

Факултет Фармацеутски

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

01 број 2261/1-1
(Број захтева)Већу научних области медицинских наука
(Назив већа научне области коме се захтев упућује)10.09.2026.
(Датум)**ЗАХТЕВ**

за давање сагласности на одлуке о усвајању извештаја Комисије за оцену докторске дисертације и о именовању комисије за одбрану

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 4. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 186/15-пречишћени текст и 189/16), дате сагласност на одлуку о усвајању извештаја Комисије за оцену докторске дисертације:

КАНДИДАТ ВАЛЕНТИНА (УРОШ) ЈАУКОВИЋ
(име, име једног од родитеља и презиме)

студент докторских студија на студијском програму ДОКТОРСКЕ АКАДЕМСКЕ СТУДИЈЕ, ФАРМАЦЕУТСКЕ НАУКЕ, ФАРМАЦЕУТСКА ТЕХНОЛОГИЈА

пријавио је докторску дисертацију под називом:

„Наноконтропозитни материјали на бази халојзита и хитозана као потенцијални фармацеутски експиијенси: истраживање утицаја поступка израде на физичкохемијске и функционалне особине“

из научне области: ФАРМАЦЕУТСКА ТЕХНОЛОГИЈА

Универзитет је дана 18.03.2025.године својим актом под бр. 02-01 број 61206-1123/2-25 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила:

„Наноконтропозитни материјали на бази халојзита и хитозана као потенцијални фармацеутски експиијенси: истраживање утицаја поступка израде на физичкохемијске и функционалне особине“

Име и презиме ментора : Др сц. Данина Крајишник, редовни професор, Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет (Ужа научна област: Фармацеутска технологија)

Комисија за оцену докторске дисертације именована је на седници одржаној 14.05.2026.године одлуком факултета под бр. 01 бр.1093/2, у саставу:

Име и презиме члана комисије	звање	научна област	Установа у којој је запослен
---------------------------------	-------	---------------	---------------------------------

1. Др сц. Снежана Савић, редовни професор, Универзитет у Београду - Фармацеутски факултет (Ужа научна област: Фармацеутска технологија), председник Комисије
2. Др сц. Александра Даковић, научни саветник, Институт за технологију нуклеарних и других минералних сиpивина, Београд (Ужа научна област: Физичка хемија - материјали)
3. Др сц. Бранка Ивковић, ванредни професор, Универзитет у Београду - Фармацеутски факултет (Ужа научна област: Фармацеутска-медицинска хемија и структурна анализа)

Напомена: уколико је члан Комисије у пензији навести датум пензионисања.

Датум стављања извештаја Комисије и докторске дисертације на увид јавности: 18.06.2026.године.

Наставно-научно веће факултета усвојило је извештај Комисије за оцену докторске дисертације наследници одржаној дана 10.09.2026.године.

Комисија за одбрану докторске дисертације именована је на седници одржаној 14.05.2026.године

одлуком факултета под бр. 01 број 1093/2, у саставу:

Име и презиме члана комисије	звање	научна област	Установа у којој је запослен
1. <u>Др сц. Снежана Савић, редовни професор, Универзитет у Београду - Фармацеутски факултет (Ужа научна област: Фармацеутска технологија), председник Комисије</u>			
2. <u>Др сц. Александра Даковић, научни саветник, Институт за технологију нуклеарних и других минералних сиријина, Београд (Ужа научна област: Физичка хемија - материјали)</u>			
3. <u>Др сц. Бранка Ивковић, ванредни професор, Универзитет у Београду - Фармацеутски факултет (Ужа научна област: Фармацеутска-медицинска хемија и структурна анализа)</u>			

Напомена: уколико је члан Комисије у пензији навести датум пензионисања.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

- Прилози:
1. Одлука Наставно-научног већа о усвајању извештаја Комисије за оцену докторске дисертације и одлука о именовању Комисије за одбрану докторске дисертације
 2. Извештај Комисије о оцени докторске дисертације
 3. Примедбе на извештај Комисије о оцени докторске дисертације (уколико их је било) и мишљење Комисије о примедбама

