

ТЕХНОЛОШКО-МЕТАЛУРШКИ  
ФАКУЛТЕТ  
35/28  
(Број захтева)

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ  
ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ ТЕХНИЧКИХ НАУКА  
(Назив већа научне области и коме се захтев упућује)

13.03.2017.  
(Датум)

## ЗАХТЕВ

за давање сагласности на предлог теме докторске дисертације

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 3. Статута Универзитета у Београду („Гласник Универзитета“, број 131/06), дате сагласност на предлог теме докторске дисертације:

**„Системи са контролисаним отпуштањем лекова засновани на мезопорозној силици и еритроцитним мембранама (Controlled drug delivery systems based on mesoporous silica and erythrocyte membranes)“**

(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ: ТЕХНОЛОШКО ИНЖЕЊЕРСТВО

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

1. Име, име једног од родитеља и презиме кандидата:

КАТАРИНА (Миливоје) БУКАРА, магистар фармације

2. Назив и седиште факултета на коме је стекао основно образовање: Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет.

3. Година дипломирања: 2011.

Обавештавамо Вас да је Наставно-научно веће, на седници одржаној 23.02.2017. године размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

---

Проф. др Ђорђе Јанаћковић

Прилог:

1. Предлог теме докторске дисертације са образложењем
2. Акт надлежног тела факултета о подобности теме за израду докторске дисертације
3. Подаци о ментору.

ДП

На основу чл. 30. став 3. Закона о високом образовању, чл. 40. Статута ТМФ-а и чл. 32. Правилника о докторским студијама ТМФ, на седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета од 23.12.2017. године, донета је

### О Д Л У К А

о прихватању Реферата Комисије за оцену подобности теме и кандидата  
за израду докторске дисертације

Прихвата се Реферат Комисије за оцену подобности теме и кандидата и одобрава израда докторске дисертације КАТАРИНИ БУКАРИ, магистру фармације, под називом: „Системи са контролисаним отпуштањем лекова засновани на мезопорозној силици и еритроцитним мембранама (Controlled drug delivery systems based on mesoporous silica and erythrocyte membranes)“.

Одобрава се студенту да докторски рад пише и брани на енглеском језику.

Одлуку о давању сагласности на предлог теме докторске дисертације доноси Универзитет у Београду.

За менторе се одређују: др Бранко Бугарски, редовни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет и др Filip Kiekens, редовни професор Универзитета у Антверпену, Факултет фармацеутских, биомедицинских и ветеринарских наука.

Одлуку доставити: Универзитету у Београду на сагласност, кандидату, менторима, Служби за наставно студентске послове и архиви Факултета.

Д Е К А Н

Проф. др Ђорђе Јанаћковић

## ПОДАЦИ О МЕНТОРУ

за кандидата Катарина Букара

Име и презиме ментора: Бранко Бугарски

Звање: редовни професор Технолошко-металуршког факултета, Универзитет у Београду

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Bukara K, Drvenica I, Ilić V, Stančić A, Mišić D, Vasić B, Gajić R, Vučetić D, Kiekens F, Bugarski B. 2016. Comparative studies on osmosis based encapsulation of sodium diclofenac in porcine and outdated human erythrocyte ghosts. J Biotechnol. 240:14-22, IF=2.667, ISSN 0168-1656.
2. Bukara K, Schueller L, Rosier J, Martens MA, Daems T, Verheyden L, Eelen S, Van Speybroeck M, Libanati C, Martens JA, Van Den Mooter G, Frérart F, Jolling K, De Gieter M, Bugarski B, Kiekens F. 2016. Ordered mesoporous silica to enhance the bioavailability of poorly water-soluble drugs: Proof of concept in man. Eur J Pharm Biopharm. 108:220-225, IF=3.975, ISSN 0939-6411.
3. Bukara K, Schueller L, Rosier J, Daems T, Verheyden L, Eelen S, Martens JA, Van den Mooter G, Bugarski B, Kiekens F. 2016. In Vivo Performance of Fenofibrate Formulated With Ordered Mesoporous Silica Versus 2-Marketed Formulations: A Comparative Bioavailability Study in Beagle Dogs. 2016. J Pharm Sci. 105(8):2381-2385, IF=2.59, ISSN 1520-6017.
4. Drvenica IT, Bukara KM, Ilić VLj, Mišić DM, Vasić BZ, Gajić RB, Đorđević VB, Veljović ĐN, Belić A, Bugarski BM. 2016. Biomembranes from slaughterhouse blood erythrocytes as prolonged release systems for dexamethasone sodium phosphate. Biotechnol Prog. 32(4):1046-1055, IF=2.167, ISSN 1520-6033.
5. Kostić IT, Ilić VLj, Đorđević VB, Bukara KM, Mojsilović SB, Nedović VA, Bugarski DS, Veljović ĐN, Mišić DM, Bugarski BM. 2016. Erythrocyte membranes from slaughterhouse blood as potential drug vehicles: Isolation by gradual hypotonic hemolysis and biochemical and morphological characterization. Colloids Surf B Biointerfaces. 122:250-259, IF=4.152, ISSN 0927-7765.

Заокружити одговарајућу опцију (А, Б, В или Г):

**А)** У случају менторства дисертације на докторским студијама у групацији техникотехнолошких, природно-математичких и медицинских наука ментор треба да има најмање три рада са SCI, SSCI, AHCI или SCIE листе, као и Math-Net.Ru листе.

