

ТЕХНОЛОШКО-МЕТАЛУРШКИ
ФАКУЛТЕТ
35/82
(Број захтева)

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

14.03.2019.
(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:

„Раманова спектроскопија фармаколошки активних супстанци и биокатализатора“
(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ: ТЕХНОЛОШКО ИНЖЕЊЕРСТВО

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

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

ЈАСМИНА (Јован) ЛАЗАРЕВИЋ, дипломирани фармацевт

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

3. Година дипломирања: 2011.

4. Назив и седиште факултета на коме је стекао мастер образовање: /

5. Година дипломирања: /

Студент је уписан на докторске академске студије школске **2013/2014.** године.

Обавештавамо Вас да је **Наставно-научно веће,** на седници одржаној **07.03.2019. године** размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Петар Ускоковић

Прилог:

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

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ

за кандидата Јасмину Ј. Лазаревић

Име и презиме ментора: Бранко Бугарски

Звање: редовни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Bukara K., Schueller L., Rosier J., Daems T., Verheyden L., Eelen S., Martens J.A., Van den Mooter G., **Bugarski B.**, Kiekens F.: In vivo performance of fenofibrate formulated with ordered mesoporous silica versus 2-marketed formulations: a comparative bioavailability study in beagle dogs, *Journal of pharmaceutical sciences*, 105(8), 2381-2385.
IF: 2.713, ISSN: 0022-3549
2. Drvenica IT., Bukara KM., Ilić VLj., Mišić DM., Vasić BZ., Gajić RB., Đorđević VB., Veljović ĐN., Belić A., **Bugarski BM.**: Biomembranes from slaughterhouse blood erythrocytes as prolonged release systems for dexamethasone sodium phosphate, *Biotechnology progress*, 32(4), 1046-1055.
IF: 1.986, ISSN: 8756-7938
3. Trivanović D., Drvenica I., Kukolj T., Obradović H., Okić Djordjević I., Mojsilović S., Krstić S., **Bugarski B.**, Jauković A., Bugarski D.: Adipoinductive effect of extracellular matrix involves cytoskeleton changes and SIRT1 activity in adipose tissue stem/stromal cells, *Artificial cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, DOI:10.1080/21691401.2018.1494183.
IF: 3.026, ISSN: 2169-1401 (Print), 2169-141X (Electronic).
4. Bukara K., Jovanić S., Drvenica IT., Stančić A., Ilić V., Rabasović MD., Pantelić D., Jelenković B., **Bugarski B.**, Krmpot AJ.: Mapping of hemoglobin in erythrocytes and erythrocyte ghosts using two photon excitation fluorescence microscopy, *Journal of Biomedical Optics*, 22(2), 026003.
IF: 2.367, ISSN: 1083-3668 (Print), 1560-2281 (Online).
5. Bukara K., Drvenica I., Ilić V., Stančić A., Mišić D., Vasić B., Gajić R., Vučetić D., Kiekens F., **Bugarski B.**: Comparative studies on osmosis based encapsulation of sodium diclofenac in porcine and outdated human erythrocyte ghosts, *Journal of biotechnology*, 240, 14-22.
IF: 2.599, ISSN: 0168-1656.

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

А) У случају менторства дисертације на докторским студијама у групацији техничкотехнолошких, 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: 21.02.2019.

М.П.

Проф. др Петар Ускоковић

ДП

На основу чл. 40. став 3. Закона о високом образовању, чл. 112. став 3. Статута Универзитета у Београду, чл. 88. став 3. Статута ТМФ-а и чл. 31. и 32. Правилника о докторским студијама ТМФ-а, на седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета од 07.03.2019. 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 **Јасмини Лазаревић**, дипломираном фармацеуту, под називом: **„Раманова спектроскопија фармаколошки активних супстанци и биокатализатора“**.

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

За ментора се одређује др Бранко Бугарски, редовни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет.

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

Д Е К А Н

Проф. др Петар Ускоковић

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

Предмет: Подобност теме и кандидата **Јасмине Ј. Лазаревић** за израду докторске дисертације

Одлуком бр. 35/37 од 31.1.2019. године, именовани смо за чланове Комисије за оцену подобности теме и кандидата **Јасмине Ј. Лазаревић** за израду докторске дисертације и научне заснованости теме под називом **„Раманова спектроскопија фармаколошки активних супстанци и биокатализатора“**.

