

**NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU FARMACEUTSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

KOMISIJI ZA POSLEDIPLOMSKE STUDIJE

Na osnovu člana 94. Statuta i predloga Komisije za poslediplomske studije, Nastavno-naučno veće Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, na sednici od 29.12.2011. god, donelo je odluku o imenovanju Komisije za ocenu ispunjenosti uslova za kandidata dipl. farmaceuta Milice Lukić i naučne zasnovanosti teme doktorske disertacije pod naslovom “ **Formulaciona istraživanja dermokozmetičkih emulzija za vlaženje kože: koncept uporedne reološke, teksturne i senzorne procene**”.

Posle uvida u priloženi materijal i analize predmeta i cilja istraživanja, Komisija u sastavu: Doc. dr Snežana Savić, Prof. dr Gordana Vuleta, Van. prof. dr Slobodanka Tamburić, Doc. dr Veljko Krstonošić i Doc. dr Nebojša Cekić podnosi sledeći:

IZVEŠTAJ

A. Biografija kandidata

Milica Lukić rođena je 18. 08. 1979. godine u Somboru. Osnovnu školu i gimnaziju završila je u Beogradu. Farmaceutski fakultet u Beogradu upisala je školske 1998/1999 godine, a diplomirala je 06. 07. 2004. sa prosečnom ocenom 8,77 i ocenom 10 na diplomskom ispitu.

Doktorske akademske studije iz kozmetologije na Farmaceutskom fakultetu u Beogradu upisala je školske 2007/2008. godine.

Po obavljenom jednogodišnjem stažu u Vojnomedicinskoj akademiji i položenom stručnom ispitu od 2005. do 2007. godine bila je zaposlena u apoteci „Angelica“ u Beogradu. Od oktobra 2007. godine radi kao saradnik u praktičnoj nastavi, a oktobra 2009. je izabrana u zvanje asistenta na predmetima u okviru Katedre za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju Farmaceutskog fakulteta u Beogradu. U septembru 2011. godine boravila je u Institutu za farmaceutsku tehnologiju Eberhard-Karls Univerziteta u Tübingenu u dvonedeljnoj istraživačkoj poseti.

Od 2008. do kraja 2010. godine učestvuje kao saradnik na projektu tehnološkog razvoja pod nazivom „Razvoj i karakterizacija koloidnih nosača za antiinflamatorne lekove“ (TR-

19058), a od 2011. godine na projektu tehnološkog razvoja pod nazivom „Razvoj mikro- i nanosistema kao nosača za lekove sa antiinflamatornim delovanjem i metoda za njihovu karakterizaciju“ (TR-34031) Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije (sada Ministarstvo prosvete i nauke Republike Srbije).

B. Spisak objavljenih naučnih radova i saopštenja

Rad u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21)

1. Jaksic I, Lukic M, Malenovic A, Reichl S, Hoffmann C, Müller-Goymann C, Daniels R, Savic S; Compounding of a topical drug with prospective natural surfactant-stabilized pharmaceutical bases: physicochemical and *in vitro/in vivo* characterization. A ketoprofen case study; European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 80 (1) (2012) 164-175.

Rad u istaknutom međunarodnom časopisu (M22)

1. Savic S, Lukic M, Jaksic I, Reichl S, Tamburic S, Müller-Goymann C; An alkyl polyglucoside-mixed emulsifier as stabilizer of emulsion systems: The influence of colloidal structure on emulsions skin hydration potential; Journal of Colloid and Interface Science 358 (2011) 182–191; doi: 10.1016/j.jcis.2011.02.049

Rad u međunarodnom časopisu (M23)

1. Lukic M, Jaksic I, Krstonosic V, Cekic N, Savic S; A combined approach in characterization of an effective w/o hand cream: the influence of emollient on textural, sensorial and *in vivo* skin performance; International Journal of Cosmetic Science (*in press*); doi: 10.1111/j.1468-2494.2011.00693.
2. Tasic-Kostov M.Z, Reichl S, Lukic M.Z, Jaksic I.N, Savic S.D; Does lactobionic acid affect colloidal structure and skin moisturizing potential of the alkyl polyglucoside-based emulsion systems?; Pharmazie 66 (2011) 862-870; doi:10.1691/ph.2011.1066.
3. Tasic-Kostov M, Reichl S, Lukic M, Jaksic I, Savic S; Two alkyl polyglucoside natural surfactants varying in the chain length in stabilization of lactobionic acid containing emulsions: physicochemical characterization and *in vitro* irritation potential assessment; La rivista italiana delle sostanze grasse 2011; 88 (4): 256-264.

Rad u međunarodnom časopisu koji citiraju druge baze podataka (M51)

1. Tasic-Kostov M, Savic S, Lukic M, Tamburic S, Pavlovic M, Vuleta G; Lactobionic acid in a natural alkylpolyglucoside-based vehicle: assessing safety and efficacy aspects in comparison to glycolic acid. Journal of Cosmetic Dermatology 9 (2010) 3-10 (PUBMED).

Rad u časopisu nacionalnog značaja (M52)

1. Jončić-Savić K, Pešić J, Rajić M, Lukić M, Jakšić I, Milić J, Savić S, Vuleta G; Uticaj faktora formulacije na fizičko hemijske i biofarmaceutske karakteristike ketoprofen 2,5% gela; Arhiv za farmaciju 6 (2010) 1237-1254.

2. Jakšić I, Lukić M, Rajić M, Jončić-Savić K, Radulović V, Milić J, Savić S; Fizičko-hemijska karakterizacija i procena bezbednosti model podloga sa alkil poliglukozidnim emulgatorom za NSAID; Arhiv za farmaciju 1 (2010) 26-47.
3. Vuleta G, Jakšić I, Lukić M, Savić S; Primena borne kiseline u farmaceutskim preparatima i kozmetičkim proizvodima – da ili ne?; Arhiv za farmaciju 4 (2008) 241-250.