**Б)** У случају менторства дисертације на докторским студијама у групацији друштвено-хуманистичких наука ментор треба да има најмање три рада са релевантне листе научних часописа (Релевантна листа научних часописа обухвата SCI, SSCI, AHCI и SCIE листе, као и ERIH листу, листу часописа које је Министарство за науку класификовало као M24 и додатну листу часописа коју ће, на предлог универзитета, донети Национални савет за високо образовање. Посебно се вреднују и монографије које Министарство науке класификује као M11, M12, M13, M14, M41 и M51.)

**В)** У случају израде докторске дисертације према ранијим прописима за кандидате који су стекли академски назив магистра наука ментор треба да има пет радова (референци) које га, по оцени Већа научних области, квалификују за ментора односне дисертације.

**Г)** У случају да у ужој научној области нема квалификованих наставника, приложити одлуку Већа докторских студија о именовању редовног професора за ментора.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Датум: 13.02.2017

М.П.

---

Проф. др Ђорђе Јанаћковић

**UNIVERZITET U BEOGRADU**  
**TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET**  
**NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU**

**Predmet:** Podobnost teme i kandidata **Katarine Bukara, magistra farmacije** za izradu doktorske disertacije.

Odlukom Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta br. 35/502 od 24.11.2016. godine, imenovani smo za članove Komisije za ocenu podobnosti teme i kandidata **Katarine Bukara, magistra farmacije** za izradu doktorske disertacije i naučne zasnovanosti teme pod nazivom:

**Sistemi sa kontrolisanim otpuštanjem lekova zasnovani na mezoporoznoj silici i eritrocitnim membranama**  
**(Controlled drug delivery systems based on mesoporous silica and erythrocyte membranes)**

Na osnovu materijala priloženog uz Zahtev kandidata, Komisija podnosi sledeći

## **REFERAT**

### **1. PODACI O KANDIDATU**

Kandidat **Katarina Bukara**, magistar farmacije, je rođena 23. 02. 1987. godine u Kraljevu, Srbija. Osnovnu školu "Sveti Sava" u Kraljevu završila je 2002. godine kao nosilac Vukove diplome, nakon čega je upisala Medicinsku školu u Kraljevu gde je maturirala 2006. godine, takođe kao nosilac Vukove diplome. Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je školske 2006/2007, na kom je diplomirala 2011. godine sa prosečnom ocenom 9.37. Školske 2011/2012. godine upisala je doktorske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu u Beogradu na smeru Biohemijско inženjerstvo i biotehnologija, pod rukovodstvom dr Branka Bugarskog, redovnog profesora. Na doktorskim studijama je uspešno položila sve ispite predviđene planom i programom sa prosečnom ocenom 10,00; a završni ispit pod naslovom "Mogućnost korišćenja membrana eritrocita iz otpadne klanične krvi kao nosača biološki aktivnih molekula – primer deksametazona" je odbranila sa ocenom 10.

#### **1.1. Stečeno naučno-istraživačko iskustvo**

Od 2011. godine zaposlena je kao istraživač-pripravnik u Inovacionom centru Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerziteta u Beogradu na projektu 'Razvoj novih inkapsulacionih enzimskih tehnologija za proizvodnju biokatalizatora i biološki aktivnih komponenata hrane u cilju povećanja njene konkurentnosti, kvaliteta i bezbednosti' pod rukovodstvom dr Branka Bugarskog, redovnog profesora. Tokom ovog perioda Katarina

Bukara učestvovala je aktivno u saradnji sa Institutom za medicinska istraživanja Univerziteta u Beogradu i Institutom za fiziku, Univerziteta u Beogradu. Školsku 2015/2016 godinu provela je na studentskoj razmeni na Fakultetu farmaceutskih, biomedicinskih i veterinarskih nauka Univerziteta u Antverpenu, Belgija, kao stipendista Evropske komisije za oblast farmaceutske tehnologije. Od 2016. godine učestvuje u projektima farmaceutske kompanije Johnson&Johnson u Belgiji, u departmanu za istraživanje i razvoj parenteralnih i tečnih farmaceutskih oblika.

- Spisak predmeta položenih na doktorskim studijama

| <b>Predmet</b>                                                          | <b>ESPB</b> | <b>Ocena</b> |
|-------------------------------------------------------------------------|-------------|--------------|
| 1. Odabrana poglavlja biohemije-vitamini                                | 5           | 10           |
| 2. Fenomeni prenosa u biološkim sistemima                               | 5           | 10           |
| 3. Hemija fiziološki aktivnih jedinjenja                                | 5           | 10           |
| 4. Bioaktivne materije u kozmetičkim proizvodima                        | 4           | 10           |
| 5. Odabrana poglavlja instrumentalne analize                            | 7           | 10           |
| 6. Odabrana poglavlja projektovanja procesa u biohemijskom inženjerstvu | 5           | 10           |
| 7. Engleski jezik                                                       | /           | 10           |
| 8. Matematička obrada eksperimentalnih podataka                         | 5           | 10           |
| 9. Fizičko-hemijske osnove farmaceutskog inženjerstva                   | 4           | 10           |
| 10. Hemijska kinetika                                                   | 5           | 10           |
| 11. Inženjerstvo ćelije                                                 | 5           | 10           |
| 12. Završni ispit                                                       | 30          | 10           |
| <b>Ukupno</b>                                                           | <b>80</b>   |              |

Spisak objavljenih naučnih radova i saopštenja

Naučni radovi objavljeni u vrhunskim časopisima međunarodnog značaja (**M21**):