На основу материјала приложеног уз Захтев кандидата, као и на основу личног познавања кандидата и увида у њен рад и публикације, Научно-наставном већу Технолошко-металуршког факултета, Универзитета у Београду подносимо:

Р Е Ф Е Р А Т

1. Подаци о кандидату

1.1. Биографски подаци

Јасмина Ј. Лазаревић је рођена 05.10.1985. године у Београду. Основну школу и гимназију завршила је у Зрењанину. Школске 2004/2005. године уписала је основне академске студије на Фармацеутском факултету Универзитета у Београду, смер дипломирани фармацеут. Дипломирала је у априлу 2011. године са радом под називом „Примена раманске спектроскопије у фармацији“. Након обавезног једногодишњег приправничког стажа (Апотека Београд, апотека специјалне болнице за плућне болести Др Васа Савић, Зрењанин) и положеног стручног испита за фармацеуте, школске 2012/2013. године запослена је као сарадник у настави на Катедри за аналитичку хемију Фармацеутског факултета Универзитета у Београду, где је ангажована на припреми и извођењу практичне наставе и пратећих активности на неколико обавезних и изборних предмета. Докторске академске студије уписала је на Технолошко-металуршком факултету Универзитета у Београду школске 2013/2014. године, студијски програм Биохемијско инжењерство и биотехнологија, које и даље похађа. Положила је све испите предвиђене планом и програмом. Научноистраживачку активност започела је децембра 2013. године у Иновационом центру Технолошко-металуршког факултета, ангажовањем на пројекту Министарства просвете, науке и технолошког развоја под бројем ИИИ 46010 „Развој нових инкапсулационих ензимских технологија за производњу биокатализатора и биолошки активних компонената хране у циљу повећања њене конкурентности, квалитета и безбедности“. Од 1. маја 2018. запослена је у Центру за физику чвртог стања и нове

материјале Института за физику у Београду као истраживач сарадник, у оквиру истог пројекта.

Област научноистраживачког рада Јасмине Ј. Лазаревић је примена вибрационе спектроскопије, нарочито Раманове спектроскопије, у анализи фармаколошки активних супстанци и биолошких/биотехнолошких узорака.

1.2. Стечено научноистраживачко искуство

Јасмина Ј. Лазаревић, дипломирани фармацеут, научноистраживачки рад започела је 2013. године у Иновационом центру Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду у оквиру пројекта под бројем ИИИ 46010, под руководством проф. др Бранка Бугарског (сада проф. др Зорице Кнежевић-Југовић). Од 2018. активност је настављена у Институту за физику у Београду. Од самог почетка, кандидат се оријентисала ка Рамановој спектроскопији, као једној од моћних аналитичких метода данашњице, са акцентом на примени на фармаколошким/биолошким системима. Кандидат је до сада показала висок степен самосталности, иновативност и озбиљност у раду.

У оквиру докторских студија, положила је 12/12 испита предвиђених планом и програмом, са просечном оценом 10.00 и освојених 81 ЕСПБ. Октобра 2014. године одбранила је Завршни испит под називом „Развијање инструменталне методе-вибрационе спектроскопије у циљу идентификације биокатализатора“ пред Комисијом у саставу: др Бранко Бугарски, редовни професор Технолошко-металуршког факултета у Београду, др Зорица Кнежевић-Југовић, редовни професор Технолошко-металуршког факултета и др Рада Пјановић, ванредни професор Технолошко-металуршког факултета.

Положени испити на докторским студијама:

Редни број	Назив предмета	ЕСПБ	Оцена
1.	Математичка обрада експерименталних података	5	10
2.	Инжењерство ћелије	5	10
3.	Одабрана поглавља инструменталне анализе	7	10
4.	Биоактивне материје у козметичким производима	4	10
5.	Одабрана поглавља биохемије-витамини	5	10
6.	Биохемијска кинетика	5	10
7.	Енглески језик-допунски испит		
8.	Одабрана поглавља пројектовања процеса у биохемијском инжењерству	5	10
9.	Феномени преноса у биолошким системима	5	10
10.	Хемијска кинетика	5	10
11.	Хемија физиолошки активних једињења	5	10
12.	Завршни испит	30	10
		Укупно: 81	Просечна оцена: 10.00

Објављени научни радови и саопштења:

Рад у врхунском међународном часопису (M21)

- **Lazarević J.J.**, Kukolj T., Bugarski D., Lazarević N., Bugarski B., Popović Z.V.: *Probing primary mesenchymal stem cells differentiation status by micro-Raman spectroscopy*, - Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, Vol 213, 2019, pp 384–390.
IF 2.880, doi.org/10.1016/j.saa.2019.01.069.