Saopštenje sa međunarodnog skupa štampanou celini (M33)

1. Jakšić I, Lukić M, Reichl S, Hoffmann C, Savić S; Komparativno in vitro/ex vivo/in vivo ispitivanje dermalne raspoloživosti ketoprofena iz emulzionih sistema na bazi alkil poliglukozida; II Kongres farmaceuta Bosne i Hercegovine sa međunarodnim učešćem; 17-20.11.2011. Banja Luka, Zbornik radova, str.192-194.
2. Lukić M, Jakšić I, Savić S; Razvoj optimalne formulacije dermokozmetičke emulzije za suhu kožu na bazi novog alkil poliglukozidnog emulgatora; II Kongres farmaceuta Bosne i Hercegovine sa međunarodnim učešćem; 17-20.11.2011. Banja Luka, Zbornik radova, str. 225-228.
3. Tasić-Kostov M, Pavlović D, Lukić M, Savić S; Laktobionska kiselina kao antioksidans i agens za vlaženje kože u kozmetičkim emulzijama na bazi prirodnih alkil poliglukozidnih emulgatora - in vitro/in vivo određivanje bezbednosti i efikasnosti; II Kongres farmaceuta Bosne i Hercegovine sa međunarodnim učešćem, 17-20.11.2011. Banja Luka, Zbornik radova, str. 229-231.
4. Lukic M, Jaksic I, Krajisnik D, Vuleta G, Savic S; Correlation of rheological and sensory properties and their comparison with in vivo effects of W/O emulsions for dry skin; 5th World Congress on Emulsions, 12-14 Oct. 2010. Lyon, France; CD ROM
5. Jaksic I, Lukic M, Milic J, Daniels R, Savic S; In Vivo skin absorption of a model NSAID from alkyl polyglucoside emulsion vehicles: influence of selected co-solvent and colloidal structure of the system; 5th World Congress on Emulsions, 12-14 Oct. 2010. Lyon, France; CD ROM
6. Savic S, Lukic M, Milic J, Vuleta G, Reichl S; Natural surfactant of alkyl polyglucoside type: from cosmetic raw material toward prospective pharmaceutical excipient – a physicochemical and in vitro/in vivo safety study; 5th World Congress on Emulsions, 12-14 Oct. 2010. Lyon, France; CD ROM
7. Tasic-Kostov M, Lukic M, Savic S; An alkylpolyglucoside vs. traditional polyethylene glycol emulsifier based emulsion as eligible cosmeceutical vehicle: physicochemical and in vivo assesment of the cream containing; 5th World Congress on Emulsions, 12-14 Oct. 2010. Lyon, France; CD ROM
8. Jaksic I, Lukic M, Milica J, Daniels R, Savis S; In vivo skin absorption of a model NSAID from alkyl polyglucoside emulsion vehicles: influence of colloidal structure of the system and selected penetration enhancer; 7th World Meeting on Pharmaceuticals, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology; 2010 (March) Malta CD ROM

Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u izvodu (M34)

1. M. Lukic, I. Jaksic, R. Daniels, S. Savic; A C20/22 Alkyl Polyglucoside-Based Emulsion Vehicles: Adjusting of colloidal structure for better skin performance; Skin Forum 12th Annual Meeting, 2011, Frankfurt, Nemačka; CD
2. Jaksic I, Lukic M, Markovic B, Calija B, Milic J, Savic S; Comparison of in vitro/in vivo methods for skin penetration/permeation assessment: A diclofenac-diethylamine case study; 3rd PharmSciFair, 13-17. jun 2011, Prag, Češka Republika; str. 131, P-273.
3. M. Lukic, I. Jaksic, R. Daniels, G. Vuleta, S. Savic; Natural Surfactant of Alkyl Polyglucoside Type: A Physicochemical Characterization of New Mixed Emulsifier; 8th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology; Graz 2010, Sci Pharm 2010, 78:719; doi: 10.3797/scipharm.cespt.8.POT04
4. I. Jaksic, M. Lukic, R. Daniels, S. Reichel, J. Milic, S. Savic; Case by Case Physicochemical an In Vitro/In Vivo Biopharmaceutical Characterization of Alkyl Polyglucoside-Based Vehicles: Ketoprofen as a Model Drug; 8th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology; Graz 2010, Sci Pharm 2010, 78:621; doi: 10.3797/scipharm.cespt.8.PDD32
5. Lukic M, Jaksic I, Perović T, Tasić-Kostov M, Milić J, Savić S; Natural surfactants as potential pharmaceutical excipients in magistral drug preparation: physicochemical characterisation and safety evaluation of model vehicles for NSAID; 69th World Congress of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2009 Istanbul, Turkey; 199
6. Jakšić I, Lukić M, Kostić N, Milić J, Savić S; The influence of natural surfactant-based emulsion vehicles on in vitro liberation profiles of model NSAID; 69th World Congress of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2009 Istanbul, Turkey; 199
7. Jakšić I, Lukić M, Jončić-Savić K, Milić J, Savić S; The influence of natural surfactant-based emulsion systems with and without isopropyl alcohol on skin absorption in vivo of model NSAID; 69th World Congress of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2009 Istanbul, Turkey; 199
8. Lukic M, Jaksic I, Savic S; Skin performance of lactobionic and glycolic acids from emulsion and gel vehicle: short- and long-term application studies; Skin and Formulation 3rd Symposium & Skin Forum, 10th Annual Meeting; March 2009, Versailles, France; 115
9. Lukic M, Jaksic I, Savic S; The comparative effect of lactobionic and glycolic acid: an objective assessment of skin performance under occlusion; Skin and Formulation 3rd Symposium & Skin Forum, 10th Annual Meeting; March 2009, Versailles, France; 115

Saopštenje sa skupa nacionalnog značaja štampano u izvodu (M64)

1. Pantelić I, Lukić M, Čalija B, Milić J, Vuleta G, Savić S; Mogućnost primene alkil poliglukozidnih emulgatora različite dužine lanca u stabilizaciji nanočestičnih nosača aktivnih supstanci: preformulaciona ispitivanja; Simpozijum Biofarm 2011. Beograd, P13.
2. Milica Lukić, Ivana Jakšić, Gordana Vuleta, Snežana Savić; Efikasnost kozmetičkih proizvoda – koje efekte je moguće ispitati i kako?; V Kongres farmaceuta Srbije sa međunarodnim učešćem; Arhiv za farmaciju 5 (2010) 730-731.