Напомена: Факултет доставља Универзитету захтев са прилозима у електронској форми и у једном писаном примерку за архиву Универзитета

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ФАРМАЦЕУТСКИ ФАКУЛТЕТ
11000 - БЕОГРАД
Ул. Војводе Степе 450.
01. број 2261/1
10.09.2026. године

На основу члана 28. Статута и предлога Комисије за последипломске студије – докторске студије, Наставно-научно веће Универзитета у Београду – Фармацеутског факултета на седници одржаној 10.09.2026.године, донело је

О Д Л У К У

ПРИХВАТА СЕ позитиван извештај Комисије за оцену и одбрану завршене докторске дисертације, кандидата **маг.фармације Јауковић Валентине** под насловом: **„Нанокмпозитни материјали на бази халојзита и хитозана као потенцијални фармацеутски ексципијенси: истраживање утицаја поступка израде на физичкохемијске и функционалне особине“** и упућује Већу научних области медицинских наука на усвајање, а по добијеној писаној сагласности одобрава јавна одбрана пред Комисијом у саставу:

1. Др сц. Снежана Савић, редовни професор, Универзитет у Београду - Фармацеутски факултет (Ужа научна област: Фармацеутска технологија), председник Комисије
2. Др сц. Александра Даковић, научни саветник, Институт за технологију нуклеарних и других минералних сиријина, Београд (Ужа научна област: Физичка хемија - материјали)
3. Др сц. Бранка Ивковић, ванредни професор, Универзитет у Београду - Фармацеутски факултет (Ужа научна област: Фармацеутска-медицинска хемија и структурна анализа)

Универзитет је дана 18.03.2025.године својим актом бр.: 02-01 бр: 61206-1123/2-25 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације.

Кандидат маг. фарм. Валентина Јауковић, објавила је резултате из ове докторске дисертације у два рада категорије M21 у међународним часописима са СЦИ листе:

1. **Jauković V**, Krajišnik D, Daković A, Damjanović A, Krstić J, Stojanović J, Čaliја B. Influence of selective acid-etching on functionality of halloysite-chitosan nanocontainers for sustained drug release. Materials Science and Engineering. C: Materials for Biological Applications 2021; 123:112029. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112029> (ISSN: 0928-4931)
IF(2021) = 8,457; Materials Science, Biomaterials (8/45) M21
2. **Jauković V**, Čaliја B, Ivković B, Khutoryanskiy VV, Elella MHA, Kurćubić I, Medarević Đ, Stojanović J, Damjanović A, Krajišnik D. Modification of selectively acid-etched halloysite by mucoadhesive chitosan derivatives: new

bionanocomposites with improved functional properties. Material Chemistry and Physics. 2024;325:129756. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2024.129756> (ISSN: 0254-0584)

IF(2024) = 4,7; Materials Science, Multidisciplinary (151/461) M21

Одлуку доставити: кандидату, Универзитету, члановима комисије, декану, секретару, продекану за последипломске студије, ментору (проф др. Данини Крајишник), Одсеку за наставу и студентска питања, Одсеку за правне и опште послове, пословном секретару, председнику Комисије за последипломске студије – докторске студије (Проф. др Биљана Антонијевић) и архиви.

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ФАРМАЦЕУТСКОГ
ФАКУЛТЕТА**

**Проф. др Наташа Богавац
Станојевић**

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ - ФАРМАЦЕУТСКИ ФАКУЛТЕТ
НАСТАВНО - НАУЧНОМ ВЕЋУ
КОМИСИЈИ ЗА ПОСЛЕДИПЛОМСКУ НАСТАВУ - ДОКТОРСКЕ СТУДИЈЕ

Предмет: Извештај Комисије за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата магистра фармације Валентине Јауковић.

На седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду – Фармацеутског факултета, одржаној 14.05.2026. године, одлуком број 1093/2 именовани су чланови Комисије за оцену и одбрану завршене докторске дисертације, кандидата маг. фарм. Валентине Јауковић, под насловом:

„Нанокмпозитни материјали на бази халојзита и хитозана као потенцијални фармацеутски ексципијенси: истраживање утицаја поступка израде на физичкохемијске и функционалне особине“

Комисија у саставу:

1. Др сц. Снежана Савић, редовни професор, Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет, председник комисије (Ужа научна област: Фармацеутска технологија)
2. Др сц. Александра Даковић, научни саветник, Институт за технологију нуклеарних и других минералних сировина, Београд (Ужа научна област: Физичка хемија - материјали)
3. Др сц. Бранка Ивковић, ванредни професор, Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет (Ужа научна област: Фармацеутска – медицинска хемија и структурна анализа)

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

ИЗВЕШТАЈ

1. ОСНОВНИ ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ И ДИСЕРТАЦИЈИ

А. Основни подаци о кандидату

Валентина Јауковић је рођена 25.08.1995. године у Никшићу. Школске 2013/2014. године уписала је Медицински факултет Универзитета Црне Горе (студијски програм Фармација), а дипломирала 16.05.2018. године са просечном оценом 8,79 и стекла звање доктор фармације. Деветомесечни приправнички стаж обавила је у Апотекарској установи „Бену”, апотеци Клиничко-болничког центра и фабрици за производњу лекова „Хемомонт” у Подгорици.

Докторске академске студије - модул Фармацеутска технологија уписала је школске 2018/2019. године на Фармацеутском факултету Универзитета у Београду. Специјалистичке академске студије из Индустријске фармације на Фармацеутском факултету Универзитета у Београду, уписала је школске 2020/2021. године, а исте завршила 01.04.2022. године са просечном оценом 10,00, и стекла звање специјалиста фармације.

Од августа 2023. године запослена је у Институту за лекове и медицинска средства Црне Горе као сарадник за издавање дозволе за лек. Од школске 2023/2024. године ангажована је као сарадник у настави на Медицинском факултету Универзитета Црне Горе.

Б. Наслов дисертације

„Нанокмпозитни материјали на бази халојзита и хитозана као потенцијални фармацеутски ексципијенси: истраживање утицаја поступка израде на физичкохемијске и функционалне особине“

В. Обим дисертације

Докторска дисертација маг. фарм. Валентине Јауковић, садржи шест поглавља: увод, циљ рада, експериментални део, резултати и дискусија, закључак и литература. Поред наведених тематских целина дисертација укључује сажетак на српском и енглеском језику, садржај, скраћенице, прилоге (списак радова и саопштења који чине део докторске дисертације и биографију кандидата), као и изјаве о ауторству, истовестности штампане и електронске верзије и коришћењу докторске дисертације. Дисертација је написана на 143 стране и садржи 62 слике (30 у уводу, 6 у експерименталном делу, 26 у резултатима и дискусији) и 11 табела (1 у уводу, 1 у експерименталном делу, 9 у резултатима и дискусији). Преглед литературе садржи 392 навода.

2. ПРЕДМЕТ И ЦИЉ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Предмет истраживања докторске дисертације је формулација, физичкохемијска и биофармацеутска карактеризација нанокмпозита, на бази халојзита (наноматеријал минералног порекла цевасте структуре) и хитозана, као потенцијалних носача лековитих супстанци (модел лековита супстанца коришћена у истраживању је ацеклофенак, један од представника из групе нестероидних антиинфламаторних лекова - НСАИЛ). Циљ истраживања докторске дисертације је развој нових, биокомпатибилних, нанокмпозита на бази халојзита и хитозана као потенцијалних носача за модификовано ослобађање ацеклофенака као модел лековите супстанце.

Оригиналност ове докторске дисертације огледа се у систематичном испитивању модификације халојзита сирћетном киселином и функционализације његове спољашње површине различитим хитозанима, чиме се добијају халојзит-хитозан нанокмпозити са унапређеним физичкохемијским и функционалним својствима. Значај истраживања огледа се у доприносу разумевању утицаја поступка израде на својства халојзит-хитозан нанокмпозита, која су важна за на њихову примену као носача лековитих супстанци.