1. **Bukara K.**, Schueller L., Rosier J., Martens M. A., Daems T., Verheyden L., Eelen S., Van Speybroeck M., Libanati C., Martens J. A., Van Den Mooter G., Frérart F., Jolling K., De Gieter M., Bugarski B., Kiekens F. (2016) Ordered mesoporous silica to enhance the bioavailability of poorly water-soluble drugs: Proof of concept in man. Eur J Pharm Biopharm, IF=3.975, ISSN 0939-6411.
2. **Bukara K.**, Schueller L., Rosier J., Daems T., Verheyden L., Eelen S., Martens J. A., Van den Mooter G., Bugarski B., Kiekens F. (2016) In Vivo performance of fenofibrate formulated with ordered mesoporous silica versus two marketed formulations:

A comparative bioavailability study in beagle dogs. J Pharm Sci, IF=2.59, ISSN 1520-6017.

3. Drvenica I., **Bukara K.**, Ilić V., Mišić D., Vasić B., Gajić R., Đorđević V., Veljović Đ., Belić A., Bugarski B. (2016) Biomembranes from slaughterhouse blood erythrocytes as prolonged release systems for dexamethasone sodium phosphate. BiotechnolProg, IF=2.167, ISSN 1520-6033.
4. Kostić I., Ilić V., Đorđević V., **Bukara K.**, Mojsilović S., Nedović V., Bugarski D., Veljović Đ., Mišić D., Bugarski B. (2014) Erythrocyte membranes from slaughterhouse blood as potential drug vehicles: Isolation by gradual hypotonic hemolysis and biochemical and morphological characterization. Colloids Surf B Biointerfaces, IF=4.152, ISSN 0927-7765.

Naučni radovi objavljeni u istaknutim časopisima međunarodnog značaja (M22):

1. **Bukara K.**, Drvenica I., Ilić V., Stančić A., Mišić D., Vasić B., Gajić R., Vučetić D., Kiekens F., Bugarski B. (2016) J Biotechnol, Comparative studies on osmosis based encapsulation of sodium diclofenac in porcine and outdated human erythrocyte ghosts. IF=2.667, ISSN 0168-1656.

Naučni radovi objavljeni u međunarodnim časopisima (M23):

1. Kostić I., Ilić V., **Bukara K.**, Mojsilović S., Đurić Z., Drašković P., Bugarski B. (2014) Flow cytometric determination of osmotic behaviour of animal erythrocytes toward their engineering for drug delivery, Hemijska industrija, IF 0.364, ISSN: 2217-7426.

Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u celini (M33):

1. Bukara K., Kostić I., Pravilović R., Kalušević a., Ilić S., Marković V., Bugarski B., Termoprotective effect of maltose on hemoglobin isolated from porcine slaughterhouse blood and outdated human red blood cells, IV International congress "Engineering, Environment and Materials in Processing Industry" Jahorina, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina, 04th- 06th March 2015.
2. Kostić I., Bukara K., Pravilović R., Ilic V., Mojsilović S., Markovic S., Bugarski B., Morphological characterization of erythrocyte membranes derived from bovine and porcine slaughterhouse blood as dexamethasone sodium phosphate carriers, IV International congress "Engineering, Environment and Materials in Processing Industry"

Jahorina, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina, 04th-06th March 2015, ISBN 978-99955-81-17-6.

Saopštenje sa međunarodnih skupova štampana u izvodu **(M34)**:

1. Bukara K., Vladkovic A., Kostic I., Stancic A., Ilic V, Rabasovic M., Pantelic D., Jelenkovic B., Krmpot A., Bugarski B., Two photon excitation fluorescence microscopy analysis of porcine erythrocytes and erythrocyte ghosts, The fifth International School and Conference on Photonics-PHOTONICA 2015. 24-28. August 2015 Belgrade, Serbia. ISBN: 978-86-7306-131
2. Bukara K., Kostic I., Ilic V., Stančić A., Bugarski B., Usage of erythrocyte membranes from slaughterhouse blood as controlled drug delivery systems-example of dexamethasone, Belgrade International Molecular Life Science Conference for Students, 15-18 January 2015, Belgrade, Serbia.
3. Bukara K., Kostic I., Ilic V., Stančić A., Bugarski B., Solid state characterization of maltose-embedded hemoglobin from porcine slaughterhouse blood, Belgrade International Molecular Life Science Conference for Students, 15-18 January 2015, Belgrade, Serbia.
4. Bukara K., Kostić I., Ilić V., Marković S., Lazarević N., Bugarski B., Solid state characterization of maltose-embedded hemoglobin from porcine slaughterhouse blood, Thirteenth Young Researchers Conference – Materials Science and Engineering, December 10-12, 2014, Belgrade, Serbia. ISBN 978-86-80321-30-1
5. Kostić I., Bukara K., Ilić V., Veljović Đ., Bugarski B., Morphology and protein composition of porcine erythrocyte ghosts altered by different buffers, 18th International Microscopy Congress, Prague, Czech Republic 7- 12 September, 2014 ISBN 978-80-260-6720-7
6. Kostić I., Bukara K., Ilić V., Ralević U., Bugarski B., Preparation of erythrocyte ghosts from slaughterhouse blood for AFM observation, 18th International Microscopy Congress, Prague, Czech Republic 7- 12 September, 2014 ISBN 978-80-260-6720-7.
7. Kostić I., Đorđević V., Ilić V., Bukara K., Nedović V., Bugarski B., Novel carriers of active substances derived from porcine slaughterhouse blood, COST ACTION FA 1001 WG1+WG2+WG3 meeting "The nano, micro, macro confluence in food structure for health, wellness and pleasure" Bucharest, Romania, 27-28 February 2014 Editura Academica, ISBN: 978-973-8937-80-2.
8. Kostić I., Bukara K., Ilić V., Bugarski B., Effect of bovine blood storage in slaughterhouses on parameters relevant to hemoglobin isolation, International 57th Meat Industry Conference "Meat and meat products – perspectives of sustainable production" June 10-12, 2013, Belgrade ISBN 978-86-82547-07-5.
9. Kostić I., Bukara K., Ilić V., Mojsilović S., Đorđević V., Isailović B., Veljović Đ., Bugarski B., Scanning electron microscopy observation of erythrocyte ghosts isolated