Рад у истакнутом међународном часопису (M22)

- **Lazarević J.J.**, Uskoković-Marković S., Jelikić-Stankov M., Radonjić M., Tanasković D., Lazarević N., Popović Z.V.: *Intermolecular and low-frequency intramolecular Raman scattering study of racemic ibuprofen*, -Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, Vol 126, 2014, pp 301–305.
IF 2.653, doi.org/10.1016/j.saa.2014.01.135.

Саопштење на међународном скупу штампано у изводу (M34)

- **Lazarević Jasmina J**, Kukolj Tamara, Bugarski Diana, Lazarević Nenad, Popović Zoran V. and Bugarski Branko, Fourteenth Young Research Conference - Material Science and Engineering: Program and Book of Abstracts, 2015, 6, isbn: 978-86-80321-31-8.

1.3. Оцена подобности кандидата за рад на предложеној теми

Оствареним резултатима на докторским студијама и научноистраживачком активношћу која је резултовала објављеним радовима у врхунском и истакнутом међународном часопису и једним припремљеним научним чланком који је на рецензији, Јасмина Ј. Лазаревић показала је способност за научноистраживачки рад. У проналажењу литературе, креирању методологије и динамике истраживања, демонстрирала је висок степен самосталности и савесно је обављала поверене задатке. На основу биографских података кандидаткиње, истраживачких способности и објављених научних радова, Комисија сматра да је Јасмина Ј. Лазаревић подобна за ефикасан научноистраживачки рад на предложеној теми.

2. Предмет и циљ истраживања

Развојем медицине и фармације расте потреба за новим аналитичким техникама које би омогућиле брзу, поуздану и исплативу карактеризацију анализата без додатне припреме узорка. Због својих особина, Раманова спектроскопија намеће се као метода избора. Иако је од открића Рамановог ефекта на ком се ова метода заснива прошло 90 година, тек конструкцијом савремених спектрометара, ласера и детектора долази до имплементације методе у протоколе различитих истраживачких лабораторија које се баве испитивањем узорка хетерогеног порекла. Ипак, за тако дуг временски период, због своје комплексности, Раманова спектроскопија није успела да нађе пут до рутинске клиничке примене. Управо се на овоме интензивно ради у последњих двадесетак година, јер због низа предности које има (брза, неинвазивна, недеструктивна, не захтева посебну припрему узорка и погодна је за

испитивање свих агрегатних стања), Раманова спектроскопија заслужује стално место у клиникама и референтним лабораторијама.

Полиморфизам је особина чврстих супстанци да постоје у два или више кристалних облика, тј. да могу имати различите групе симетрије. Сматра се да више од 50% фармаколошки активних супстанци (и ексципијенаса) постоји у више од једног кристалног облика. Последице полиморфизма су различите физичко-хемијске карактеристике, као што су растворљивост, физичка и хемијска стабилност, хигроскопност итд. То се директно одражава како на технолошки поступак израде фармацеутског облика, тако и на последичну биорасположивост и фармакодинамику. Из тог разлога је неопходно извршити адекватну карактеризацију фармаколошки активне супстанце још у преформулационој фази. Познато је да код различитих полиморфних облика може доћи до малих промена положаја и/или интензитета раманских мода у високоенергетском делу спектра, који представља интрамолекулске вибрације, а услед пертурбације електронске структуре молекула окружењем. Међутим, на примеру ибупрофена, фокусираћемо се на нискоенергетски део Рамановог спектра, где очекујемо појаву вибрационих мода услед интермолекулских интеракција које су у директној вези са кристалном структуром.