3. ПРИКАЗ САДРЖАЈА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

У **Уводу** је, кроз 6 потпоглавља дат преглед научних сазнања за предмет проучавања докторске дисертације: Глине и минерали глина; Каолинит; Хитозан; Халојзит-полимер нанокмпозити; Ацеклофенак као модел лековита супстанца.

У првом потпоглављу **Увода** приказане су најзначајније информације о основним својствима глина и минерала глина при чему је посебан осврт стављен на својства значајна за њихову биомедицинску примену. У наставку су описани структура минерала и класификација минерала глина, као и основна својства најзначајнијих типова минерала глина. На крају овог потпоглавља описана је биомедицинска примена минерала глина, са нагласком на њихову примену као носача за модификовано ослобађање лековитих супстанци.

У другом потпоглављу уводног дела докторске дисертације је дат свеобухватан преглед хемијске структуре и физичкохемијских особина каолинита као представника филосиликата типа 1:1. Описана је примена каолина као фармацеутског ексципијенса у фармацеутским производима за различите путеве примене.

У трећем потпоглављу Увода су изложени најзначајнији подаци о халојзиту (енгл. *halloysite*, Hal), наноматеријалу минералног порекла цевасте структуре, који припада групи каолинита и представља предмет истраживања ове докторске дисертације.

Детаљно су описане структура и хемијски састав Hal, разлике у односу на каолинит и најзначајнија физичкохемијска својства на којима се заснива његов велики потенцијал примене у области биомедицине. Препознат је значај модификације *Hal* како би се превазишли недостаци који ограничавају његову ширу примену, а који се односе на малу запремину лумена и последично низак капацитет за инкапсулацију лековите супстанце, брзо ослобађање лековите супстанце, као и слабо изражену мукоадхезивност. Описане су методе које се користе за модификацију Hal: модификације киселинама (чиме се побољшава капацитет за инкапсулацију лековите супстанце, са посебним освртом на досадашња истраживања у овој области) и модификација полимерима (ковалентна и нековалентна којима се може унапредити функционалност Hal као носача лековитих супстанци са модификованим ослобађањем). Дат је детаљан опис припреме Hal-хитозан нанокомпозита, представљене предности и недостаци ковалентне и нековалентне модификације полимерима и досадашња истраживања у овој области.

У четвртном потпоглављу уводног дела докторске дисертације је дат детаљан приказ хемијске структуре и основних физичкохемијских својстава хитозана, линеарног поликатјонског биополимера, који је такође предмет истраживања ове докторске дисертације. Описана су својства хитозана која произилазе из његових физичкохемијских карактеристика, укључујући растворљивост, молекулску масу, степен деацетилације и вискозитет. У наставку су описане карактеристике хитозана које су значајне за његову примену у области биомедицине. Препознат је значај хемијске модификације хитозана којом се додатно могу унапредити његова мукоадхезивна својства. Образложен је значај поступка модификације хитозана реакцијом метакрилатације и укратко је описан овај процес.

У петом потпоглављу Увода дат је приказ различитих метода припреме Hal-полимер нанокомпозита: мешање у раствору полимера; мешање у растопу полимера; *in situ* полимеризација; електропредење и метода наношења слојева. Детаљним прегледом литературних навода описана је примена Hal-хитозан нанокомпозита у биомедицини, са фокусом на примену Hal-хитозан нанокомпозита као носача лековитих супстанци. Даље су размотрене методе за инкапсулацију лековите супстанце у Hal које обухватају методу адсорпције, методу интеркалације и методу упаравања растварача.

У последњем делу Увода описана је модел лековита супстанца – ацеклофенак (енгл. *aceclofenac*, Ace), са освртом на његова фармаколошка, биофармацеутска и физичкохемијска својства која га чине погодним за испитивање у различитим носачима за испоруку лековитих супстанци. Завршни део Увода посвећен је прегледу досадашњих истраживања о примени Hal као носача лековитих супстанци, као и различитих савремених носача који могу омогућити модификовано ослобађање ацеклофенака.