from slaughterhouse blood by gradual hemolysis, Microscopy Conference, 25-30 August 2013. University of Regensburg, Regensburg, Germany urn:nbn:de:bvb:355-epub-287343

Saopštenje sa skupa nacionalnog značaja štampano u izvodu **(M64)**:

1. Kostić I., Bukara K., Ilić V., Šekularac G., Mišić D., Nedović V., Bugarski B., From meat industry waste to potential active substances carriers: Erythrocyte ghosts from slaughterhouse blood as dexamethasone sodium phosphate carriers, II International Congress of Food Technology, Quality and Safety (Food Tech Congress) Novi Sad, Serbia, 28-30 October 2014, ISBN 978-86 -7994 7994 -041 -4.

## **1.2. Ocena podobnosti kandidata za rad na predloženoj temi**

U svom dosadašnjem radu kandidat Katarina Bukara, magistar farmacije, je postigla značajne rezultate i pokazala visok stepen samostalanosti i sposobnosti za timski naučno-istraživački rad. Položila je sve ispite na doktorskim studijama, kao i završni rad vezan za temu disertacije. Autor je i koautor 6 radova objavljenih u međunarodnim časopisima (četiri rada M21, jedan rad M22 kategorije i jedan rad M23 kategorije), dok je 12 radova predstavljeno na skupovima međunarodnog i nacionalnog značaja (9 saopštenja sa međunarodnih skupova štampanih u izvodu (M34), 2 saopštenja sa međunarodnog skupa štampana u celini (M33) i 1 saopštenje sa skupova nacionalnog značaja štampana u izvodu (M64)). Takođe, tema doktorske disertacije pripada oblasti iz koje je kandidat kao prvi autor objavio dva rada u vrhunskim naučnim časopisima međunarodnog značaja, jedan rad u istaknutom časopisu međunarodnog značaja kao i dva saopštenja na međunarodnim skupovima. Na osnovu izloženog, Komisija smatra da je Katarina Bukara, magistar farmacije, ispunila sve uslove za rad na predloženoj temi doktorske disertacije.

## **2. PREDMET I CILJ NAUČNOG ISTRAŽIVANJA:**

Obzirom da slaba rastvorljivost lekova kao i učestala neželjena dejstva predstavljaju glavne probleme u njihovom razvoju, pojavljuje se potreba za sistemima sa kontrolisanim otpuštanjem koji omogućavaju bolju kontrolu nivoa leka u plazmi, manju frekvencu doziranja, manje neželjenih efekata, povećanu efikasnost i konstantno oslobađanje. Kao model supstance odabrana su dva leka (diklofen i fenofibrat) koji su zbog svoje efikasnosti lekovi prvog izbora u patološkim stanjima za koja su indikovani, pa su stoga u širokoj upotrebi.

Fenofibrat je visokolipofilni lek koji se koristi da normalizuje nivo lipoproteina niske gustine i holesterola u krvi kod pacijenata sa hiperholesterolemijom i hipertrigliceridemijom (**Guay et al. 1993, Genest et al. 2000**). Kao tipičan predstavnik jedinjenja klase 2 Biofarmaceutskog klasifikacionog sistema ( $\log p = 5.24$ ), praktično je nerastvoran u vodi i fiziološkim tečnostima (**Ming-Thau et al, 1994**). Njegova nedovoljna apsorpcija iz vodene sredine gastrointestinalnog trakta ima za posledicu veoma niske koncentracije leka u sistemske cirkulaciji nakon oralne primene (**Guay et al. 1993**). Stoga, biološka raspoloživost fenofibrata može biti povećana povećanjem rastvorljivosti (**Yousaf et al. 2015**). Iako je poslednjih godina upotrebljeno nekoliko konvencionalnih tehnika kao što su mikro- i nanonizacija, lipozomi, razni polimerni nanočestični sistemi i formulacije zasnovane na lipidima da se poveća biološka raspoloživost fenofibrata, broj ovih proizvoda na tržištu je ostao veoma ograničen.

Uređena mezoporozna silika sa porama veličine 4 do 10 nm, velikim specifičnim volumenom pora (oko  $1 \text{ cm}^3/\text{g}$ ) i velikom površinom (oko  $1000 \text{ m}^2/\text{g}$ ) omogućava dobro punjenje lekom i povećanje njegove rastvorljivosti (**Van Speybroeck et al. 2009**). Princip povećanja rastvorljivosti zasnovan je na adsorpciji leka za površinu nosača do molekulskog nivoa (**Mellaerts et al. 2007**). Obzirom da je preraspodela leka po površini mezoporozne silike povezana sa supresijom kristalizacije adsorbovanih molekula, ovaj nosač je odličan stabilizator za amorfne aktivne supstance (**Van Speybroeck et al. 2007**). Kada se izlože vodi, adsorbovani molekuli leka su u kompeticiji za hidrofilnu površinu silike i bivaju oslobođeni iz pora. Posledično, u ovom rastvorenom stanju oni postaju dostupni za apsorpciju u gastrointestinalnom traktu (**Kiekens et al. 2011**).