3. Milica Lukić, Ivana Jakšić, Gordana Vuleta, Snežana Savić; Formulisanje V/U emulzije za negu suve kože: optimalne reološke i senzorijske karakteristike; V Kongres farmaceuta Srbije sa međunarodnim učešćem; Arhiv za farmaciju 5 (2010) 784-785.
4. Ivana Jakšić, Milica Lukić, Jela Milić, Rolf Daniels, Snežana Savić; Komparativna in vitro/in vivo karakterizacija emulzionih podloga sa alkil poliglukozidnim emulgatorom kao nosačem za diklofenak i ketoprofen; V Kongres farmaceuta Srbije sa međunarodnim učešćem; Arhiv za farmaciju 5 (2010) 772-773.
5. Marija Tasić-Kostov, Milica Lukić, Gordana Vuleta, Snežana Savić; Alkilpoliglukozidni vs. tradicionalni polietilenglikolni emulgatori kao stabilizatori emulzija – fizičko-hemijska karakterizacija i in vitro/in vivo ispitivanje efekata na koži; V Kongres farmaceuta Srbije sa međunarodnim učešćem; Arhiv za farmaciju 5 (2010) 784-785.
6. M. Lukić, I. Jakšić, S. Savić, M. Tasić-Kostov, S. Vesić, G. Vuleta; Laktobionska vs. glikolna kiselina: primena tehnika bioinženjeringa za objektivnu procenu stanja kože; Zbornik rezimea sa XVIII kongresa dermatovenerologa Srbije; 4-6. jun 2009. Beograd, 22
7. Milica Lukić, Katarina Jončić, Ivana Jakšić, Biljana Stojanović, Mirjana Rajić, Snežana Savić; Liberation profiles of model NSAID from different vehicles for topical application: ketoprofen release comparative study; Simpozijum Biofarm 2009, Beograd; P9
8. Jakšić Ivana, Lukić Milica, Milić Jela, Vuleta Gordana, Savić Snežana, Daniels Rolf; Diclofenac-diethylamine bioavailability from emulsion systems based on alkyl polyglucoside emulsifier: in vivo tape stripping method vs. in vitro release; Simpozijum Biofarm 2009, Beograd; P6
9. Lukić M, Savić S, Vuleta G; Biljne sirovine u kozmetičkim proizvodima za decu i bebe; Zbornik radova sa XXVIII Savetovanja o lekovitim i aromatičnim biljkama; 8-11. oktobar 2008. Vršac, 165-166.

Tehničko rešenje (M83)

1. Snežana Savić, Jela Milić, Milica Lukić, Ivana Jakšić, Mirjana Rajić, Katarina Jončić-Savić, Gordana Vuleta; Razvoj formulacije podloge na bazi prirodnog emulgatora alkil poliglukozidnog tipa za *ex tempore* izradu magistralnih lekova; 2010, (u okviru projekta TR 19058 koje je finansiralo Ministarstvo nauke i tehnološkog razvoja RS)

C. Obrazloženje teme doktorske disertacije

1. Naučna oblast

Kozmetologija

2. Predmet naučnog istraživanja

Predmet naučnog istraživanja ove doktorske disertacije je razvoj estetski prihvatljivih bezbednih i efikasnih dermokozmetičkih emulzija tipa voda u ulju (V/U) i ulje u vodi

(U/V) namenjenih vlaženju kože primenom koncepta uporedne reološke, teksturne i senzorne procene, sa posebnim osvrtnom na međusobnu korelaciju ovih metoda. Uporedo, planirano je sveobuhvatno fizičko-hemijsko ispitivanje stabilizacionog potencijala novijeg alkil poliglukozidnog (APG) emulgatora dugog lanca – C₂₀/C₂₂ (INCI/ Arahidil i behenil alkohol i arahidil-glukozid) i sagledavanje koloidne strukture emulzionih sistema stabilizovanih ovim emulgatorom, sa i bez kozmetički aktivnih supstanci. Dodatno, predmet istraživanja je i evaluacija primene određenih tehnika široko korišćenih za karakterizaciju farmaceutskih sistema u razvoju kozmetičkih formulacija (termoanalitičke metode i metoda sa trakama (eng. *tape stripping*)).

3. Naučna zasnovanost teme

Savremeni kozmetički proizvod (KP) mora ispuniti niz zahteva koje, sa jedne strane, postavljaju aktuelni zakonski propisi, kakva je Uredba EU 1223 o kozmetičkim proizvodima (Regulation (EC) No 1223/2009), a sa druge strane, zahtevi samih korisnika/potrošača. Efikasnost i bezbednost KP moraju biti potvrđeni i dokazani da bi se on uopšte našao na tržištu. Ipak, treba naglasiti da sa aspekta prihvatljivosti od strane korisnika (eng. *consumer acceptance*) senzorne karakteristike imaju daleko veći značaj, štaviše one sa aspekta prodaje KP, imaju najveći značaj (Wortel i Wiechers, 2000). Ispunjavanje očekivanja korisnika/potrošača, koja se pre svega odnose na senzorne karakteristike, postalo je imperativ kako u kozmetičkoj, tako i u prehrambenoj industriji, a ovome je sve veća pažnja posvećena i u razvoju farmaceutskih preparata. Istraživanja vezana za ljudsku percepciju danas privlače veliku pažnju kako zbog naučnih tako i iz praktičnih razloga (Rossi and Berglund, 2011).

