушава током припреме за сушење и током самог процеса сушења распршивањем. Проценом способности *pH*-зависне рехидратације микрочестица добијених сушењем распршивањем претпостављено је да оне имају значајно мањи потенцијал за постизање *pH*-зависног ослобађања у односу на микрочестице добијене сушењем под амбијенталним условима. У случају ибупрофена показано је да се његовим инкорпорирањем у микрочестице добијене обема методама сушења може постићи *pH*-зависно ослобађање, што је важно са аспекта безбедности примене (22). Ипак, предност се може дати микрочестицама добијеним сушењем под амбијенталним условима, због знатно већег приноса, ефикасности инкорпорирања и садржаја ибупрофена. Сушењем распршивањем нису добијене микрочестице са есцином које омогућују његово *pH*-зависно ослобађање, што може бити неповољно са аспекта подношљивости након пероралне примене (23,24). Микрочестице са ибупрофеном,

односно есцином, добијене сушењем под амбијенталним условима су укључене у *in vivo* студију.

У оквиру **треће фазе** показано је да се микроинкапсулацијом ибупрофена постиже повећање C_{max} након пероралне примене микрочестица у поређењу са суспензијом ибупрофена. T_{max} није се значајно разликовало између ове две групе. Показано је и да се микроинкапсулацијом ибупрофена постиже статистички значајно продужење $t_{1/2}$ у односу на интравенску примену раствора ибупрофена, што није уочено након пероралне примене суспензије ибупрофена. Апсолутна биолошка расположивост ибупрофена није се значајно разликовала након интравенске примене раствора ове активне супстанце и пероралне примене суспензије и микрочестица са ибупрофеном, што указује на готово потпуну ресорпцију ибупрофена и у складу је са литературним наводима да се након пероралне примене различитих формулација ибупрофена може постићи апсолутна биолошка расположивост (26). *Yang* и сарадници (27) показали су да се веће вредности C_{max} , а мање T_{max} могу очекивати након пероралне примене формулација са продуженим ослобађањем ибупрофена. У случају есцина T_{max} било је значајно смањено након примене микрочестица у поређењу са чистом супстанцом, док је за C_{max} уочено статистички значајно повећање. Узимајући у обзир литературне наводе да есцин успорава пражњење желуца (23), може се закључити да се његовим инкорпорирањем у микрочестице може ограничити овај ефекат. Показано је и повећање биолошке расположивости перорално примењеног микроинкапсулираног есцина у односу на раствор есцина. До сада није испитиван утицај инкорпорирања есцина у различите носаче на биолошку расположивост након пероралне примене, али се наводи да перорална примена чистог есцина резултује ниском биорасположивошћу (24). *Wu* и сарадници (28–30) су пријавили знатно мању биолошку расположивост појединачних изомера есцина у односу на биорасположивост микроинкапсулираног есцина у утврђену у овом истраживању. Они су уочили и да се пероралном применом смеше изомера есцина постиже већа укупна биолошка расположивост, што иде у прилог резултатима ове студије, јер је комерцијално доступни есцин коришћен у овом истраживању смеша више изомера (19). На бољу биолошку расположивост може утицати аморфни карактер микроинкапсулираног есцина, јер кристална форма има јако ниску биолошку расположивост (24). Објављене су студије које наводе да ПЕК-ови на бази хитозана могу побољшати биолошку расположивост различитих активних супстанци (31). Процентом антиедематозног и антиноцицептивног ефекта у овој дисертацији показано је да микроинкапсулирани есцин боље ефекте остварује када је доза активне супстанце 10 mg/kg у поређењу са 20 mg/kg , што је повезано са успореним желудачним пражњењем при већој дози активне супстанце и последично смањеном апсорпцијом (32).