Ћелије и ткива поседују специфичне динамичке биохемијске маркере и молекулску структуру. Оптичка спектроскопија, која повезује биохемијски састав, молекулску структуру и њихове варијације са дијагнозама различитих болести и поремећаја, била би веома моћно клиничко средство. Способност да истовремено детектује молекулске вибрације свих конституената без додатних обележивача, недеструктивност (посебно важна код испитивања ћелија и ткива), као и могућност мапирања са микронском латералном резолуцијом, чини Раманову спектроскопију одличним кандидатом. У ери развоја регенеративне медицине, матичне ћелије су од пресудног значаја. Употребимо ову аналитичку методу у испитивању диференцијационог статуса примарних мезенхимских матичних ћелија пореклом из периодонталног лигаментa, васкуларизоване везивне ткивне структуре које повезује корен зуба за алвеоларну кост. Матичне ћелије, стимулисане да диференцирају одређено време ка остеогеној, хондрогеној и адипогеној лози, биће фиксирани и анализиране. Висока цена специјалних супстрата представља једну од великих препрека за имплементацију методе. С тим у вези, карактеризацију ћемо вршити на широко доступном супстрату-стаклу. Оно се карактерише значајном фотолуминесценцијом која утиче на спектар чији ћемо утицај умањити/елиминисати током обраде података. Други део истраживања матичних ћелија заснива се на испитивању утицаја хемијских фиксатива различитог механизма дејства на раманске спектре, будући да се највећи проценат испитивања, и у истраживачким и клиничким условима, врши на фиксираним ћелијама. Ради елиминације ометајућих фактора, као што је фотолуминесценција супстрата, мерење је вршено на плочицама калцијум-флуорида раманског степена чистоте.

На основу описане проблематике, дефинисан је циљ доктората - утврђивање применљивости методе у анализи фармаколошки активних супстанци и биолошких узорака, као и оптимизација експерименталних процедура и услова.

Сви узорци матичних ћелија из периодонталног лигаментa биће обезбеђени од стране Групе за хематологију Института за медицинска истраживања Универзитета у Београду, а сви експерименти Рамановог расејања вршиће се у Центру за физику чврстог стања и нове материјале Института за физику.

Литература:

[1] M. Gazdic, V. Volarevic, N. Arsenijevic, M. Stojkovic, Mesenchymal stem cells: a friend or foe in immune-mediated diseases, Stem Cell Reviews and Reports 11 (2) (2015) 280-287.