Циљ истраживања докторске дисертацији је развој нових, биокомпатибилних, нанокомпозита на бази Hal и хитозана као потенцијалних носача за модификовано ослобађање ацеклофенака као модел лековите супстанце. Кандидат је постављени циљ реализовао кроз три фазе експерименталног рада. Циљеви дисертације су добро постављени.

У поглављу **Експериментални део** наведене су карактеристике коришћених полазних материјала и приказан је детаљан опис експерименталних процедура, уређаја и опреме који су коришћени како би се реализовали постављени циљеви истраживања. Експериментални део реализован је кроз три фазе.

У **првој фази** експерименталног рада приказан је детаљан поступак припреме халојзита модификованог киселином (енгл. *acid etched halloysite*, eHal). Након тога, спроведена је физичкохемијска карактеризација полазног узорка и узорка након модификације, која је обухватала: анализу одређивања специфичне површине, запремине пора и расподеле величине пора према Брунауер-Емет-Телер методи адсорпције азота, одређивање зета потенцијала, скенирајућу електронску микроскопију (*SEM*), инфрацрвену спектроскопију са Фуријеовом трансформацијом (*FT-IR*), диференцијалну скенирајућу калориметрију (*DSC*), као и рендгенску дифракциону анализу на праху (*XRD*). Поређењем физичкохемијских карактеристика полазног Hal и eHal размотрен је утицај модификације на функционалне карактеристике полазног материјала.

У **другој фази** експерименталног рада извршена је функционализација спољашње површине полазног Hal и eHal, односно припрема халојзит-хитозан нанокомпозита коришћењем комерцијалних хитозана различитих молекулских маса (мале и средње молекулске масе). Услови под којима је вршена модификација зависили су од врсте минералног носача (Hal или eHal). Формулациони фактори који су варијани у току израде су концентрација и молекулска маса хитозана, концентрација дисперзије халојзита у раствору хитозана за облагање и време контакта. Поређењем физичкохемијских својстава припремљених нанокомпозита процењен је утицај киселинског третмана Hal, молекулске масе и концентрације полимера на функционалне карактеристике израђених нанокомпозита. Физичкохемијска карактеризација је обухватила: одређивање зета потенцијала, *FT-IR*, *DSC* и *XRD* анализу. Додатно, спроведене су *FT-IR*, *DSC* и *XRD* анализе хитозана мале молекулске масе (енгл. *Low molecular weight chitosan*, LChi) и средње молекулске масе (енгл. *Medium molecular weight chitosan*, MChi) како би се добио детаљнији увид у хемијске, термалне и структурне особине полимера које могу имати утицај на функционална својства израђених нанокомпозита. У овој фази рада, спроведена је и *SEM* анализа одабраних узорка eHal-хитозан нанокомпозита, како би се испитао утицај функционализације спољашње површине полимером на цевасту структуру халојзита. Додатно, извршена је диференцијална скенирајућа калориметрија (*DSC*)/термогравиметрија (*TG*) анализа Hal, eHal, LChi, MChi и одабраних нанокомпозита у циљу детаљнијег разматрања термалног понашања испитиваних узорка. Након тога, спроведена је функционализација спољашње површине eHal метакрилованим хитозаном мале молекулске масе (енгл. *Methacrylated chitosan*, MeLChi) одабране концентрације при оптималним експерименталним условима за израду нанокомпозита и физичкохемијска карактеризација припремљених нанокомпозита коришћењем претходно наведених метода. Такође, у овој фази експерименталног рада спроведена је оптимизација процеса инкапсулације модел лековите супстанце у полазни Hal варирањем њиховог односа. Након дефинисања оптималног односа, модел лековита супстанца је инкапсулирана у eHal. Даље је спроведена функционализација спољашње површине полазног Hal и eHal који садржи инкапсулирану лековиту супстанцу помоћу хитозана различитих молекулских маса при различитим концентрацијама. Извршена је и функционализација спољашње површине eHal, који садржи инкапсулирану лековиту супстанцу помоћу MeLChi при одабраној концентрацији. Одређен је садржај модел лековите супстанце у свим припремљеним нанокомпозитима и спроведена свеобухватна карактеризација полазног Hal и eHal и њихових одабраних нанокомпозита са различитим хитозанима, који садрже лековиту супстанцу применом *FT-IR*, *DSC/TG* и *XRD* анализе.