Natrijum diklofenak je moćan nesteroidni antiinflamatorni lek sa analgetskim i antipiretskim efektima. Međutim, zbog njegove fizičko-hemijske aktivnosti na želudačnoj sluzokoži (**Oddsson et al. 1990**) i inflamatornog efekta na tankom i debelom crevu (**Carson et al. 1990, Witham et al. 1991**), smatra se faktorom rizika za relativno visoku incidencu gastrointestinalnih neželjenih efekata. Zbog pomenutih neželjenih efekata i kratkog poluvremena eliminacije (**Todd et al. 1988**), natrijum diklofenak je idealan kandidat za sisteme sa kontrolisanim otpuštanjem sa ciljem da se održi terapijska aktivnost, redukuju toksični efekti i poboljša komplijansa pacijenata (**Krajišnik et al. 2013**).

Inkapsulacija lekova u eritrocite i eritrocitne membrane je jedan od najobećavajućih terapijskih alternativnih pristupa u administraciji toksičnih i lekova sa kratkim poluvremenom eliminacije (**Borgeaux et al. 2016**). Tokom procesa postepenog smanjenja jonske jačine rastvora koji okružuje eritrocite, eritrociti bubre i hemoglobin izlazi u spoljašnju sredinu ostavljajući intaktne eritrocitne membrane (**Danon et al 1961, Stojanović et al. 2012**). Za vreme hipotonične hemolize na eritrocitnim membranama se pojavljuju otvori veličine 20-50 nm koji omogućavaju da se lek iz ekstracelularne sredine inkapsulira kroz ove pore (**Fun et al. 2012**).

Mnogi hemijski sintetisani i prirodni nosači kao što su fosfolipidni lipozomi (**Lopes et al. 2004**), natrijum alginatne čestice (**Kulkarni et al. 1999**), PLGA nanočestice (**Cooper et al. 2014**), silika-

hitozan kompoziti (**Kozakevych et al. 2013**), čvrste lipidne nanočestice (**Liu et al. 2014**) itd. su korišćeni za dizajniranje sistema sa kontrolisanim otpuštanjem za natrijum diklofenak. Međutim, hemija površine pomenutih nosača suštinski se razlikuje od hemije ćelijske membrane (**Mao et al. 2012**). Studije sprovedene na lipozomima su pokazale da se natrijum diklofenak zbog svoje površinske aktivnosti može inkorporirati u membrane narušavajući lipidni sastav što za posledicu ima solubilizaciju strukture (**Lopes et al. 2004**). S druge strane, eritrocitna membrana koja je mnogo složenija nego lipozomalna i takođe interaguje sa natrijum diklofenakom ali bez disrupcije (**Suwalsky et al. 2009**), mogla bi biti prirodna alternativa pružajući potencijalne prednosti u odnosu na lipozome.

### **Naučni cilj:**

Sa ciljem da se ispita moguća primena uređene mezoporozne silike kao nosača za slabo rastvorni lek fenofibrat, istraživanja u okviru ove teze biće usmerena ka ispitivanju *in vitro* i *in vivo* performansi proizvedene formulacije. Kapsule dobijene nakon punjenja mezoporozne silike fenofibratom metodom vlažne impregnacije poređiće su sa komercijalno dostupnim proizvodima u pretkliničkoj i kliničkoj studiji. Pored toga, studije stabilnosti obuhvatiće evaluaciju *in vitro* oslobađanja i odsustva kristalizacije u periodu od 6 meseci pod različitim uslovima.

U drugom delu teze ispitaće se mogućnost primene eritrocitnih membrana poreklom iz svinjske otpadne klanične krvi i prestarele humane krvi kao sistema sa kontrolisanim otpuštanjem za natrijum diklofenak. Nakon razvijenog procesa inkapsulacije koji se zasniva na gradualnoj hipotoničnoj hemolizi, evaluacija ovog inovativnog sistema sa kontrolisanim otpuštanjem obuhvatiće ispitivanje prirode fizičko-hemijske interakcije između leka i nosača, detekciju promena na površini membrane kao i promenu morfoloških svojstava i veličine, promene u naelektrisanju i provodljivosti, *in vitro* oslobađanje i stepen prečišćenosti finalnih membrana.

### **3. POLAZNE HIPOTEZE**

1. Slaba rastvorljivost lekova u vodi i fiziološkim tečnostima uzrokuje nedovoljnu apsorpciju leka iz vodene sredine gastrointestinalnog trakta što za posledicu ima nisku sistemsku izloženost nakon oralne administracije. Dakle, biološka raspoloživost fenofibrata kao slabo rastvornog leka bi mogla biti poboljšana povećanjem njegove rastvorljivosti u vodi.
2. Uređena mezoporozna silika predstavlja obećavajuću strategiju za povećanje rastvorljivosti lekova i njena efikasnost je već opisana u literaturi na brojnim primerima kao što su: atanazavir, karvedilol, celekoksib, ezetimib, itrakonazol itd...