Генерално гледано, део резултата докторске дисертације маг. фарм. Ане Ђурић у сагласности је са подацима из литературе. То се пре свега односи на опште резултате и запажања који се односе на ПЕК-ове као носаче активних фармацеутских супстанци, као и на ибупрофен и есцин као модел активне супстанце. С обзиром на то да су у овој докторској дисертацији први пут разматрани ПЕК-ови хитозана и ксантан гуме као потенцијални носачи за пероралну примену ибупрофена и есцина, већина резултата и специфичних запажања није могла бити проверена у доступним литературним изворима и сматра се оригиналним доприносом истраживачког рада кандидата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lam PL, Gambari R. Advanced progress of microencapsulation technologies: In vivo and in vitro models for studying oral and transdermal drug deliveries. *J Control Release*. 2014;178(1):25–45.
2. Suganya V, Anuradha V. Microencapsulation and Nanoencapsulation: A Review. *Int J Pharm Clin Res*. 2017;9(3):233–9.
3. Sousa VI, Parente JF, Marques JF, Forte MA, Tavares CJ. Microencapsulation of Essential Oils: A Review. *Polymers (Basel)*. 2022;14(9):1730.
4. Ngwuluka NC, Ochekepe NA, Aruoma OI. Naturapolyceutics: The science of utilizing natural polymers for drug delivery. *Polymers (Basel)*. 2014;6(5):1312–32.
5. De Robertis S, Bonferoni MC, Elviri L, Sandri G, Caramella C, Bettini R. Advances in oral controlled drug delivery: The role of drug-polymer and interpolymer non-covalent interactions. *Expert Opin Drug Deliv*. 2015;12(3):441–53.
6. Ishihara M, Kishimoto S, Nakamura S, Sato Y, Hattori H. Polyelectrolyte complexes of natural polymers and their biomedical applications. *Polymers (Basel)*. 2019 Apr 1;11(4):672.
7. Caddeo C, Nacher A, Díez-Sales O, Merino-Sanjuán M, Fadda AM, Manconi M. Chitosan-xanthan gum microparticle-based oral tablet for colon-targeted and sustained delivery of quercetin. *J Microencapsul*. 2014;31(7):694–9.
8. Dehghan MHG, Kazi M. Lyophilized chitosan/xanthan polyelectrolyte complex based mucoadhesive inserts for nasal delivery of promethazine hydrochloride. *Iran J Pharm Res*. 2014;13(3):769–84.
9. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME, editors. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 6th ed. London: Pharmaceutical Press; 2009. 1–888 p.
10. Wang L, Liu HM, Zhu CY, Xie AJ, Ma BJ, Zhang PZ. Chinese quince seed gum: Flow behaviour, thixotropy and viscoelasticity. *Carbohydr Polym*. 2019;209(2019):230–8.
11. Maciel DJ, Ferreira IL de M. Properties evaluation of polyelectrolyte complex based on iota carrageenan and chitosan in acidic and basic media. *Mater Lett*. 2018;229:142–7.
12. Gichau AW, Okoth JK, Makokha A. Moisture sorption isotherm and shelf life prediction of complementary food based on amaranth–sorghum grains. *J Food Sci Technol*. 2020;57(3):962–70.
13. Hussain A, Smith G, Khan KA, Bukhari NI, Pedge NI, Ermolina I. Solubility and dissolution rate enhancement of ibuprofen by co-milling with polymeric excipients. *Eur J Pharm Sci*. 2018;123:395–403.
14. Wikarsa S, Durand D, Delarbre JL, Baylac G, Bataille B. The improvement of ibuprofen dissolution rate through microparticles spray drying processed in an aqueous system. *Drug Dev Ind Pharm*. 2008;34(5):485–91.
15. Ray R, Maity S, Mandal S, Chatterjee TK, Biswanath S. Studies on the Release of Ibuprofen from Al³⁺ Ion Cross-Linked Homopolymeric and Interpenetrating Network Hydrogel Beads of Carboxymethyl Xanthan and Sodium Alginate. *Adv Polym Technol*. 2011;30(1):1–11.