У **трећој фази** експерименталног рада испитана је брзина растварања лековите супстанце из одабраних Hal-хитозан и eHal-хитозан нанокомпозита. На основу резултата процењен је утицај модификације Hal киселином, функционализације спољашње

површине различитим хитозанима, као и метакрилатије хитозана на брзину и кинетику ослобађања лековите супстанце. У наставку је спроведено испитивање биокомпатибилности на комерцијалним узорцима здравих ћелија фибробласта плућа. Биокомпатибилност је процењивана на основу вијабилности ћелија третираних испитиваним формулацијама спровођењем МТТ теста. У циљу испитивања мукоадхезивности испитиваних узорака нанокомпозита примењена су три *in vitro* теста: одређивање зета потенцијала, метода адсорпције муцина и одређивање силе раздвајања компримата муцина и узорка. На основу добијених резултата процењен је утицај врсте и молекулске масе хитозана на мукоадхезивна својства eHal-хитозан нанокомпозита.

Закључак докторске дисертације обухвата јасно и сажето изложене резултате свих фаза истраживања, у складу са постављеним циљевима.

У делу **Литература** наведене су 392 референце, цитиране Харвардским стилем, које су коришћене у докторској дисертацији.

Прилози обухватају списак радова и саопштења који су саставни део докторске дисертације, као и кратку биографију кандидата.

3.1. Одлуке етичке комисије факултета и остале неопходне етичке одлуке

Ниједна од три фазе ове докторске дисертације није рађена у здравственој установи о чему је кандидат, заједно са ментором, доставио и потписао писану изјаву дана 08.06.2026. године.

4. ОПИС ОСТВАРЕНИХ РЕЗУЛТАТА И НАУЧНИ ДОПРИНОС ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

Према експерименталном плану, резултати докторске дисертације систематизовани су у три целине, у оквиру којих су представљени и интерпретирани.

Добијени резултати **прве фазе** истраживања приказују резултате испитивања физичкохемијских и функционалних карактеристика полазног Hal и eHal. Резултати ВЕТ методе показали су да третман Hal сирћетном киселином повећава специфичну површину, запремину и величину пора наноцеви. Мерењем зета потенцијала утврђено је да киселински третман Hal смањује површинско наелектрисање наноцеви. Нису забележене значајне промене у цевастој структури Hal након третмана наноцеви сирћетном киселином. Применом софтвера ImageJ 1.52a, израчунати су просечни спољашњи дијаметар (у опсегу 50-100 nm) и дужина наноцеви (у опсегу 300-700 nm) за полазни Hal и eHal, чиме је потврђено да третман Hal сирћетном киселином селективно делује на унутрашње октаедарске слојеве Hal, док спољашњи дијаметар и дужина наноцеви остају непромењени. Такође, није дошло до значајних промена у физичким и термалним особинама Hal након модификације наноцеви сирћетном киселином.