3. Sposonost mezoporozne silike da poboljša profil rastvorljivosti fenofibrata u biorelevantnom medijumu je već opisana u literaturi, međutim biofarmaceutske performanse ovog sistema nikada nisu ispitane in vivo.
4. Natrijum diklofenak je zbog svojih ozbiljnih neželjenih dejstava i kratkog bioloskog poluvremena idealan kandidat za sisteme sa kontrolisanim otpustanjem.
5. Eritrocitne membrane, cija je primena vec opisana na primeru deksametazona, bi mogle biti alternativa konvencionalnim nosacima kao sto su lipozomi, alginatne cestice, nanocestice bazirane na pololaktid koglikolidnom polimeru, silika-hitozan kompozitima ili cvrstim lipidnim nanocesticama.
6. Upotreba eritrocitnih membrana iz otpadne klanicne i prestarele humane krvi predstavlja koristan pristup u razvoju sistema sa kontrolisanim otpustanjem natrijum diklofena koji bi istovremeno resio problem skladistenja ovog materijala koji se generalno smatra otpadom.

Detaljan pregled literature potvrđuje da su prikazane polazne hipoteze i planirano istraživanje u trendu sa globalnim aktivnostima u nauci.

Spisak literature:

Najvažniji literaturni podaci koji podržavaju temu su:

1. Guay D. 1993. Micronized fenofibrate: a new fibric acid hypolipidemic agent. *Ann Pharmacoter* 33(10):1083-1103.
2. Genest J. J., Nguyen N. H., Theroux P., Davignon J., Cohn J. S. 2000. Effect of micronized fenofibrate on plasma lipoprotein levels and hemostatic parameters on hypertriglyceridemic patients with low levels of high density lipoprotein cholesterol in the fed and fasted state. *J CardiovascPharmacol* 35(1):164-172.
3. Ming-Thau S., Ching-Min Y., Sokoloski T. D. 1994. Characterization and dissolution of fenofibrate solid dispersion systems *Int J Pharm* 103(2):137-146.
4. Yousaf A. M., Kim D. W., Oh Y. K., Yong C. S., Kim Y. O., Choi H. G. 2015. Enhanced oral bioavailability of fenofibrate using polymeric nanoparticulated systems: physicochemical characterization and in vivo investigation. *Int J Nanomed* 10:1819-1830.
5. Van Speybroeck M., Bariallaro V., Do Thi T., Mellaerts R., Martens J., Van Humbeeck J., Vermant J., Annaert P., Van den Mooter G., Augustijns P. 2009. Ordered mesoporous silica material SBA-15: A broad spectrum formulation platform for poorly soluble drugs. *J Pharm Sci* 98:2648-2658.
6. Mellaerts R., Aerts C. A., Van Humbeeck J., Augustijns P., Van den Mooter G., Martens J. 2007. Enhanced release of itraconazole from ordered mesoporous SBA-15 silica materials. *ChemCommun* 13:1375-1377.

7. Kiekens F., Eelen S., Verheyden L., Daems T., Martens J., Van den Mooter G. 2011. Use of ordered mesoporous silica to enhance the oral bioavailability of ezetimibe in dogs. *J Pharm Sci* 101:1136-1144.
8. Oddsson E., Gudjonsson H., Thjodleifsson B. 1990. Endoscopic findings in the stomach and duodenum after treatment with enteric-coated and plain naproxen tablets in healthy subjects. *Scand J Gastroenterol* 25:231–234.
9. Carson J., Notis W. M., Orris E. S. 1990. Colonic ulceration and bleeding during diclofenac therapy. *Engl J Med* 323:135.
10. Witham R. 1991. Voltaren (diclofenac-sodium)-induced ileocolitis. *J Gastroenterol* 86:246–247.
11. Todd P. A., Sorkin E. M. 1988. Diclofenac sodium. A reappraisal of its pharmacodynamics and pharmacokinetic properties and therapeutic efficiency. *Drugs* 35:244–285.
12. Krajišnik D., Daković A., Malenović A., Rakić M. M., Dondur V., Radulović Ž. , Milić J. 2013. Investigation of adsorption and release of diclofenac sodium by modified zeolite composites. *Appl Clay Sci* 83-84:322-326.
13. Borgeaux V., Lanao M. J., Bax B. E., Godfrin Y. 2016. Drug loaded erythrocytes: on the road toward marketing approval. *Drug Design, Development and Therapy* 10: 665-676.
14. Stojanović R., Ilić V., Manojlović V., Bugarski D., Dević M., Bugarski B. 2012. Isolation of hemoglobin from bovine erythrocytes by controlled hemolysis in the membrane bioreactor. *ApplBiochemBiotechnol* 166:1491-1506.
15. Danon, D. (1961). Osmotic hemolysis by a gradual decrease in the ionic strength of the surrounding medium. *Journal of Cell and Comparative Physiology*, 57, 111-117.
16. Fun W., Yan W., Hu Z., Ni H. 2012. Erythrocytes load of low molecular weight chitosan nanoparticles as a potential vascular drug delivery system. *Colloids Surf B* 95:258-265.
17. Lopes L. B., Scarpa M. V., Silva G. V. J., Rodrigues D. C., Santilli C. V., Oliviera A. G. 2004. Studies on the encapsulation of diclofenac in small unilamellar liposomes of soya phosphatidylcholine. *Colloids Surf B* 39:151-158.
18. Kulkarni A. R., Kumares S., Soppimath, Aminabhavi T. M. 1999. Controlled release of diclofenac sodium from sodium diclofenac beads crosslinked with glutaraldehyde. *Pharm ActaHelv* 74:29-36.
19. Cooper D. L., Harirforoosh S. 2014. Design and optimization of PLGA-based diclofenac loaded nanoparticles. *Plos One* 9.
20. Kozakevych R. Z., Bolbykh Y. M., Tertykh V. A .2013. Controlled release of diclofenac sodium from silica-chitosan composites. *World Journal of nanoscience and engineering* 3:69-78.

