

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ФАКУЛТЕТ ЗА ФИЗИЧКУ ХЕМИЈУ
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

На IX редовној седници Наставно-научног већа Факултета за физичку хемију одржаној 13.07.2026. године именовани смо за чланове Комисије за преглед и оцену докторске дисертације кандидата Небојше Мандић-Ковачевић, мастер физикохемичара, под насловом: **„Хеометријски приступ развоју еколошки прихватљиве хроматографске методе за анализу и испитивање кинетике и термодинамике деградације периндоприла, амлодипина и индапамида“**

Одлуком Наставно-научног већа Факултета за физичку хемију Универзитета у Београду, са VIII редовне седнице од 12.06.2026. године одобрена је израда докторске дисертације под наведеним насловом. На основу те одлуке, Веће научних области природних наука Универзитета у Београду је на седници одржаној 25.06.2026. године дало сагласност да се прихвати предложена тема докторске дисертације.

Након прегледа и анализе докторске дисертације кандидата, Наставно-научном већу подносимо следећи

ИЗВЕШТАЈ

А. Приказ садржаја дисертације

Докторска дисертација кандидата Небојше Мандић-Ковачевић написана је на српском језику, на 163 стране А4 формата куцаоног текста, припремљена према упутству за обликовање докторске дисертације Универзитета у Београду (фонт Times New Roman величине 12 pt и проред 1). Дисертација се састоји из следећих 7 поглавља: **Увод** (18 страна), **Циљ и задаци рада** (1 страна), **Материјали и методе** (14 страна), **Резултати и дискусија** (47 страна), **Закључци** (2 стране), **Литература** (96 навода, 7 страна) и **Прилози** (65 страна). Поред наведеног, дисертација садржи и насловне стране на српском и енглеском језику (2 стране), списак ментора и чланова комисије (1 страна), захвалницу (1 страна), сажетке на српском и енглеском језику (2 стране), садржај (3 стране).

У дисертацији је приказано 80 слика и 14 табела, од којих 73 слика и 14 табела представљају оригиналне резултате истраживања кандидата.

У поглављу **Увод** приказан је значај хипертензије као једног од најзначајнијих јавноздравствених проблема савременог доба, уз образложење предности примене комбинација фиксних доза антихипертензивних лекова (АПИ) у савременој терапији. Посебна пажња посвећена је изазовима који прате развој и контролу квалитета ових фармацеутских препарата, са акцентом на развој аналитичких метода способних за истовремено одређивање више активних фармацеутских супстанци и праћење њихове стабилности. Детаљно су размотрени принципи високоефикасне течне хроматографије са обрнутом фазом (RP-HPLC), концепти квалитета по дизајну (QbD и AQbD) и зелене аналитичке хемије, као савремени приступи развоју робусних, поузданих и еколошки прихватљивих аналитичких метода. Поред тога, приказана су физичко-хемијска својства, структурне карактеристике и механизми деградације периндоприл терц-бутиламина (ПЕР), амлодипин бесилата (АМЛ) и индапамида (ИНД), као и досадашња сазнања о њиховом аналитичком одређивању и стабилности, чиме је образложена потреба за развојем нове RP-HPLC методе и свеобухватним испитивањем кинетике и термодинамике деградације ових лекова у појединачним, бинарним и тернарним системима.

У поглављу **Циљ и задаци рада** сумирани су основни и специфични циљеви докторске дисертације, који обухватају развој, оптимизацију и валидацију нове RP-HPLC методе за истовремено одређивање периндоприл терц-бутиламина, амлодипин-бесилата и индапамида у комбинацији фиксних доза, применом концепта аналитичког квалитета по дизајну и принципа зелене аналитичке хемије. Поред тога, дефинисани су циљеви који се односе на испитивање стабилности наведених активних фармацеутских супстанци у различитим условима стреса, одређивање кинетичких и привидних термодинамичких параметара деградације, као и разјашњење утицаја међусобних интеракција лекова на њихову стабилност, ради обезбеђивања научно заснованих смерница за развој, формулацију и контролу квалитета комбинација фиксних доза антихипертензивних лекова.