- [2] Y. Sato, H. Araki, J. Kato, K. Nakamura, Y. Kawano, M. Kobune, T. Sato, K. Miyanishi, T. Takayama, M. Takahashi, et al., Human mesenchymal stem cells xenografted directly to rat liver are differentiated into human hepatocytes without fusion, *Blood* 106 (2) (2005) 756-763.
- [3] R. O. Oreffo, C. Cooper, C. Mason, M. Clements, Mesenchymal stem cells, *Stem cell reviews* 1 (2) (2005) 169-178.
- [4] A. R. Williams, J. M. Hare, Mesenchymal stem cells biology, pathophysiology, translational findings, and therapeutic implications for cardiac disease, *Circulation research* 109 (8) (2011) 923-940.
- [5] I. C. Gay, S. Chen, M. MacDougall, Isolation and characterization of multipotent human periodontal ligament stem cells, *Orthodontics & craniofacial research* 10 (3) (2007) 149-160.
- [6] S. Ivanovski, S. Gronthos, S. Shi, P. Bartold, Stem cells in the periodontal ligament, *Oral diseases* 12 (4) (2006) 358-363.
- [7] M. Shimono, T. Ishikawa, H. Ishikawa, H. Matsuzaki, S. Hashimoto, T. Muramatsu, K. Shima, K.-I. Matsuzaka, T. Inoue, Regulatory mechanisms of periodontal regeneration, *Microscopy research and technique* 60 (5) (2003) 491-502.
- [8] M. Miletic, S. Mojsilovic, I. Okic-Djordjevic, T. Kukolj, A. Jaukovic, J. Santibanez, G. Jovcic, D. Bugarski, Mesenchymal stem cells isolated from human periodontal ligament, *Archives of Biological Sciences* 66 (1) (2014) 261-271.
- [9] T. Kukolj, D. Trivanovic, I. O. Djordjevic, S. Mojsilovic, J. Krstic, H. Obradovic, S. Jankovic, J. F. Santibanez, A. Jaukovic, D. Bugarski, Lipopolysaccharide can modify differentiation and immunomodulatory potential of periodontal ligament stem cells via erk1, 2 signaling, *Journal of cellular physiology* 233 (1) (2018) 447-462.
- [10] A. Klimczak, U. Kozłowska, Mesenchymal stromal cells and tissue-specific progenitor cells: their role in tissue homeostasis, *Stem cells international* 2016 (2016) 1-11.
- [11] H. Egusa, W. Sonoyama, M. Nishimura, I. Atsuta, K. Akiyama, Stem cells in dentistry {part ii: Clinical applications, *Journal of prosthodontic research* 56 (4) (2012) 229-248.
- [12] A. Downes, R. Mouras, A. Elfick, Optical spectroscopy for non-invasive monitoring of stem cell differentiation, *BioMed Research International* 2010 (2010) 1-10.
- [13] A. Downes, R. Mouras, P. Bagnaninchi, A. Elfick, Raman spectroscopy and confocal microscopy of stem cells and their derivatives, *Journal of Raman Spectroscopy* 42 (10) (2011) 1864-1870.
- [14] C. V. Raman, K. S. Krishnan, A new type of secondary radiation, *Nature* 121 (3048) (1928) 501.
- [15] J. W. Chan, D. K. Lieu, Label-free biochemical characterization of stem cells using vibrational spectroscopy, *Journal of biophotonics* 2 (11) (2009) 65-668.
- [16] A. F. Palonpon, J. Ando, H. Yamakoshi, K. Dodo, M. Sodeoka, S. Kawata, K. Fujita, Raman and SERS microscopy for molecular imaging of live cells, *Nature protocols* 8 (4) (2013) 677-692.
- [17] I. Notingher, I. Bisson, A. E. Bishop, W. L. Randle, J. M. Polak, L. L. Hench, In situ spectral monitoring of mRNA translation in embryonic stem cells during differentiation in vitro, *Analytical chemistry* 76 (11) (2004) 3185-3193.
- [18] F. Lyng, E. Gazi, P. Gardner, Preparation of tissues and cells for infrared and Raman spectroscopy and imaging, *Biomedical Applications of Synchrotron Infrared Microspectroscopy: A Practical Approach*. Royal Society of Chemistry, Cambridge (2010) 147-191.
- [19] S. M. Levchenko, X. Peng, L. Liu, J. Qu, The impact of cell fixation on Raman signal intensity in neuronal and glial cell lines, *Journal of biophotonics* (2018) e201800203.