16. Salome AC, Godswill CO, Ikechukwu IO. Kinetics and mechanisms of drug release from swellable and non swellable matrices: A review. *Res J Pharm Biol Chem Sci*. 2013;4(2):97–103.
17. Unagolla JM, Jayasuriya AC. Drug transport mechanisms and in vitro release kinetics of vancomycin encapsulated chitosan-alginate polyelectrolyte microparticles as a controlled drug delivery system. *Eur J Pharm Sci*. 2018 Mar 1;114:199–209.
18. Steiner T. The Hydrogen Bond in the Solid State. *Angew Chemie Int Ed*. 2002;41(1):48–76.
19. Доступно на: <https://echa.europa.eu/bg/registration-dossier/-/registered-dossier/22370>, приступљено 25. 3. 2024.
20. Ceschan NE, Bucalá V, Ramírez-Rigo MV. Polymeric microparticles containing indomethacin for inhalatory administration. *Powder Technol*. 2015;285:51–61.
21. Malik NS, Ahmad M, Minhas MU, Tulain R, Barkat K, Khalid I, et al. Chitosan/Xanthan Gum Based Hydrogels as Potential Carrier for an Antiviral Drug: Fabrication, Characterization, and Safety Evaluation. *Front Chem*. 2020;8:1–16.
22. Irvine J, Afrose A, Islam N. Formulation and delivery strategies of ibuprofen: challenges and opportunities. *Drug Dev Ind Pharm*. 2018;44(2):173–83.
23. Petrović S, Maksimović Z, Kukić-Marković J. Primena biljnih lekovitih proizvoda kod hronične venske bolesti. *Arh Farm (Belgr)*. 2013;63:233–47.
24. Gallelli L. Escin: A review of its anti-edematous, antiinflammatory, and venotonic properties. *Drug Des Devel Ther*. 2019;13:3425–37.
25. Sosnik A, Seremeta KP. Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers. *Adv Colloid Interface Sci*. 2015;223:40–54.
26. Potthast H, Dressman JB, Junginger HE, Midha KK, Oeser H, Shah VP, et al. Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: Ibuprofen. *J Pharm Sci*. 2005;94(10):2121–31.
27. Yang Z, Hu Y, Tang G, Dong M, Liu Q, Lin X. Development of ibuprofen dry suspensions by hot melt extrusion: Characterization, physical stability and pharmacokinetic studies. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2019;54:101313.
28. Wu X-J, Zhang M-L, Cui X-Y, Gao F, He Q, Li X-J, et al. Comparative pharmacokinetics and bioavailability of escin Ia and isoescin Ia after administration of escin and of pure escin Ia and isoescin Ia in rat. *J Ethnopharmacol*. 2012;139:201–6.
29. Wu XJ, Zhang ML, Cui XY, Paul Fawcett J, Gu JK. Comparative pharmacokinetics and the bioavailability of escin Ib and isoescin Ib following the administration of escin, pure escin Ib and isoescin Ib in rats. *J Ethnopharmacol*. 2014;151:839–45.
30. Wu X-J, Cui XY, Tian L-T, Gao F, Guan X, Gu J-K. Pharmacokinetics of escin Ia in rats after intravenous administration. *J Ethnopharmacol*. 2014;156:125–9.
31. Layek B, Das S, Paul S. Chitosan-based polyelectrolyte complexes in biomedical applications. In: *Tailor-Made and Functionalized Biopolymer Systems*. 2021. p. 115–54.
32. Yang Y, Wang L, Yuan M, Yu Q, Fu F. Anti-Inflammatory and Gastroprotective Effects of Escin. *Nat Prod Commun*. 2020;15(12):1–10.

4. ОБЈАВЉЕНИ И САОПШТЕНИ РЕЗУЛТАТИ КОЈИ ЧИНЕ ДЕО ДИСЕРТАЦИЈЕ

Поглавље у књизи међународног значаја (M14)

1. Djekić Lj, Ćirić A. 2022. Micro- and Nanoscale Drug Delivery Systems Based on Xanthan Gum Hydrogels. In: Jana S, Jana S (Editors) Micro and Nano Engineered Gum-Based Biomaterials for Drug Delivery and Biomedical Applications, 1st edition. New York/Amsterdam: Elsevier; p. 35–76. (ISBN: 9780323909860)

Радови објављени у међународним часописима изузетних вредности (M21a):

1. Ćirić A, Milinković Budinčić J, Medarević Đ, Dobričić V, Rmandić M, Barudžija T, Malenović A, Petrović L, Djekić Lj. 2022. Evaluation of chitosan/xanthan gum polyelectrolyte complexes potential for pH-dependent oral delivery of escin. International Journal of Biological Macromolecules, 221, 48–60. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.08.190 **IF 2022 = 8,2; Polymer Science (5/86) M21a**

2. Ćirić A, Medarević Đ, Čalija B, Dobričić V, Rmandić M, Barudžija T, Malenović A, Djekić L. 2021. Effect of ibuprofen entrapment procedure on physicochemical and controlled drug release performances of chitosan/xanthan gum polyelectrolyte complexes. International Journal of Biological Macromolecules, 167, 547–558. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.11.201 **IF 2021 = 8,025; Polymer Science (6/90) M21a**

3. Ćirić A, Medarević Đ, Čalija B, Dobričić V, Mitrić M, Djekić L. 2020. Study of chitosan/xanthan gum polyelectrolyte complexes formation, solid state and influence on ibuprofen release kinetics. International Journal of Biological Macromolecules, 148, 942–955. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.01.138 **IF 2020 = 6,953; Polymer Science (6/91) M21a**

Радови објављени у врхунским часописима националног значаја (M51):