У поглављу **Материјали и методе** описани су материјали, хемикалије, реагенси, стандарди и инструментална опрема коришћени у истраживању, као и поступци припреме стандардних и испитиваних раствора. Детаљно је приказан развој и оптимизација RP-HPLC методе за истовремено одређивање периндоприл терц-бутиламина, амлодипин-бесилата и индапамида применом принципа аналитичког квалитета по дизајну, укључујући дефинисање аналитичког циљног профила, процену ризика и примену дизајна експеримената у циљу оптимизације критичних параметара методе. Приказан је поступак валидације развијене аналитичке методе у складу са релевантним међународним смерницама, као и методологија процене њене еколошке прихватљивости применом више алата зелене аналитичке хемије. Посебан део поглавља посвећен је испитивању стабилности периндоприл терц-бутиламина, амлодипин-бесилата и индапамида у киселим, базним, неутралним, оксидативним и фотолитичким условима стреса, како појединачно тако и у бинарним и тернарним смешама, као и поступцима кинетичке и привидне термодинамичке анализе деградације применом Аренијусовог и Ејринговог моделовања. На крају поглавља описани су примењени поступци статистичке обраде података и софтверски алати коришћени за анализу и интерпретацију добијених резултата.

У поглављу **Резултати и дискусија** приказани су резултати развоја, оптимизације и валидације нове RP-HPLC методе за истовремено одређивање периндоприл терц-бутиламина, амлодипин-бесилата и индапамида, уз примену принципа аналитичког квалитета по дизајну. Представљени су резултати процене ризика, оптимизације хроматографских услова применом дизајна експеримената, дефинисања простора дизајна и валидације методе, као и резултати процене њене еколошке прихватљивости применом различитих алата зелене аналитичке хемије. У наставку су приказани резултати студија форсиране разградње испитиваних активних фармацеутских супстанци у киселим, базним, неутралним, оксидативним и фотолитичким условима, како појединачно тако и у бинарним, тернарним смешама и комбинацији фиксних доза. Анализирани су кинетички параметри разградње, температурна зависност процеса и привидне термодинамичке функције активације добијене применом Аренијусове и Ејрингове једначине, као и утицај међусобних интеракција активних фармацеутских супстанци на њихову стабилност. Добијени резултати су критички дискутовани и упоређени са доступним литературним подацима, уз физичкохемијско тумачење уочених механизма разградње и њиховог значаја за развој, контролу квалитета и процену стабилности комбинација фиксних доза антихипертензивних лекова.

У поглављу **Закључци** сумирани су најважнији резултати истраживања ове докторске дисертације и истакнути закључци који из њих произилазе.

У поглављу **Литература** дат је преглед најзначајнијих радова из области, распоређених у складу са редоследом њиховог цитирања у тексту докторске дисертације.

У поглављу **Прилози** налазе се кинетички графици коришћени за одређивање реда реакције и константи брзине разградње периндоприл терц-бутиламина, амлодипин бесилата и индапамида појединачно и у бинарним и тернарним смешама под утицајем 1M HCL, 0,001M NaOH, 3% H₂O₂, H₂O и УЉ/ВИД светлости на собној температури и на 45°C и 65°C, те је наведена биографија и библиографија кандидата, као и обрасци прописани упутством Универзитета о обликовању докторске дисертације.

Б. Кратак преглед остварених резултата

Комбиновањем физичко-хемијског испитивања хроматографског понашања са кинетичком и термодинамичком анализом процеса деградације, у овој дисертацији је развијен интегрисани приступ за карактеризацију периндоприл терц-бутиламина, амлодипин бесилата и индапамида, појединачно и у смешама. Одређивањем ретенционих и сепарационих параметара, реда реакције, константи брзине, енергије активације и привидних термодинамичких функција добијена је научно заснована слика о хроматографским својствима, температурној зависности и енергетским захтевима њихове деградације. Принципи квалитета по дизајну и зелене аналитичке хемије примењени су као методолошки оквир за оптимизацију хроматографског система и процену еколошке прихватљивости развијене методе.