Senzorna procena često se opisuje kao naučni metod koji se koristi za izazivanje, merenje, analizu i tumačenje onih odgovora na proizvod koji se opažaju čulima vida, mirisa, dodira, ukusa i sluha (Kempt *et al*, 2009). Kompletna senzorna karakterizacija kojom se dobija tzv. senzorni otisak (profil) proizvoda podrazumeva ispitivanje njegovih osobina pre, tokom i nakon primene, što se postiže sprovođenjem studija senzorne procene sa treniranim (objektivnim) i netreniranim (subjektivnim) dobrovoljcima prema postojećim vodičima (npr. ASTM 2003). Kvantitativna deskriptivna analiza (KDA) je metoda koja se posebno ističe jer se njenom primenom dobijaju najkompletniji i najpouzdaniji podaci. Njeno izvođenje podrazumeva strogu selekciju ispitanika na osnovu njihove sposobnosti upoređivanja, kao i interpretacije i verbalizacije senzornih opažanja, a sve na osnovu upitnika i isključujućih kriterijuma propisanih postojećim standardima (ASTM, 2003). Nakon toga ispitanici se obučavaju primenom procedure za određivanje i definisanjem svakog senzornog atributa, a njihova obučenost, odnosno reproduktivnost i preciznost panela ispitanika, proverava se sprovođenjem tzv. prethodne studije sa postojećim, komercijalnim, uzorcima. Pored KDA u primeni su i mnoge druge metode ispitivanja i veliki broj istraživača radi na njihovom usavršavanju, kao i razvoju novih, modifikovanih studija, kojima bi se sama procedura pojednostavila uz dobijanje zadovoljavajućeg seta podataka (Husson *et al*, 2007; Almeida *et al*, 2008; Parente *et al*, 2010). S obzirom na dužinu trajanja, kao i cenu ovih studija, uz činjenicu da se bez obzira na sve mere, ne može isključiti subjektivna ocena od strane ispitanika, veoma je značajno ispitati mogućnost upotrebe instrumentalnih metoda čiji bi se rezultati mogli dovesti u vezu sa senzornim osobinama. Reološke, odnosno osobine „proticanja“ emulzionih

sistema predstavljaju neke od najznačajnijih fizičkih karakteristika emulzija (Mezger, 2002). Decenijama se reološka merenja koriste u karakterizaciji emulzionih sistema, pri čemu se podaci dobijeni kontinualnim i/ili oscilatornim reološkim merenjima u najvećoj meri koriste u rasvetljavanju koloidne strukture emulzionih sistema, za predviđanje ponašanja emulzionih sistema u realnim uslovima (uslovi primene), u toku procesa proizvodnje, kao i za procenu njihove dugotrajne stabilnosti (Mewis i Wagner, 2009; Cullen *et al*, 2003; Tadros, 2004). Poznato je da su aplikacija i prihvatljivost polučvrstih proizvoda u velikoj meri zavisne od osobina koje proizvod pokazuje pri proticanju (Trapp, 2007) i ovo je razlog što se sve veća pažnja posvećuje mogućnosti upotrebe klasičnih tehnika, kao što je reologija, u razvoju potrošački prihvatljivog završnog proizvoda (Park i Song, 2010). Pored reoloških merenja, teksturna analiza je još jedna klasična tehnika koju su neki autori do sada koristili za karakterizaciju emulzionih sistema, pre svega u proceni stabilnosti u toku vremena (Lemaitre-Aghazarian *et al*, 2004; Masmoudi *et al*, 2009). Očekuje se da bi i ova jednostavna tehnika kojom se procenjuju mehaničke karakteristike mogla imati veći značaj u razvoju potrošački prihvatljivog proizvoda.

Kada se govori o zahtevima potrošača neophodno je naglasiti i to da su oni, kao i regulatorna tela i novi zakonski propisi, sve više fokusirani na dobrobit KP i uticaj istog na njihovo zdravlje, kao i na životnu sredinu (Uredba EU 1223/2009 i Uredba 1907/2006). Ovo je dovelo do razvoja i istraživanja u oblasti novih prirodnih sirovina, funkcionalnih sastojaka i savremenih nosača (Patravale i Mandawgade, 2008). Među ovim sirovinama posebno se ističe grupa alkil poliglukozidnih (APG) emulgatora, i to pre svega zbog njihove kompatibilnosti sa kožom i veoma povoljnog ekotoksikološkog profila (Stubenrauch, 2001; Mehling i Hensen, 2004; Savic *et al*, 2009). Kompatibilnost nosača na bazi APG emulgatora sa kožom tumači se sličnošću njihove strukture sa strukturom kožne barijere, gde je pokazano da formiranjem liotropnih tečnih kristala ovi nosači imitiraju strukturnu organizaciju *stratum corneum* (SC) (Makai *et al*, 2003; Savic *et al*, 2005). U zavisnosti od koloidne strukture nosača, odnosno načina distribucije vode u sistemu, nosač može uticati na sadržaj vlage u koži (vlažeći efekat) i posledično na permeabilnost i penetraciju kozmetički aktivnih supstanci (KAS) u kožu (Lodén, 2005). Premda su predmet brojnih istraživanja, interesovanje za ovu grupu supstanci se ne smanjuje, s obzirom na to da svaki novi APG emulgator zahteva detaljno ispitivanje, kako u smislu rasvetljavanja mehanizama stabilizacije, tako i ispitivanja karakteristika sistema sa tim APG emulgatorom (fizičkohemijska stabilnost, pogodnost upotrebe kao nosača KAS, odnosno njihova kompatibilnost sa KAS, efikasnost i bezbednost). Tehnike koje se uobičajeno koriste pri karakterizaciji emulzionih sistema su merenje električne provodljivosti, mikroskopska i reološka analiza, kao i difrakcija X zracima, zbog čega je posebno interesantno ispitati mogućnost značajnije upotrebe termoanalitičkih metoda u ove svrhe (Clausse, 2010). Kada je reč o ispitivanjima efikasnosti i bezbednosti KP, u skladu sa zakonskim propisima, ona se sprovode *in vitro* i *in vivo* metodama na humanim dobrovoljcima, a veliku primenu imaju i tehnike bioinženjeringa kože. Uporedo sa usavršavanjem postojećih razvijaju se i nove metode, koje bi našle primenu u ovoj oblasti. Posebno se izdvojio *tape stripping*, metoda kojom se procenjuje penetracioni profil aktivne supstance kroz SC (Narkar, 2010). Ovom tehnikom može se dobiti bolji uvid u način i stepen oslobađanja KAS u različitim slojevima SC, što doprinosi

rasvetljavanju načina na koji one ostvaruju svoje efekte na kožu. Dodatno ovi podaci mogu razjasniti i značaj i ulogu samog nosača u ovim procesima.