21. Liu D., Chen L., Jiang S., Zhu S., Quian Y., Wang F., Li R., Xu Q. 2014. Formulation and characterization of hydrophilic drug diclofenac sodium-loaded solid lipid nanoparticles based on phospholipid complexes technology. *J Liposome Res* 24:17-26.
22. Mao Z., Cartier R., Hohl A., Farinacci M., Dorhoi A., Nguyen T. L., Mulvaney P., Ralston J., Kaufmann S. H. E., Möhvald H., Wang D. 2011. Cells as factories for humanized encapsulation. *Nano Lett* 11:2152-2156.
23. Suwalsky M., Manrique M., Villena F., Sotomayor C. P. 2009. Structural effects in vitro of the antiinflammatory drug diclofenac on human erythrocytes and molecular models on cell membranes. *BiophysChem* 141:34-40.

#### 4. NAUČNE METODE

Punjenje mezoporozne silike fenofibratom biće izvedeno u automatskom granulatoru metodom vlažne impregnacije incipijenta dok sadržaj leka ne dostigne 29%. Fenofibrat će finalno biti formulisan kao kapsula i biće ispitivan u pretkliničkoj i kliničkoj studiji.

Korak 1: Dve vrste kapsula sa različitim sadržajem fenofibrata (33.5 i 16.75 mg) će biti poređene sa dva referentna sistema Lipanthyl<sup>®</sup> (fenofibrat mikrokristali) i Tricor<sup>®</sup> (fenofibrat nanokristali) u smislu *in vitro* oslobađanja i systemske izloženosti fenofibratu i njegovom metabolitu nakon oralne primene kod Bigl pasa. Farmakokinetički parametri koji će biti procenjivani nakon pojedinačne doze kod četiri životinje su:

- $C_{max}$ -maksimalna koncentracija detektovana u plazmi
- $C_{last}$ -poslednja merljiva koncentracija u plazmi
- $t_{max}$ -vremenska tačka u kojoj je dostignut maksimum koncentracije
- $t_{last}$ -vremenska tačka poslednje merljive koncentracije
- $AUC_{last}$ -površina ispod krive plazma koncentracija-vreme od momenta uzimanja leka pa do poslednje merljive koncentracije, računata metodom trapezoida (za lek i njegov metabolit)
- $AUC_{\infty}$ - površina ispod krive plazma koncentracija-vreme od momenta uzimanja leka pa do beskonačnosti, računata kao  $AUC_{last} + C_{last}/\lambda_z$ , gde je  $C_{last}$  poslednja merljiva koncentracija
- $\lambda_z$ -konstanta eliminacije, određena linearnom regresijom terminalnih tačaka na lineranoj koncentracija-vreme krivoj
- $t_{1/2}$ -poluvreme eliminacije, računato kao  $\ln(2)/\lambda_z$ .

Studije stabilnosti će obuhvatiti procenu *in vitro* oslobađanja i odsustva kristalizacije metodom deferencijalne skenirajuće kalorimetrije nakon jednog, dva i šest meseci čuvanja na 25 °C/60% relativne vlažnosti i na 40 °C/75% relativne vlažnosti.

Korak 2: Sa ciljem da se ispita potencijal uređene mezoporozne silike da poboljša bioraspoloživost fenofibrata kod ljudi, sprovede se otvorena, randomizovana, kros-over klinička studija. Dvanaest zdravih volontera će primiti pojedinačnu dozu fenofibrata formulisanog sa mezoporoznom silikom a tretman će biti poređen sa komercijalnim preparatom Tricor® (fenofibrat nanokristali). Plazma koncentracije fenofibrinske kiseline, farmakološki aktivnog metabolita fenofibrata, biće praćene do 96 sati nakon doziranja. Da bi se utvrdio stepen i obim apsorpcije fenofibrata procenjivaće se isti farmakokinetički parametri kao u gore nevedenoj prekliničkoj studiji.

Inkapsulacija amfifilnog jedinjenja natrijum diklofenaka u eritrocitne duhove poreklom iz svinjske otpadne klanične krvi i prestarele humane krvi biće izvedena procesom gradualne hipotonične hemolize. Polazni eritrociti, prazni eritrocitni duhovi i duhovi u koje je inkapsuliran natrijum diklofenak će biti poređeni u smislu efikasnosti inkapsulacije, profila oslobađanja leka, raspodele veličine, površinskog naelektrisanja, provodljivosti, površinske hrapavosti i morfologije.