Робусна RP-HPLC метода за истовремено одређивање периндоприл терц-бутиламина, амлодипин бесилата и индапамида успешно је развијена коришћењем приступа аналитичког квалитета по дизајну. Примена Експерименталног дизајна омогућила је систематску оптимизацију критичних параметара методе и дефинисање одговарајућег простора дизајна, што је резултирало методом са задовољавајућом селективношћу, линеарношћу, тачношћу, прецизношћу, осетљивошћу и робусношћу. Показало се да је развијена метода погодна за рутинску анализу (квалитативу и квантитативну), као и за детаљну студију стабилности испитиваних лекова и њихових смеша.

Еколошке перформансе аналитичке методе су такође успешно процењене коришћењем неколико комплементарних алата. Резултати су показали да је метода постигла повољан баланс између аналитичких перформанси и еколошке прихватљивости. Резултати су потврдили да се робусна фармацеутска анализа и еколошка одговорност могу истовремено спроводити и да се зелени принципи могу смислено интегрисати у развој аналитичких метода за комбинације фиксних доза.

Студије форсиране деградације показале су да три испитивана АПИ поседују јасно диференциране профиле стабилности. Периндоприл терц-бутиламин је био најосетљивији на алкалну хидролизу, што је у складу са присуством естарске групе склоне хидролизи. Амлодипин бесилат је показао највећу осетљивост на базни и оксидативни стрес, што је у складу са познатом нестабилношћу дихидропиридинског прстенастог система. Индапамид је показао највећу фотосензитивност, потврђујући фотодеградацију као његову доминантну склоност ка деградацији под примењеним условима стреса. Резултати су показали да се стабилност комбинације фиксних доза не може разумети посматрањем три једињења као хемијски еквивалентних, већ је потребна процена доминантних путева деградације специфична за сваку компоненту појединачно, али и у њиховој смеси.

Кинетичка и термодинамичка анализа је пружиља квантитативну карактеризацију процеса деградације кроз одређивање реда реакције, константи брзине деградације, времена полураспада и вредности рока трајања. Резултати су показали да понашање деградације снажно зависи од АПИ, стресног агенса (медијума) и састава испитиване смеше. Док су многи хидролитички и оксидативни процеси пратили кинетику другог реда, понашање нултог реда је константно примењено за фотодеградацију под примењеним условима зрачења. Ови налази су потврдили да један кинетички модел није довољан да опише све путеве разградње и да је понашање разградње у вишекомпонентним системима снажно зависно од услова.

Убрзане (форсиране) студије стабилности на повишеним температурама омогућиле су израчунавање енергија активације и термодинамичких параметара прелазног стања, пружајући дубљи увид у енергетику разградње. Добијени Аренијусови и Ејрингови параметри показали су да су брзине разградње зависи од температуре, али да се величина овог ефекта разликује у зависности од АПИ-а, медијума и састава смеше. Позитивне вредности енталпије активације и Гибсове слободне енергије потврдиле су постојање активационих баријера за

разградњу, док су претежно негативне вредности ентропије указивале на формирање уређенијих прелазних стања у многим испитиваним процесима. Ови налази подржали су механистичко тумачење понашања разградње и ојачали основу за процену стабилности под дефинисаним условима стреса.

Један од најважнијих доприноса ове дисертације било је детаљно истраживање бинарних и тернарних интеракција лекова. Резултати су показали да су ефекти коформулације у великој мери зависни од стресног окружења. Под неким условима, посебно под алкалним стресом и у одабраним оксидативним или фотолитичким системима, бинарне и тернарне смеше показале су стабилизујуће ефекте и смањене брзине разградње. Под другим условима стреса, посебно у киселим и неутралним медијумима, комбинације би уместо тога могле да подстакну дестабилизацију. Ове анализе су показале да се стабилност комбинације фиксних доза не може поуздано предвидети само на основу понашања појединачних активних фармацеутских састојака, већ се она мора проценити у стварном вишекомпонентном систему обухватајући заједнички утицај и АПИ и стрес агенса.