Da bi odgovorila brojnim zahtevima potrošača, kao i regulatornih tela kozmetologija kao savremena nauka fokusira svoju pažnju na razvoj novih, usavršavanje poznatih, kao i ispitivanje mogućnosti kombinovanja postojećih metoda i tehnika koje bi postupak formulacije proizvoda i karakterizacije novih sirovina pojednostavile, uz istovremeno obezbeđivanje odgovarajućeg kvaliteta, bezbednosti i efikasnosti KP. Mogućnost upotrebe instrumentalnih tehnika (reološka i teksturna merenja) u optimizaciji senzornih karakteristika, predstavlja u tom smislu veliki izazov, zbog čega je značajan predmet istraživanja ove doktorske disertacije. Dodatno, razvoj novih nosača na bazi APG emulgatora na kojima će biti primenjen kombinovani koncept formulisanja, da bi se obezbedili odgovarajući zahtevi u pogledu stabilnosti, efikasnosti, bezbednosti i estetske prihvatljivosti KP, mogao bi da doprinese savremenim istraživanjima u polju kozmetologije.

4. Cilj istraživanja

Ciljevi predložene doktorske disertacije su:

1. Razvoj model dermokozmetičke emulzije V/U tipa za vlaženje kože, u toku kojeg će biti ispitivan uticaj variranja jedne komponente masne faze na reološke, senzorne, teksturne karakteristike formulacije, kao i na njenu efikasnost, čime će se dobiti podaci koji će omogućiti uspostavljanje određenih korelacija između dobijenih parametara. V/U emulzija izabrana je kao prototip za uspostavljanje korelacije fizičkih i senzornih parametara zbog realno lošije prihvatljivosti od strane korisnika/potrošača.

2. Procena mezomorfno ponašanja mešanog APG emulgatora (INCI/ Arahidil i behenil alkohol i arahidil-glukozid) dugog lanca, standardizacija postupka izrade nosača koji ga sadrže i sagledavanje mehanizama kojima su stabilizovani emulzioni sistemi tipa U/V. Dodatno, biće ispitivan uticaj različitih masnih faza na koloidnu strukturu APG-stabilizovanih sistema. Na osnovu dobijenih rezultata planira se razvoj dermokozmetičke emulzije tipa U/V za vlaženje kože sa ispitivanim emulgatorom, primenom koncepta reološke, teksturne i senzorne procene, a koja bi imala optimalne senzorne osobine, efikasnost i bezbednost.

3. Utvrđivanje efikasnosti, bezbednosnog profila i kompatibilnosti odabranih kozmetičkih emulzija sa model kozmetički aktivnim supstancama (salicilna i glikolna kiselina) primenom odgovarajućih *in vivo* metoda bioinženjeringa kože; istovremeno će se procenjivati potencijal ispitivanog APG emulgatora da stabilizuje emulzione sisteme sa kiselim kozmetički aktivnim supstancama, odnosno postuliranje njegovog "kiselo-stabilnog" potencijala.

5. Metodologija naučnog istraživanja

Eksperimentalni rad biće podeljen u tri faze, a ciljevi pojedinih faza rada biće:

Prva faza eksperimentalnog rada

O da se na osnovu pretraživanja literature i dostupnih podataka proizvođača kozmetičkih sirovina, formulišu 4 uzorka V/U emulzija namenjenih vlaženju kože, uz emulgator diizostearil poliglicerol-3 dimer dilinoleat (Isolan® PDI, Evonik

Goldschmidt GmbH, Nemačka), uz variranje jedne komponente masne faze (emolijensa). Pripremljene emulzije će sadržati poznate sirovine, potvrđenog kvaliteta i bezbednosti, te će u fokusu ispitivanja koja se na njima sprovode biti detaljna procena reološkog ponašanja (kontinualna i oscilatorna merenja, matematičko modelovanje dobijenih profila tečenja) i teksturna analiza. Da bi se odredili unapred definisani senzorni atributi na izrađenim uzorcima, kao i u cilju boljeg razumevanja uticaja variranih emolijenasa biće sprovedena senzorna studija i na upotrebljenim komponentama masne faze. Dobijeni rezultati zajedno sa rezultatima reoloških i teksturnih merenja treba da omoguće razvoj modifikovane senzorne studije koja bi se mogla koristiti u toku postupka formulacije i preformulacije različitih kozmetičkih emulzija.

- o Efekti izrađenih uzoraka na koži biće ispitani tehnikama bioinženjeringa kože: merenjem stepena hidratisanosti SC (SCH), transepidermalnog gubitka vlage (TEGV), sadržaja površinskih lipida kože (PL) i viskoelastičnosti kože u kratkotrajnoj jednočasovnoj i dugotrajnoj sedmodnevnoj studiji.

Druga faza eksperimentalnog rada

- o da se izradi serija binarnih i ternarnih sistema sa APG emulgatorom MontanovTM 202 (INCI/ Arahidil i behenil alkohol i arahidil-glukozid, Seppic, Francuska) sa rastućim udelom emulgatora (u binarnim) i masne faze – trigliceridi kaprilno-kapranske kiseline (u ternarnim sistemima), uz uporednu standardizaciju postupka izrade. U cilju ispitivanja potencijala MontanovTM a 202 za građenje lamelarnih mezofaza, kao i da bi se dobio dublji uvid u koloidnu strukturu, odnosno mehanizam stabilizacije i način distribucije vode u izrađenim uzorcima biće sprovedena obimna fizičko-hemijska karakterizacija (mikroskopska analiza: svetlosna i polarizaciona; difrakcija X-zraka pod malim (SAXD) i velikim (WAXD) uglom, reološka analiza: kontinualna i oscilatorna reologija; termalne metode: diferencijalna skenirajuća kalorimetrija – DSC i termogravimetrijska analiza – TGA). Dodatno, biće ispitivan bezbednosni profil izrađenih emulzionih sistema *in vitro* metodom ispitivanja citotoksičnosti, upotrebom modela rekonstruisanog humanog epiderma.
- o na osnovu dobijenih rezultata biće odabrane optimalne koncentracije emulgatora i masne faze i formulisani ternarni emulzioni U/V sistemi sa masnim fazama različitih fizičko-hemijskih karakterista, čiji će uticaj na specifičnu koloidnu strukturu biti procenjen prethodnim metodama, a takođe će sa ovim uzorcima biti sprovedena studija ispitivanja njihovog vlažećeg efekta (petočasovna kratkotrajna studija) primenom tehnika bioinženjeringa kože, nakon čega će ovi rezultati biti upoređeni sa rezultatima dobijenim pomoću TGA.