- [20] J. W. Chan, D. S. Taylor, D. L. Thompson, The effect of cell fixation on the discrimination of normal and leukemia cells with laser tweezers Raman spectroscopy, *Biopolymers: Original Research on Biomolecules* 91 (2) (2009) 132-139.
- [21] A. D. Meade, C. Clarke, F. Draux, G. D. Sockalingum, M. Manfait, F. M. Lyng, H. J. Byrne, Studies of chemical fixation effects in human cell lines using Raman microspectroscopy, *Analytical and bioanalytical chemistry* 396 (5) (2010) 1781-1791.
- [22] M. M. Mariani, P. Lampen, J. Popp, B. R. Wood, V. Deckert, Impact of fixation on in vitro cell culture lines monitored with Raman spectroscopy, *Analyst* 134 (6) (2009) 1154-1161.
- [23] E. A. Hoffman, B. L. Frey, L. M. Smith, D. T. Auble, Formaldehyde crosslinking: a tool for the study of chromatin complexes, *Journal of Biological Chemistry* (2015) jbc-R115.
- [24] M. Noguchi, J. S. Furuya, T. Takeuchi, S. Hirohashi, Modified formalin and methanol fixation methods for molecular biological and morphological analyses, *Pathology international* 47 (10) (1997) 685-691.
- [25] J. Shaham, Y. Bomstein, A. Meltzer, Z. Kaufman, E. Palma, J. Ribak, DNA-protein crosslinks, a biomarker of exposure to formaldehyde in vitro and in vivo studies, *Carcinogenesis* 17 (1) (1996) 121-126.
- [26] T. Ichimura, K. F. Liang-da Chiu, S. Kawata, T. M. Watanabe, T. Yanagida, H. Fujita, Visualizing cell state transition using Raman spectroscopy, *PloS one* 9 (1) (2014) 1-8.
- [27] E. Brauchle, K. Schenke-Layland, Raman spectroscopy in biomedicine-non-invasive in vitro analysis of cells and extracellular matrix components in tissues, *Biotechnology journal* 8 (3) (2013) 288-297.
- [28] I. Jolliffe, Principal component analysis, in: *International encyclopedia of statistical science*, Springer, 2011, pp. 1094-1096.
- [29] E. Gazi, J. Dwyer, N. P. Lockyer, J. Miyan, P. Gardner, C. Hart, M. Brown, N. W. Clarke, Fixation protocols for subcellular imaging by synchrotron-based fourier transform infrared microspectroscopy, *Biopolymers: Original Research on Biomolecules* 77 (1) (2005) 18-30.
- [30] Z. Movasaghi, S. Rehman, I. U. Rehman, Raman spectroscopy of biological tissues, *Applied Spectroscopy Reviews* 42 (5) (2007) 493-541.
- [31] C. Krafft, J. Popp, The many facets of Raman spectroscopy for biomedical analysis, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 407 (3) (2015) 699-717.
- [32] B. S. Kim, C. C. I. Lee, J. E. Christensen, T. R. Huser, J. W. Chan, A. F. Tarantal, Growth, differentiation, and biochemical signatures of rhesus monkey mesenchymal stem cells, *Stem cells and development* 17 (1) (2008) 185-198.
- [33] L. Harkness, S. M. Novikov, J. Beermann, S. I. Bozhevolnyi, M. Kassem, Identification of abnormal stem cells using raman spectroscopy, *Stem cells and development* 21 (12) (2012) 2152-2159.
- [34] A. Rygula, K. Majzner, K. M. Marzec, A. Kaczor, M. Pilarczyk, M. Baranska, Raman spectroscopy of proteins: a review, *Journal of Raman Spectroscopy* 44 (8) (2013) 1061-1076.
- [35] K. Czamara, K. Majzner, M. Pacia, K. Kochan, A. Kaczor, M. Baranska, Raman spectroscopy of lipids: a review, *Journal of Raman Spectroscopy* 46 (1) (2015) 4-20.
- [36] K. Maquelin, C. Kirschner, L.-P. Choo-Smith, N. van den Braak, H. Endtz, D. Naumann, G. Puppels, Identification of medically relevant microorganisms by vibrational spectroscopy, *Journal of Microbiological Methods* 51 (3) (2002) 255-271.
- [37] G. Clemens, J. R. Hands, K. M. Dorling, M. J. Baker, Vibrational spectroscopic methods for cytology and cellular research, *Analyst* 139 (18) (2014) 4411-4444.