Са практичног аспекта, дисертација пружа користан оквир за рационално дизајнирање формулација комбинација фиксних доза које садрже ове антихипертензивне агенсе. Резултати указују да су контрола рН вредности и управљање температуром посебно важни за системе који садрже периндоприл, да су антиоксидативна заштита и стратегије ограничавања кисеоника релевантне за формулације које садрже амлодипин, и да је паковање које успешно штити од светлости неопходно за производе који садрже индапамид. У ширем смислу, студија показује да стратегије формулације и складиштења за вишекомпонентне производе треба да се заснивају на интегрисаној евалуацији аналитичких перформанси, кинетике разградње, термодинамичког понашања и ефеката интеракције.

Ова докторска дисертација је показала да интеграција развоја метода заснованих на DoE и AQbD (за развој нове робусне методе), GAC принципа (за зелену аналитичку процену) и свеобухватних студија стабилности, пружа снажну научну основу за успешан развој једне брзе, квалитетне и поуздане, еколошки прихватљиве методе за фармацеутску анализу АМЛ, ПЕР и ИНД у готовом производу као фиксној комбинацији. Резултати доприносе бољем разумевању стабилности вишекомпонентних лекова и пружају практичне смернице за будући развој формулација, фармацеутску анализу и оптимизацију складиштења сложених фармацеутских производа.

В. Упоредна анализа резултата кандидата са резултатима из литературе

У овом поглављу извршена је упоредна анализа резултата добијених у оквиру ове докторске дисертације са релевантним подацима из литературе који се односе на развој и валидацију RP-HPLC метода за анализу комбинација фиксних доза антихипертензивних лекова, примену концепта аналитичког квалитета по дизајну и принципа зелене аналитичке хемије, као и на испитивање кинетике и термодинамике деградације периндоприл терц-бутиламина, амлодипин-бесилата и индапамида. Посебан акценат стављен је на поређење добијених хроматографских карактеристика, параметара валидације, еколошке прихватљивости аналитичке методе и физикохемијских параметара који описују процесе деградације испитиваних активних фармацеутских супстанци.

Поређење са литературним подацима показало је да развијена RP-HPLC метода обезбеђује аналитичке перформансе које су упоредиве или боље у односу на раније објављене методе за анализу комбинација ових лекова, уз краће време анализе, задовољавајућу селективност, осетљивост, тачност, прецизност и робусност [1–4]. Истовремено, примена аналитичког квалитета по дизајну омогућила је систематско дефинисање критичних параметара методе, успостављање простора дизајна и добијање поузданог и репродуктивног аналитичког поступка, што представља значајан напредак у односу на већину раније публикованих приступа [5,6].

Поређење резултата процене еколошке прихватљивости показало је да предложена метода има повољнији зелени профил у односу на већину доступних RP-HPLC метода за анализу тернарних комбинација антихипертензивних лекова, што је потврђено применом алата NEMI, Analytical Eco-Scale, GAPI и AGP. Постигнуто је смањење потрошње органских раствараča, скраћење времена анализе и смањење укупног утицаја аналитичког поступка на животну средину, без нарушавања аналитичких перформанси методе [7].

Посебан део поглавља посвећен је поређењу резултата студија форсиране деградације са доступним литературним подацима. Анализирани су механизми киселе, базне, неутралне, оксидативне и фотолитичке разградње, као и кинетички и привидни термодинамички параметри добијени применом Аренијусове и Ејрингове једначине. Показано је да су добијени резултати у складу са познатим механизмима деградације појединачних активних фармацеутских супстанци, али да присуство других компонената у бинарним, тернарним смешама и комбинацији фиксних доза значајно утиче на брзину и ток деградационих процеса [8-10].