- Priroda hemijske interakcije između leka i membrane biće ispitana primenom infracrvene spektroskopije sa Furijeovom transformacijom.
- Efikasnost inkapsulacije i profil oslobađanja natrijum diklofenaka će se utvrditi metodom tečne hromatografije ultravisokih performansi kuplovane sa masenim spektrometrom.
- Efekat natrijum diklofenaka na hemolizu i efluks kalijuma utvdiće se cijanomethemoglobinskom metodom i jon selektivnom elektrodom, respektivno.
- Površinsko naelektrisanje i provodljivost eritrocita, praznih duhova i inkapsuliranih duhova biće utvrđena primenom zetasajzera.
- Raspodela veličine eritrocita, praznih duhova i inkapsuliranih duhova ispitaće se primenom metode zasnovane na dinamičnom rasipanju svetlosti.
- Hrapavost površine praznih duhova i duhova sa lekom biće određena primenom mikroskopije atomskih sila. Ova tehnika će otkriti i morfološke promene eritrocita prouzrokovane gradualnom hipotoničnom hemolizom i procesom inkapsulacije.
- Stepem prečišćenosti praznih duhova koji se postiže primenjenim procesom proizvodnje će biti procenjen dvofotonskom mikroskopijom zasnovanom na autofluorescenciji hemoglobina.

## **5. OČEKIVANI NAUČNI DOPRINOS**

Očekivani naučni doprinosi predložene doktorske disertacije su:

- Povećanje rastvorljivosti fenofibrata u vodi i posledično poboljšanje biološke raspoloživosti kod životinja i ljudi korišćenjem mezoporozne silike kao nosača.
- Sticanje uvida u farmakokinetički profil fenofibrata i njegovog farmakološki aktivnog metabolita fenofibrinske kiseline nakon oralne administracije formulacije sa mezoporoznom silikom.
- Razvijena formulacija bi mogla naći primenu u terapiji hiperholesterolemije i hipetrigliceridemije.
- Razvoj procesa inkapsulacije natrijum diklofenaka u eritrocitne membrane zasnovanog na gradualnoj hipotoničnoj hemolizi.
- Sticanje uvida u fizičko-hemijske karakteristike inkapsuliranih membrana.
- Razvijen sistem sa kontrolisanim otpuštanjem bi uz dalja usavšavanja mogao da doprinese smanjenju neželjenih efekata natrijum diklofena s jedne strane, a s druge strane bi se rešio problem skladištenja otpadne klanične i prestarele humane krvi koje se generano smatraju otpadom.

## 6. PLAN I STRUKTURA RADA

Predmet rada ove doktorske disertacije obuhvata razvoj dva sistema sa kontrolisanim otpuštanjem lekova zasnovanih na mezoporoznoj silici i eritrocitnim membranama.

Rad će obuhvatiti sledeća poglavlja: *Uvod*, *Teorijski deo*, *Eksperimentalni deo*, *Rezultati i Diskusija*, *Zaključak* i *Literatura*.

*Uvod* će obuhvatiti cilj rada i predmet istraživanja, kao i naučni doprinos disertacije.

*Teorijski deo* obuhvatiće detaljan pregled dosadašnjih istraživanja u ovoj oblasti kroz analizu dostupne literature.

*Eksperimentalni deo* će obuhvatiti detaljan prikaz svih metoda korišćenih u procesu optimizacije ekstrakcije, kao i svih primenjenih metoda u utvrđivanju dozno-zavisnog odgovora u modelu eksperimentalne hipertenzije.

U poglavlju *Rezultati i diskusija*, svi rezultati do kojih se bude došlo biće adekvatno sumirani, detaljno analizirani i prodiskutovani.

U poglavlju *Zaključak* biće prikazani najvažniji zaključci do kojih je kandidat došao u toku izrade ove doktorske disertacije, uz osvrt na njihovu inovativnost, važnost i potencijalnu primenu.

U poglavlju *Literatura* biće prikazani svi radovi citirani u disertaciji, kao i radovi proistekli tokom izrade ove doktorske disertacije.

## 7. ZAKLJUČAK I PREDLOG

Na osnovu iznetih podataka Komisija smatra da je tema predložene doktorske disertacije kandidata Katarine Bukara, magistra farmacije, „Sistemi sa kontrolisanim otpuštanjem lekova zasnovani na mezoporoznoj silici i eritrocitnim membranama” (”Controlled drug

delivery systems based on mesoporous silica and erythrocyte membranes’’) naučno zasnovana i predlaže Nastavno-naučnom veću da je prihvati. Za mentore se predlažu dr Branko Bugarski, redovni profesor Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu i dr Filip Kiekens, redovni profesor Fakulteta farmaceutskih, biomedicinskih i veterinarskih nauka Univerziteta u Antverpenu. Istraživanja u okviru ove doktorske disertacije pripadaju naučnoj oblasti tehnološko inženjerstvo, užoj naučnoj oblasti Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija, za koju je matičan Tehnološko-metalurški fakultet, Univerziteta u Beogradu. Doktorska disertacija će se pisati i braniti na engleskom jeziku.

U Beogradu, 28.01.2017.

#### ČLANOVI KOMISIJE:

---

Dr Branko Bugarski, red. prof. Univerziteta u Beogradu,  
Tehnološko-metalurški fakultet

---

Dr Filip Kiekens, red. Prof. Univerziteta u Antverpenu,  
Fakultet farmaceutskih, biomedicinskih i veterinarskih  
nauka

---

Dr Vesna Ilić, naučni savetnik Univerziteta u Beogradu,  
Institut za medicinska istraživanja

---

Dr Verica Đorđević, viši naučni saradnik Univerziteta u  
Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

---

Dr Nenad Lazarević, naučni saradnik Univerziteta u  
Beogradu, Institut za fiziku

---

Dr Zorica Knežević-Jugović, red. prof. Univerziteta u  
Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