- [38] Q. Matthews, A. Jirasek, J. Lum, X. Duan, A. G. Brolo, Variability in raman spectra of single human tumor cells cultured in vitro: correlation with cell cycle and culture confluency, *Applied spectroscopy* 64 (8) (2010) 871-887.
- [39] Z. Movasaghi, S. Rehman, I. U. Rehman, Raman spectroscopy of biological tissues, *Applied Spectroscopy Reviews* 42 (5) (2007) 493-541.
- [40] T. Ichimura, K. F. Liang-da Chiu, S. Kawata, T. M. Watanabe, T. Yanagida, H. Fujita, Visualizing cell state transition using raman spectroscopy, *PloS one* 9 (1) (2014) 1-8.
- [41] E. Brauchle, S. Noor, E. Holtorf, C. Garbe, K. Schenke-Layland, C. Busch, Raman spectroscopy as an analytical tool for melanoma research, *Clinical and experimental dermatology* 39 (5) (2014) 636-645.
- [42] M. Pudlas, E. Brauchle, T. J. Klein, D. W. Hutmacher, K. Schenke-Layland, Non-invasive identification of proteoglycans and chondrocyte differentiation state by Raman microspectroscopy, *Journal of Biophotonics* 6 (2) (2013) 205-211.
- [43] G. S. Mandair, M. D. Morris, Contributions of Raman spectroscopy to the understanding of bone strength, *BoneKEy reports* 4 (620) (2015) 1-8.
- [44] J. Kobolak, A. Dinnyes, A. Memic, A. Khademhosseini, A. Mobasheri, Mesenchymal stem cells: Identification, phenotypic characterization, biological properties and potential for regenerative medicine through biomaterial micro-engineering of their niche, *Methods* 99 (2016) 62-68.
- [45] G.L. Perlovich, S.V. Kurkov, L.K. Hansen, A. Bauer-Brandl, Thermodynamics of sublimation, crystal lattice energies, and crystal structures of racemates and enantiomers: (+)- and (-)- ibuprofen, *J. Pharm. Sci.* 93 (2004) 654-666.
- [46] E. Dudognon, F. Dande, M. Descamps, N. Corria, Evidence of a new crystalline phase of racemic ibuprofen, *Pharm. Res.* 25 (2008) 2853-2858.
- [47] A. Hedoux, Y. Guinet, P. Derollez, E. Dudognon, N.T. Correia, Raman spectroscopy of racemic ibuprofen: evidence of molecular disorder in phase {II}, *Int. J. Pharm.* 421 (2011) 45-52.
- [48] B. Rossi, P. Verrocchio, G. Viliani, I. Mancini, G. Guella, E. Rigo, G. Scarduelli, G. Marioto, Vibrational properties of ibuprofencyclodextrin inclusion complexes investigated by Raman scattering and numerical simulation, *J. Raman Spectrosc.* 40 (2009) 453-458.
- [49] M. Vueba, M. Pina, L. Batista de Carvalho, Conformational stability of ibuprofen: assessed by DFT calculations and optical vibrational spectroscopy, *J. Pharm. Sci.* 97 (2008) 845-859.

3. Полазне хипотезе

Дефинисане су следеће хипотезе које ће бити тестиране у овој докторској дисертацији:

- Фармаколошки активне супстанце могу кристалисати у различите полиморфне облике (кристалне структуре). Као последица различитог међумолекулског уређења, долази до различитог степена пертурбације унутармолекулских вибрација, што резултује променом у њиховој енергији и/или интензитету раманских линија. Различите кристалне структуре молекулских кристала карактерисане су јединственим интермолекулским вибрацијама које се могу уочити у раманским спектрима на ниским енергијама.
- Све ћелије поседују специфичну динамичку биохемијску структуру. Анализом енергија (међу)молекулских вибрација Рамановом спектроскопијом успоставља се корелација између биохемијског састава, молекулске структуре, као и њихових варијација са типом ћелије и различитим поремећајима нормалне функције. Могућност мапирања узорака са микронском латералном резолуцијом у комбинацији

са техникама оптичке микроскопије и микроскопије атомских сила пружа вредне информације о њиховој просторној дистрибуцији.

4. Научне методе истраживања

Сви резултати кандидата током израде тезе биће добијени експерименталним мерењем Рамановог расејања и анализом добијених спектра. У делу истраживања базираном на испитивању полиморфизма, резултати ће бити подржани симулацијама у оквиру теорије функционала густине (DFT) у програмском пакету Quantum Espresso, у сарадњи са колегама из Лабораторије за примену рачунара у науци Института за физику у Београду.

Мерење Рамановог расејања ибупрофена биће вршена на рамаском систему Jobin Yvon T64000, а матичних ћелија на Tri Vista 557 и NTegra, у микро-раманској конфигурацији са расејањем уназад. Jobin Yvon T64000 и Tri Vista 557 су троструки системи опремљени CCD детектором који се хлади течним азотом, као и микроскопом којим се ласерски снап фокусира на узорак, а такође служи и за прикупљање расејане светлости. NTegra је једноструки систем са CCD детектором са термоелектричним хлађењем и конфокалним микроскопом који омогућава 3D имиджинг. Као извор светлости користиће се Ar^+/Kr^+ јонски гасни ласер, чврстотелни Nd:YAG ласер, као и полупроводнички ласер. Радиће се са малим снагама ласера, а које дају прихватљив сигнал, како би се минимизирало локално загревање узорка.

Нискотемпературска мерења приликом испитивања полиморфизма ибупрофена вршиће се помоћу KONTE CryoVac микроскопског криостата у коме се узорак хлади течним азотом.