Treća faza eksperimentalnog rada

- o ukoliko rezultati druge faze pokažu da ispitivane emulzije imaju zadovoljavajuću stabilnost, bezbednost i efikasnost ispitivanih sistema primenom koncepta uporedne reološke, teksturne i senzorne karakterizacije biće formulisan dermokozmetički emulzioni nosač U/V tipa.
- o u okviru ove faze ispitaće se mogućnost inkorporiranja dve model KAS: salicilne kiseline – 2% (suspendovanjem i rastvaranjem u izopropil alkoholu) i glikolne kiseline (u različitim koncentracijama, od 1 do 10%) u prethodno formulisan nosač, procenom fizičko-hemijske stabilnosti uzoraka (praćenjem reoloških parametara, promena pH vrednosti i električne provodljivosti uzoraka, mikroskopskom, TGA i

DSC analizom) i aplikativnih osobina (teksturna analiza i senzorna studija). Na ovaj način ispitaće se tzv. kiselo-stabilni potencijal ispitivanog APG emulgatora. Takođe, izvršiće se *in vivo* procena bezbednosnog profila i efikasnosti odabranih emulzija.

Za **izradu uzoraka** koristiće se rotaciona mešalica (Heidolph, Nemačka) i magnetna mešalica (IKA® basic 2, Nemačka).

U cilju sveobuhvatne karakterizacije uzoraka biće primenjene sledeće metode ispitivanja:

- o **Mikroskopska analiza** u cilju postizanja **uvida u specifičnu koloidnu mikrostrukturu** emulzionih sistema biće izvršena primenom polarizacionog mikroskopa Carl Zeiss ApoTome Imager Z1 (Zeiss, Getingen, Nemačka) integrisanog sa digitalnom AxioCam ICc1 kamerom i AxioVision 4.6 softverskim paketom.
- o **Mikrostruktura i stabilnost** formulisanih emulzija biće ispitane detaljnim oscilatornim i kontinualnim **reološkim merenjima** primenom rotacionog reometra Rheolab MC 120 (Paar Physica, Nemačka) i rotacionog reometra HAAKE Rheostress RS600 (Thermo Electron Corporation, Nemačka). Sva merenja biće sprovedena primenom kupa-ploča mernog sistema, a u zavisnosti od osobina uzoraka biće precizno definisani uslovi merenja (prečnik kupe, brzine smicanja, naponi, frekvencije, intervali trajanja merenja i temperature na kojima će se vršiti merenja). Obrada dobijenih rezultata biće sprovedena upotrebom postojećih softverskih paketa reometara Paar Physica Softwer i Haake Rheowin Software, kao i odgovarajućih statističkih metoda.
- o **Teksturna analiza** koja će dati podatke o **strukturi i mehaničkim karakteristikama** uzoraka biće sprovedena korišćenjem teksturometra Texture Analyser TE32 (Stable Micro Systems Ltd., Velika Britanija).
- o **Senzorna studija** kojom će biti **određeni unapred definisani senzorni atributi** (svaki senzorni atribut biće definisan opisno ili skalom, takođe će biti precizno definisan način njegovog određivanja) biće sprovedena na ispitivanim emulzionim sistemima pomoću odabranog i treniranog panela ispitanika u skladu sa postojećim Standardima za ispitivanje senzornih karakteristika (ASTM 2003). Dodatno biće sprovedena studija na odabranim emolijensima, na isti način kao i prethodno opisana studija.
- o Dublji i pouzdaniji **uvid**, kao i **potvrda složene anizotropne strukture** binarnih i ternarnih sistema na bazi APG emulgatora dugog lanca (formiranje kompleksnih lamelarnih gel- i tečno-kristalnih struktura) detektovanjem karakteristične interferencije biće postignuti primenom **SAXD** (polarizaciono-osetljiv detektor (Braun, Nemačka), generator za proizvodnju X-zraka PW-1730 (Philips, Nemačka) uz bakarnu anodu) i **WAXD** (goniometar za detekciju X-zračenja PW-1050/25, (Philips; Nemačka) u kombinaciji sa linearnim brojačem punjenim ksenonom (Fuji, Japan), generator PW-1730 (Philips, Nemačka) uz bakarnu anodu) tehnika.
- o **Ispitivanje stabilnosti uzoraka** biće sprovedeno kroz **merenje pH vrednosti** (Hanna instruments HI 9321, SAD) i **električne provodljivosti** (konduktometar CDM 230, Radiometer, Danska), te kontinualnih reoloških osobina uzoraka.