Друга фаза истраживања обухвата резултате испитивања физичкохемијских и функционалних карактеристика халојзит-хитозан нанокомпозита припремљених коришћењем хитозана различитих молекулских маса (LChi и MChi). На основу добијених резултата мерења зета потенцијала утврђено је да су оптимални услови за израду Hal-хитозан нанокомпозита, концентрација дисперзије Hal 2 % (m/m) у раствору полимера и време припреме дисперзије у трајању од 10 min. Резултати мерења зета потенцијала указали су на интензивније везивање хитозана за спољашњу површину eHal у поређењу са Hal наноцевима, због мање вредности зета потенцијала eHal услед селективне киселинске активације наноцеви. Доказано је боље везивање LChi за спољашњу површину Hal и eHal у односу на MChi због флексибилнијих и краћих ланаца полимера који могу да се вежу за више места на спољашњој површини наноцеви. Пораст концентрације раствора хитозана довео је до јачег везивања полимера за спољашњу

површину Hal и eHal наноцеви. Резултати *FT-IR* анализе потврдили су присуство електростатичких интеракција између Hal и eHal наноцеви и различитих хитозана (LChi и MChi). Померање апсорпционих трака је било интензивније на *FT-IR* спектру eHal-хитозан нанокомпозита у поређењу са Hal-хитозан нанокомпозитима, што је још једном потврдило резултате мерења зета потенцијала који су указали на интензивније везивање хитозана за спољашњу површину eHal у односу на Hal наноцеви. Промене на термичким кривама Hal-хитозан и eHal-хитозан нанокомпозита у односу на термичке криве полазних хитозана, потврдиле су успешну функционализацију спољашње површине Hal и eHal са LChi и MChi. Резултати XRD анализе су показали да не долази до нарушавања кристалне структуре Hal и eHal након модификације наноцеви различитим хитозанима. Није примећена значајна разлика између XRD спектра Hal-хитозан и eHal-хитозан нанокомпозита. Резултати SEM анализе су показали да не долази до нарушавања цевасте структуре након функционализације спољашње површине eHal са LChi и MChi. Применом ImageJ 1.52a софтвера показано је да eHal-LChi и eHal-MChi нанокомпозити имају већи просечни спољашњи дијаметар у односу на полазне eHal наноцеви, што је уз резултате мерења зета потенцијала, *FT-IR* и *DSC/TG* анализе потврдило да су LChi и MChi успешно адсорбовани на спољашњој површини eHal наноцеви. У наставку експерименталног рада је потврђена успешна функционализација eHal наноцеви помоћу MeLChi, резултатима мерења зета потенцијала. На SEM микрографијама није уочено нарушавање цевасте структуре eHal наноцеви након модификације са MeLChi. Резултати *FT-IR* и *DSC/TG* анализе потврдили су резултате мерења зета потенцијала да је MeLChi успешно адсорбован на спољашњој површини eHal наноцеви. Дифрактограми XRD нису показали промену рефлексије eHal наноцеви након функционализације са MeLChi, што је доказало да функционализација овим полимером не нарушава структуру eHal. На крају ове фазе истраживања приказани су резултати физичкохемијске карактеризације Hal-хитозан и eHal-хитозан нанокомпозита припремљених коришћењем хитозана различитих молекулских маса (LChi и MChi), а који садрже модел лековиту супстанцу. Уочено је да је током процеса функционализације Ace-Hal и Ace-eHal различитим хитозанима дошло до незнатног губитка лековите супстанце. Ацеклофенак није показао знаке интеракције са луменом Hal и eHal наноцеви. Резултати *FT-IR* анализе су били у сагласности са резултатима *DSC/TG* и XRD анализе која је указала да је модел лековита супстанца инкапсулирана у лумен Hal и eHal у непромењеном облику.