Анализа и обрада измерених спектра вршиће се у програмском пакету Origin. Она подразумева одузимање базне линије, усредњавање, нормирање, теоријско моделовање Раман модова одговарајућим профилима линија у циљу одређивања њихове енергије и полуширине, као најважнијих параметара за даљу анализу и интерпретацију добијених резултата. Статистичка обрада спектра добијених у делу истраживања заснованом на испитивању матичних ћелија, такође ће се вршити у овом програмском пакету, применом мултиваријантне статистичке методе-анализе главних компоненти.

5. Очекивани научни допринос

Очекују се следећи резултати:

- Означавање раманских модова који се појављују у спектрима ибупрофена, са посебним освртом на нискоенергетски део спектра који директно одговара кристалној структури испитиваног полиморфног облика, као и утврђивање сагласности са теоријски предвиђеним модовима.
- Означавање раманских модова у спектрима матичних ћелија, диференцираних ћелија, анализа њихових спектралних разлика, као и статистичка анализа у циљу потврђивања постојања разлике.
- Означавање и идентификација раманских модова у спектрима матичних ћелија фиксираних хемисјким фиксативима различитог механизма дејства, поређење спектра и утврђивање утицаја процеса фиксације на раманске спектре.

6. План истраживања и структура рада

План истраживања обухвата:

- Прелиминарно испитивање узорака матичних ћелија методом Раманове спектроскопије, у циљу доношења закључка о најадекватнијем начину припреме самих узорака, као и о одабиру оптималних услова мерења.
- Испитивање утицаја одабраног фиксатива на раманске спектре матичних ћелија.
- Карактеризација мезенхималних матичних ћелија и диференцираних ћелија методом раманске спектроскопије.
- Карактеризација полиморфних облика ибупрофена са фокусом на нискоенергетском делу раманског спектра у ком фигуришу интермолекулске вибрације.

Очекује се да ће докторска дисертација имати следећа поглавља: *Увод, Метод и експеримент, Полиморфизам фармаколошки активних супстанци, Мезенхималне матичне ћелије: диференцијација и хемијска фиксација, Закључак и Литература*. У поглављу *Увод* биће представљена досадашња сазнања, као и отворена питања у области Раманове спектроскопије фармаколошки активних једињења и биокатализатора. У делу *Метод и експеримент* биће приказана теоријска основа Раманове спектроскопије, описане експерименталне поставке, експериментални услови и припрема узорака. У поглављу *Полиморфизам фармаколошки активних супстанци* биће приказане теоријске основе на којима се заснива изучавање полиморфних облика вибрационом спектроскопијом. На примеру ибупрофена, биће дат критички осврт на различите приступе анализи (интра- и интермолекулске вибрације). Део дисертације који се односи на порекло и природу мезенхималних матичних ћелија, њихов значај у савременим методама лечења, диференцијација и презервација различитим хемијским фиксативима, као и промене у Рамановим спектрима које се дешавају приликом ових процеса, биће представљене у поглављу *Мезенхималне матичне ћелије: диференцијација и хемијска фиксација*. У *Закључку* ће бити сумирани резултати, а у поглављу *Литература* биће наведене све референце.

7. Закључак и предлог

На основу изложеног Комисија сматра да кандидат **Јасмина Ј. Лазаревић**, дипломирани фармацеут, испуњава све потребне услове за рад на предложеној теми докторске дисертације. Комисија сматра да је предложена тема докторске дисертације под насловом: **„Раманова спектроскопија фармаколошки активних супстанци и биокатализатора“** научно утемељена. Истраживања у оквиру ове дисертације припадају научној области Технолошко инжењерство, ужа научна област Биохемијско инжењерство и биотехнологија, за коју је матичан Технолошко-металуршки факултет Универзитета у Београду. Комисија предлаже Научно-наставном већу Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду да кандидату Јасмини Ј. Лазаревић одобри израду докторске дисертације под наведеним насловом. За ментора се предлаже др Бранко Бугарски, редовни професор Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

.....
Др Бранко Бугарски,
редовни професор Универзитета у Београду,
Технолошко-металуршки факултет

.....
Др Зорица Кнежевић-Југовић,
редовни професор Универзитета у Београду,
Технолошко-металуршки факултет

.....
Академик Зоран В. Поповић,
Научни саветник, Институт за физику у Београду