- o **Procena faznih prelaza i načina inkorporiranja vode** u binarnim, ternarnim i emulzionim sistemima izvršiće se **DSC i TGA tehnikama**, primenom diferencijalnog skenirajućeg kalorimetra Mettler DSC 820 (Mettler Toledo, Giessen, Nemačka) i uređaja za termogravimetrijsku analizu Netzsch STA 409PG (Netzsch, Selb, Nemačka)
- o **Aspekt bezbednosti ispitivanih podloga** biće procenjen (i) **in vitro ispitivanjem citotoksičnosti na ćelijskim kulturama** (rekonstruisani humani epiderm) koje je bazirano na Mosmanovoj MTT redukcionoj metodi, i (ii) primenom savremenih **in vivo tehnika bioinženjeringa kože** u studiji pod okluzijom kojima će se dobiti uvid u sledeće parametre: a) hidratacija SC (uređaj Cutometer[®] MPA 580 sa integrisanim Corneometer[®] CM825) i b) pH kože primenom uređaja Corneometer[®] CM825, c) transepidermalni gubitak vlage (TEGV) uređajem Tewameter[®] TM210 i d) eritema indeks primenom aparata Mexameter[®] MX18 (svi proizvođača Courage+Khazaka, Nemačka).
- o **In vivo određivanje efikasnosti uzoraka** izводиće se **metodama bioinženjeringa kože**, pri čemu će pored parametara koji su mereni u studiji ispitivanja bezbednosnog profila uzoraka, biti mereni još i a) parametri viskoelastičnosti kože upotrebom Cutometer[®] MPA580 i b) sadržaj površinskih lipida primenom uređaja Cutometer[®] MPA 580 (sa integrisanom uređajem Sebumeter[®] SM815). Određivanje efikasnosti vršiće se sprovođenjem kratkotrajnih i dugotrajnih studija na humanim dobrovoljcima koje će biti tako koncipirane da dobijeni podaci imaju značaja u predviđanju efekata ispitivanih formulacija u realnim uslovima upotrebe. Detaljan protokol studije i informativni pristanak biće pripremljeni za svakog ispitanika - učesnika studije, u skladu sa Helsinškom deklaracijom i Pravilnikom lokalnog Etičkog komiteta Farmaceutskog fakulteta u Beogradu.
- o Kao deo **in vivo ispitivanja efikasnosti uzoraka** biće sprovedeno ispitivanje oslobađanja i stepena penetracije model KAS iz uzoraka u površinske slojeve epidermisa (SC) primenom **tape stripping (TS) metode** upotrebom adhezivnih traka (D-squame[®], CuDerm, SAD). Paralelno sa sprovođenjem protokola TS-a, merenje TEGV-a biće vršeno u različitim fazama uklanjanja SC osetljivom sondom uređaja Tewameter[®] TM210 (Courage+Khazaka, Keln, Nemačka). Sadržaj KAS u eluatima biće precizno određen primenom ultra visokoefikasne tečne hromatografije sa masenom spektroskopijom (UHPLC-MS).

6. Literatura

- Almeida, IF., Gaio, AR., and Bahia MF. 2008. Hedonic and descriptive skinfeel analysis of two oleogels: comparison with other topical formulations. *J. Sensory Studies*. 23, 92-113.
- American Society for Testing and Materials (ASTM). 2003. *Standard Practice for Descriptive Skinfeel Analysis of Creams and Lotions*, ASTM International, Philadelphia, PA.
- Clausse D. 2010. Differential thermal analysis, differential scanning calorimetry, and emulsions. *J Thermal Anal Calorim*.101, 1071-1077.

- Cullen, P.J., O'Donnell, C.P., and Houska, M. 2003. Rotational rheometry using complex geometries – a review. *J. Texture Studies*. 34, 1-20.
- Husson, F., Le, S. and Pages, JF. 2007. Variability of the representation of the variables resulting from PCA in the case of a conventional sensory profile. *Food Qual. Prefer.* 18, 933-937.
- Kemp, E.S., Hollowood, T., and Hort, J. (editors). 2009. *Sensory Evaluation: A Practical Handbook*. Wiley-Blackwell, A John Wiley & Sons, Ltd., Publication, UK
- Lodén, M. 2005. The clinical benefit of moisturizers. *J Eur Acad Dermatol Venerol.* 19, 672-688.
- Makai, M., Csányi, E., Németh, Zs., Pálinkás, J., and Erős, I. 2003. Structure and drug release of lamellar liquid crystals containing glycerol. *Int J Pharm.* 256, 95-107.
- Mehling, A., and Hensen, H. 2004. Comparative studies on the irritation potential of surfactants. *Exog Dermatol.* 3, 191-200.
- Mewis, T. and Wagner, N. 2009. Thixotropy, *Adv. Colloid Interface Sci.* 147-148, 214-227.
- Mezger, T. 2002. *The Rheology Handbook*, Vincentz Verlag, Hannover.
- Narkar, Y., 2010. Bioequivalence for topical products- An update. *Pharm. Res.* 27, 2590-2601.
- Parente, ME., Ares, G. and Manzoni, AV. 2010. Application of two consumer profiling techniques to cosmetic emulsions. *J. Sensory Studies.* 25, 685-705.
- Patravale, VB., and Mandawgade, SD. 2008. Novel cosmetic delivery systems: an application update. *Int J Cosmet Sci.* 30, 19-33.
- Regulation (EC) No 1223/2009 of the European parliament and of the Council of 30 November 2009 on cosmetic products (recast) (Text with EEA relevance), Official Journal of the European Union L 342/59, 2009.
- Regulation (EC) No 1907/2006 of the European parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), Official Journal of the European Union L 396/2, 2006.
- Rossi, GB. and Berglund, B. 2011. Measurement involving human perception and interpretation. *Measurement.* 44, 815-822.
- Savic, S., Vuleta, G., Daniels, R., and Müller-Goyman, C. 2005. Colloidal microstructure of binary systems and model creams stabilized with alylpolyglucoside non-ionic emulsifier. *Colloid Polym Sci.* 283, 439-451.
- Savic, S., Weber, C., Tamburic, S., Savic, M., and Müller-Goyman, C. 2009. Topical Vehicles Based on Natural Surfactant/Fatty Alcohols Mixed Emulsifier: The Influence of Two Polyols on the Colloidal Structure and In Vitro/In Vivo Skin Performance. *J Pharm Sci.* 98, 2073-2090.
- Stubenrauch C. 2001. Sugar surfactants - aggregation, interfacial and adsorption phenomena. *Cur Opin Colloid Interf Sci.* 6, 160-170.

Tadros, T. 2004. Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions. *Adv. Colloid Interface Sci.* 108-109, 227-258.

Trapp, M. 2007. Is there room for improvement in the emollients for adjuvant therapy? *J. Eur. Acad. Derm. Venereol.* 21, 14-18.