1. Ćirić A, Milinković Budinčić J, Medarević Đ, Dobričić V, Rmandić M, Barudžija T, Malenović A, Petrović L, Đekić Lj. 2022. Influence of spray-drying process on properties of chitosan/xanthan gum polyelectrolyte complexes as carriers for oral delivery of ibuprofen/Uticaj postupka sušenja raspršivanjem na svojstva polielektrolitnih kompleksa hitozana i ksantan gume kao nosača za peroralnu isporuku ibuprofena. Arhiv za farmaciju, 72(1), 36–60. doi: 10.5937/arhfarm72-35133

2. Đekić Lj, Ćirić A. 2022. Modeling of *in vitro* drug release from polymeric microparticle carriers/Matematičko modelovanje *in vitro* oslobađanja lekovitih supstanci iz nosača tipa polimernih mikročestica. Arhiv za farmaciju, 72, 591–620. doi: 10.5937/arhfarm72-40229

3. Ćirić A, Krajišnik D, Čalija B, Đekić Lj. 2020. Biocompatible non-covalent complexes of chitosan and different polymers: characteristics and application in drug delivery/Biokompatibilni nekovalentni kompleksi hitozana sa različitim polimerima: svojstva i primena kao nosača lekovitih supstanci. Arhiv za farmaciju 70(4), 173-197. doi: 10.5937/arhfarm2004173q

Саопштења са међународних скупова штампана у целини (M33):

1. Ćirić A, Đekić L. 2023. The influence of preparation conditions on the formation and extent of interactions in chitosan/xanthan gum polyelectrolyte complexes as potential drug

delivery carriers. Macedonian Pharmaceutical Bulletin, 69(Suppl 1) pp. 51–52. 14th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology, Ohrid, North Macedonia, 28–30 September 2023. doi: 10.33320/maced.pharm.bull.2023.69.03.025 (S1–PP–15)

2. Ćirić A, Đekić L. 2020. Characterization of chitosan/xanthan gum polyelectrolyte complexes as carriers for ibuprofen: influence of drug encapsulation procedure on complex formation. Macedonian Pharmaceutical Bulletin, 66(Suppl 1) pp. 103–4. 7th Congress of Pharmacy in North Macedonia with International participation, Ohrid, North Macedonia. doi: 10.33320/maced.pharm.bull.2020.66.03.051

Саопштења са међународних скупова штампана у изводу (M34):

1. Ćirić A, Milinković Budinčić J, Petrović L, Đekić Lj. 2022. Characterization of escin-loaded chitosan/xanthan-based polyelectrolyte complexes for pH-driven oral drug delivery. 2nd International Conference on Advanced Production and Processing (ICAPP 2022), Novi Sad, Serbia, 20–22 October 2022. (NP–P5).

2. Ćirić A, Milinković Budinčić J, Petrović L, Đekić Lj. 2022. Interactions in escin-loaded chitosan/xanthan-based polyelectrolyte complexes: evaluation of drug content and drying method impact. 2nd International Conference on Advanced Production and Processing (ICAPP 2022), Novi Sad, Serbia, 20–22 October 2022. (NP–P24).

3. Ćirić A, Mitrić M, Dobričić V, Đekić Lj. 2019. Influence of drying method on chitosan/xanthan polyelectrolyte complex characteristics. 1st International Conference on Advanced Production and Processing (ICAPP 2019), Novi Sad, Serbia, 10–11 October 2019. (NP–P7)

4. Ćirić A, Đekić Lj. 2019. *In vitro* characterization of rehydration process and dissolution of ibuprofen from chitosan/xanthan polyelectrolyte complex based drug delivery systems. 1st International Conference on Advanced Production and Processing (ICAPP 2019), Novi Sad, Serbia, 10–11 October 2019. (NP–P8)

5. Ćirić A, Đekić Lj. 2019. Razvoj nosača tipa polielektrolitnih kompleksa hitozan/ksantan: karakterizacija procesa rehidracije *in vitro*/Development of drug delivery systems based on chitosan/xanthan polyelectrolyte complexes: *in vitro* characterization of rehydration process. 3rd Congress of Pharmacists of Montenegro with international Participation, Budva, Montenegro, 9–12 May 2019. (Oral presentation)

Саопштења са скупова националног значаја штампана у изводу (M64):

1. Ćirić A, Đekić Lj. 2022. Fizičko-hemijska karakterizacija formiranja polielektrolitnih kompleksa hitozan/ksantan guma kao nosača ibuprofena/Physicochemical characterization of the formation of chitosan/xanthan gum-based polyelectrolyte complexes as ibuprofen carriers. Arhiv za farmaciju 72(4) Suplement, 239–240. VIII Kongres farmaceuta Srbije sa međunarodnim učešćem, Beograd, Srbija, 12–15. oktobar 2022. (YOP 17).