На основу свеобухватне анализе литературе и поређења са добијеним резултатима може се закључити да предложени интегрисани приступ, који обједињује аналитички квалитет по дизајну, принципе зелене аналитичке хемије и физичкохемијску анализу кинетике и привидних термодинамичких параметара деградације, представља значајан научни допринос у области аналитичке и физичке хемије лекова. Добијени резултати пружају поуздану научну основу за развој, контролу квалитета и процену стабилности комбинација фиксних доза антихипертензивних лекова, као и за даља истраживања њиховог понашања у различитим условима стреса.

Референце

1. El-Bagary, R.I.; Elkady, E.F.; Mowaka, S.; Attallah, M.A. A Validated HPLC Method for Simultaneous Determination of Perindopril Arginine, Amlodipine, and Indapamide: Application in Bulk and in Different Pharmaceutical Dosage Forms. *J. AOAC Int.* **2017**, *100*, 992–999.
2. Patel, K.; Chhalotiya, U.; Kachhiya, H.; Patel, J.; Shah, D.; Nagda, D. Simultaneous Quantification of Perindopril Erbumine, Indapamide and Amlodipine Besylate in Newer Combination of Anti-hypertensive Drugs in Pharmaceutical Dosage Form by Thin Layer Chromatography Method. *Sep. Sci. Plus* **2020**, *3*, 175–184.
3. Patel, K.P.; Chhalotiya, U.K.; Kachhiya, H.M.; Patel, J.K. A New RP-HPLC Method for Simultaneous Quantification of Perindopril Erbumine, Indapamide, and Amlodipine Besylate in Bulk and Pharmaceutical Dosage Form. *Future J. Pharm. Sci.* **2020**, *6*, 80.
4. Saleh, S.S.; Lotfy, H.M.; Tiris, G.; Erk, N.; Rostom, Y. Analytical Tools for Greenness Assessment of Chromatographic Approaches: Application to Pharmaceutical Combinations of Indapamide, Perindopril and Amlodipine. *Microchem. J.* **2020**, *159*, 105557.
5. Verch, T.; Campa, C.; Chéry, C.C.; Frenkel, R.; Graul, T.; Jaya, N.; Nakhle, B.; Springall, J.; Starkey, J.; Wypych, J.; et al. Analytical Quality by Design, Life Cycle Management, and Method Control. *AAPS J.* **2022**, *24*, 34, doi:10.1208/s12248-022-00685-2.
6. Lee, S.-H.; Kim, J.-K.; Jee, J.-P.; Jang, D.-J.; Park, Y.-J.; Kim, J.-E. Quality by Design (QbD) Application for the Pharmaceutical Development Process. *J. Pharm. Investig.* **2022**, *52*, 649–682.
7. Mehta, M.; Mehta, D.; Mashru, R. Recent Application of Green Analytical Chemistry: Eco-Friendly Approaches for Pharmaceutical Analysis. *Future J. Pharm. Sci.* **2024**, *10*, 83, doi:10.1186/s43094-024-00658-6.
8. Blessy, M.; Patel, R.D.; Prajapati, P.N.; Agrawal, Y.K. Development of Forced Degradation and Stability Indicating Studies of Drugs—A Review. *J. Pharm. Anal.* **2014**, *4*, 159–165, doi:10.1016/j.jpha.2013.09.003.

9. Waterman, K.C. The Application of the Accelerated Stability Assessment Program (ASAP) to Quality by Design (QbD) for Drug Product Stability. *AAPS PharmSciTech* **2011**, *12*, 932, doi:10.1208/s12249-011-9657-3.
10. Waterman, K.C. Mechanism Changes with High Temperature: Significance for Use of Accelerated Aging Modeling of Pharmaceuticals. *J. Pharm. Innov.* **2023**, *18*, 2459–2463.

Г. Научни радови и саопштења публиковани из резултата дисертације

Из резултата докторске дисертације кандидата до сада су објављена два рада у научним часописима и то један у водећем међународном часопису (катеорија M21a) и један у међународном часопису (катеорија M23). Поред тога, из докторске дисертације проистекло је и једно саопштење са међународног скупа штампано у изводу (M34).