Wortel, VAL., and Wiechers, JW. 2000. Skin sensory performance of individual personal care ingredients and marketed personal care products. *Food Qual. Prefer.* 11, 121-127.

7. Očekivani rezultati

Kao ishod prve faze eksperimentalnog rada očekuje se da će razvijene formulacije dermokozmetičke V/U emulzije pokazati zadovoljavajuće estetske i aplikativne osobine uz odgovarajući kvalitet (fizičko-hemijska stabilnost) i efikasnost. Takođe, pretpostavlja se da će rezultati dobijeni reološkim, teksturnim i senzornim ispitivanjem ovih uzoraka omogućiti uspostavljanje određenih korelacionih odnosa između instrumentalnih merenja i senzornih karakteristika, koji će obezbediti razvoj modifikovane i pojednostavljene senzorne studije; ova studija bi se, u kombinaciji sa instrumentalnim metodama, koristila u postupku formulacije/preformulacije KP emulzionog tipa željenih (unapred definisanih) senzornih karakteristika, a koje bi zadovoljile zahteve savremenog korisnika/potrošača u pogledu kvaliteta i očekivanih estetskih i aplikativnih karakteristika.

Očekuje se da će ispitivanja binarnih i ternarnih sistema sa šećernim emulgatorom Montanov™ 202 omogućiti detaljan uvid u način stabilizacije ovih sistema, čime će biti moguće predvideti ponašanje nosača sa ovim emulgatorom na koži, kao i da će biti standardizovan postupak izrade sistema, koji će zahvaljujući specifičnoj strukturi omogućiti kontrolisano oslobađanje vode, a time i odgovarajući hidratišući efekat dermokozmetičkih emulzija. Predviđa se da ispitivanja bezbednosnog profila uzoraka sa prirodnim APG emulgatorom pokažu povoljne rezultate, kada je u pitanju bezbednost primene, odnosno odsustvo iritacije pri upotrebi. Rezultati ove faze ispitivanja treba da ukažu i na stepen u kome termoanalitičke metode, DSC i TGA, mogu biti od koristi u karakterizaciji novih emulgatora, kao i u predviđanju kontrolisanog oslobađanja vode, tj. vlažećeg efekta ispitivanih formulacija.

Kao rezultat treće faze eksperimentalnog rada, očekuje se razvoj formulacije dermokozmetičke emulzije optimalnih senzornih osobina primenom koncepta reološke, teksturne i senzorne procene, koja će imati vlažeći efekat, potvrđen *in vivo* ispitivanjem efikasnosti. Takođe, očekuje se da fizičko-hemijska karakterizacija sprovedena primenom reoloških merenja, ispitivanjem pH vrednosti i električne provodljivosti pokaže zadovoljavajuću stabilnost ove formulacije. Na osnovu ispitivanja potencijala inkorporiranja kiselih KAS i procene kvaliteta tako formulisanih uzoraka sa salicilnom i glikolnom kiselimo postulira se mogućnost definisanja kompatibilnosti emulzionih nosača sa Montanov™ 202 sa često korišćenim kiselim supstancama. Komparativnom primenom TS metode i tehnika bioinženjeringa kože na dermokozmetičkim emulzijama sa aktivnim supstancama očekuje se, pored potvrde određenih efekata, bolji uvid u način oslobađanja salicilne i glikolne kiseline iz ovog tipa emulzija i procena mogućnosti da se proces oslobađanja ovih KAS kontroliše promenama u sastavu/strukturi nosača.

D. Zaključak

Na osnovu uvida u podatke koje je kandidat Milica Lukić navela u prijavi doktorske disertacije, a posle analize istih, uključujući i cilj, Komisija smatra da je predložena tema doktorske disertacije naučno zasnovana (na osnovu pregleda dostupne literature iz oblasti formulisanja i ispitivanja dermokozmetičkih emulzija, kao i razvoja novih kozmetičkih sirovina). Podaci vezani za razvoj estetski prihvatljivih, bezbednih i efikasnih dermokozmetičkih emulzija ukazuju na potrebu kombinovanog pristupa, odnosno neophodnost istovremene primene različitih metoda ispitivanja i karakterizacije emulzionih sistema u toku njihovog formulisanja. Istraživanja u oblasti novih prirodnih sirovina i savremenih nosača ukazuju na potrebu sveobuhvatnog pristupa u njihovoj karakterizaciji kako bi se razvili nosači odgovarajućih estetskih i aplikativnih osobina, koji mogu uticati na način oslobađanja i delovanje inkorporiranih aktivnih supstanci. Utvrđivanje odnosa između senzornih osobina i određenih instrumentalnih merenja (reološka i teksturna) pruža mogućnost da se rezultati istraživanja primene u razvoju jednostavnijih i jeftinijih metoda za formulisanje emulzija optimalnih karakteristika. Rezultati dobijeni tokom razvoja i karakterizacije nosača sa novim APG emulgatorima, sa posebnim osvrtom na mogućnost primene različitih metoda u ovom postupku, generalno mogu da doprinesu procedurama koje se sprovode tokom formulisanja kvalitetnih i bezbednih nosača sa modifikovanim oslobađanjem aktivne supstance, a važni su i za uvođenje novih kozmetičkih sirovina koje treba da ispune zahteve potrošača i legislative. Shodno navedenom, mišljenje članova Komisije je da je tema doktorske disertacije aktuelna i opravdana. Stoga članovi Komisije predlažu Nastavno-naučnom veću da se Milici Lukić odobri izrada doktorske disertacije pod navedenim naslovom.

Beograd, 13.02.2012. god.

Članovi Komisije:

Dr Snežana Savić, docent

Dr Gordana Vuleta, redovni profesor

Dr Veljko Krstonošić, docent
Medicinski fakultet, Univerzitet
u Novom Sadu

Dr Nebojša Cekić, docent
Tehnološki fakultet, Univerzitet u Nišu

Dr Slobodanka Tamburić, vanredni
profesor
Univerzitet umetnosti u Londonu -
London College of Fashion (*Reader
in Cosmetic Science, Programme
Director Science, School of
Management and Science, London
College of Fashion, University of the
Arts, London*)