2. Ćirić A, Đekić Lj. 2018. Ispitivanje uticaja hidrogela tipa polielektrolitnog kompleksa hitozan/ksantan na *in vitro* kinetiku oslobađanja ibuprofena/Investigation of the influence of polyelectrolyte complex chitosan/xanthan hydrogels on the *in vitro* release kinetics of ibuprofen. Arhiv za farmaciju, 68(3) Suplement, 613–614. VII Kongres farmaceuta Srbije sa međunarodnim učešćem, Beograd, Srbija, 10–14. oktobar 2018. (FTK–P27)

5. ЗАКЉУЧАК – ОБРАЗЛОЖЕЊЕ НАУЧНОГ ДОПРИНОСА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

Највећим научним доприносом ове докторске дисертације може се сматрати детаљна и систематична анализа утицаја услова припреме микрочестица на бази ПЕК-ова хитозан/ксантан гума на њихова својства као потенцијалних носача ибупрофена и есцина, модел активних супстанци различитих биофармацеутских карактеристика, као и процена утицаја микроинкапсулације ових активних супстанци на биолошку расположивост након пероралне примене и постизање одговарајућих фармаколошких ефеката, уз добијање нешкодљивих носача. Ово је од посебне важности због препознате одрживе и еколошки прихватљиве производње хитозана и ксантан гуме као основних градивних компонената ПЕК-ова који се израђују под благим реакционим условима, без штетног утицаја на животну средину. Резултати приказани у овој дисертацији говоре у прилог нешкодљивости микрочестица на бази ПЕК-ова као потенцијалних носача активних супстанци који би тек требало да нађу своје место у формулацији различитих фармацеутских облика за пероралну примену.

6. ПРОВЕРА ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

На основу извештаја о провери оригиналности докторске дисертације коришћењем програма *iThenticate* регистровано подударање текста износи 11%. Овај степен подударности последица је претходно публикованих резултата истраживања докторанда, цитата, личних имена, општих места и података, што је у складу са чланом 9. Правилника.

На основу свега изнетог, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, изјављујемо да извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

18. априла 2024. године

Ментор:

Др сц. Љиљана Ђекић, редовни професор
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет

7. ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ ЗА ОЦЕНУ ЗАВРШЕНЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

На основу изложеног, Комисија закључује да докторска дисертација кандидаткиње маг. фарм. Ане Ћирић, чија је израда одобрена на седници Већа научних области медицинских наука Универзитета у Београду (Одлука бр. 61206-1292/4-21 од 1. 6. 2021. године), задовољава критеријуме оригиналног научног дела. Кандидаткиња је успешно реализовала постављене циљеве истраживања, а резултати приказани у овој докторској дисертацији представљају оригинално и самостално научно дело са значајним научним доприносом у области фармацеутске технологије. Резултати докторске дисертације су објављени у: једном поглављу у књизи међународног значаја (M14), три рада у међународним часописима изузетних вредности (M21a), три рада у врхунским часописима националног значаја (M51), као и у оквиру два саопштења са међународних скупова штампана у целини (M33), пет саопштења са међународних скупова штампаних у изводу (M34) и два саопштења са скупова националног значаја штампана у изводу (M64).

Комисија у наведеном саставу позитивно оцењује докторску дисертацију маг. фарм. Ане Ћирић под називом **„Развој микрочестица на бази полиелектролитних комплекса хитозана и ксантан гуме као потенцијалних носача са продуженим ослобађањем за пероралну примену ибупрофена и есцина“** и предлаже Наставно-научном већу Фармацеутског факултета, Универзитета у Београду да прихвати овај Извештај о израђеној докторској дисертацији и упути га Већу научних области медицинских наука ради добијања сагласности за јавну одбрану докторске дисертације.

Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације

Др сц. Јелена Ђуриш, редовни професор
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет

Др сц. Ђорђе Медаревић, виши научни сарадник
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет

Др сц. Лидија Петровић, редовни професор
Универзитет у Новом Саду – Технолошки факултет Нови Сад

Др сц. Александар Рашковић, редовни професор
Универзитет у Новом Саду – Медицински факултет Нови Сад

Др сц. Теодора Јанковић, научни саветник
Институт за проучавање лековитог биља „Др Јосиф Панчић“