Рад у водећем међународном часопису (M21a)

1. **Mandić-Kovačević N.**, Kasagić-Vujanović I., Gatarić B., Škrbić R., Popović Bijelić A. Study of the Acidic, Basic, and Thermal Degradation Kinetics of Three Antihypertensive Drugs—Individually and in Combination. *Pharmaceutics*, 16(11), (2024) 1410. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16111410>

Рад у међународном часопису (M23)

1. **Mandić-Kovačević N.**, Kasagić-Vujanović I., Popović Bijelić A. Analysis of Fixed-Dose Combination of Three Antihypertensive Drugs by a Green and Quality by Design Approach. *J Chromatogr Sci*, 61(3), (2023) 256-268. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmac044>

Саопштење са међународног скупа штампано у изводу (M34)

1. **Mandić-Kovačević N.**, Kasagić-Vujanović I. Application of experimental design in optimization of chromatographic method for pharmaceutical analysis of amlodipine besylate, indapamide and perindopril-erbumine. XIII International scientific conference Contemporary materials 2020, Book of Abstracts, p.90-91, Banja Luka, 2020.

Д. Провера оригиналности докторске дисертације

Провера оригиналности докторске дисертације извршена је на начин прописан Правилником о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду („Гласник Универзитета у Београду“ број 204 од 22.06.2018.). Помоћу програма iThenticate извршена је провера оригиналности докторске дисертације кандидата под називом „**Хеометријски приступ развоју еколошки прихватљиве хроматографске методе за анализу и испитивање кинетике и термодинамике деградације периндоприла, амлодипина и индапамида**“ и установљено је да количина подударана текста (similarity index) износи 1%. Наведени степен подударности последица је употребе цитата, личних имена, библиографских података о коришћеној литератури, тзв. општих места и података, као и претходно публикованих резултата докторандових истраживања, који су проистекли из дисертације што је у складу са чланом 9. поменутог Правилника. На основу свега изнетог, Комисија је утврдила да је докторска дисертација кандидата Небојше Мандић-Ковачевић оригинална, као и да су у потпуности поштована академска правила цитирања, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Ђ. Закључак комисије

На основу изложеног може се закључити да резултати кандидата Небојше Мандића-Ковачевића представљају оригиналан и значајан научни допринос у области физичке хемије, посебно у ужој научној области заштите животне средине, хемијске кинетике и термодинамике. Део резултата докторске дисертације кандидата публикован је у оквиру једног рада у водећем међународном часопису (категорија M21a) и једног рада у међународном часопису (категорија M23). Поред тога из докторске дисертације проистекло је и саопштење на међународном скупу штампано у изводу (M34). У складу са наведеним, Комисија сматра да кандидат испуњава све услове за прихватање завршене докторске дисертације прописане од стране Универзитета у Београду и услове дефинисане Правилником о изради и оцени докторске дисертације на Факултету за физичку хемију Универзитета у Београду. На основу изложеног, Комисија позитивно оцењује дисертацију мастер физикохемичара Небојше Мандића-Ковачевића под називом: „**Хеометријски приступ развоју еколошки прихватљиве хроматографске методе за анализу и испитивање кинетике и термодинамике деградације периндоприла, амлодипина и индапамида**“ и предлаже Наставно – научном већу Факултета за физичку хемију Универзитета у Београду да прихвати ову оцену Комисије, чиме би били испуњени сви услови за одобрење јавне одбране докторске дисертације и стицања звања кандидата - доктор физикохемијских наука.

У Београду, 01.08.2026. године

Чланови комисије:

др Ана Поповић Бијелић, редовни професор
Универзитет у Београду, Факултет за физичку хемију

др Мирослав Ристић, ванредни професор
Универзитет у Београду, Факултет за физичку хемију

др Весна Антуновић, доцент
Универзитет у Бањој Луци, Медицински факултет

др Анка Јевремовић, научни сарадник
Универзитет у Београду, Факултет за физичку хемију