Резултатима **треће фазе** експерименталног рада утврђено је брже ослобађање Ace из eHal наноцеви у односу на Hal наноцеви, услед повећане порозности и проширења лумена, што је још једном потврдило резултате студије адсорпције-десорпције азота. Постигнуто је успорено ослобађање Ace након функционализације површине Hal и eHal наноцеви различитим хитозанима. Количина ослобођеног Ace из eHal-LChi и eHal-MChi је била нижа у односу на Hal-LChi и Hal-MChi нанокомпозите, редом, услед интензивнијег везивања полимера за спољашњу површину eHal у односу на Hal наноцеви. Утврђено је спорије ослобађање Ace из нанокомпозита на бази Hal и eHal са LChi у поређењу са одговарајућим нанокомпозитима припремљеним са MChi. Постигнуто је спорије ослобађање Ace из eHal-MeLChi нанокомпозита, што може бити последица већег спољашњег дијаметра eHal-MeLChi_{0,5} нанокомпозита (≈ 115 nm) у поређењу са eHal-LChi_{0,5} (≈ 106 nm) који су израчунати применом ImageJ 1.52a софтвера. Резултати студија биокомпатибилности показали су да функционализација спољашње површине eHal различитим хитозанима не утиче на његову цитокомпатибилност. У случају формулација које садрже Ace, дошло је до смањења вијабилности ћелија у поређењу са плацебо узорцима, али тек након 72 h инкубације. У наставку истраживања показано је да функционализација eHal наноцеви катјонским полимерима, LChi, MChi и MeLChi, има позитиван учинак на мукоадхезивне карактеристике припремљених нанокомпозита.

Нанокомпозити на бази eHal и MeLChi су показали најбоља својства везивања муцина.

На основу приказа остварених резултата ове дисертације, може се закључити да су потврђене основне хипотезе ове дисертације: модификацијом Hal сирћетном киселином могу се унапредити физичкохемијска и функционална својства Hal (наноматеријала минералног порекла цевасте структуре); могуће је истовремено модификовати унутрашњу (модификација сирћетном киселином) и спољашњу површину (модификација разлитичим хитозанима) уз очување основне структуре полазног материјала и припрему нанокомпозита унапређених физичкохемијских и функционалних особина, Hal модификованог киселином. Такође, потврђено је да припремљени нанокомпозитни материјали на бази Hal и хитозана могу бити носачи са постизање модификованог ослобађања Асе, уз постизање високе цитокомпатибилности и унапређених мукоадхезивних својстава.

5. УПОРЕДНА АНАЛИЗА СА РЕЗУЛТАТИМА ИЗ ЛИТЕРАТУРЕ

Примену Hal као носача лековитих супстанци ограничава мала запремина лумена и последично низак капацитет за инкапсулацију лековите супстанце (енгл. *drug loading capacity*), брзо ослобађање лековите супстанце, као и слабо изражена мукоадхезивност [1-3]. Због тога се током последње деценије интензивно истражује могућност примене различитих физичких и хемијских модификација како би се превазишли ови недостаци. Један од приступа, који је коришћен у овој докторској дисертацији, подразумева модификацију унутрашње површине Hal киселинама. Досадашња истраживања су показала да модификацијом Hal киселинама долази до ширења лумена наноцеви чиме се повећава капацитет за инкапсулацију ципрофлоксацина [4], амоксицилина [5], аугментина [6], ибупрофена [7], натријум-салицилата [8], и цефиксима [9]. Модификација Hal киселином започиње дифузијом водоникових јона у унутрашњи лумен наноцеви, након чега алуминол групе интерагују са водониковим јонима унутар пора и производи реакције дифундују ван пора [8]. У литератури се наводи да ширење лумена Hal јаким киселинама (нпр. сумпорном или хлороводоничном киселином) може довести до разградње спољашње структуре или прекомерне порозности, односно последичног нежељеног „цурења“ инкапсулиране лековите супстанце, па је препорука да се за модификацију Hal користе слабије киселине попут акрилне и сирћетне [10].

У оквиру **прве фазе** докторске дисертације, BET анализа потврдила је да третман Hal сирћетном киселином доводи до повећања специфичне површине, запремине микропора и запремине мезопора. Према литературним наводима, вредности специфичне површине полазног Hal добијених применом BET методе (S_{BET}) варирали су у широком опсегу од 22,1 m²/g до 81,6 m²/g [11]. У првој фази експерименталног рада, добијена вредност S_{BET} полазног Hal је била у средини тог опсега и највише је у сагласности са резултатима Garcia-Garcia и сар. [12] и Sadjadi и сар. [13], док је за eHal наноцеви, вредност S_{BET} била већа за око 10 % и износила 57,2 m²/g. Поједине студије су показале да се интензивније повећање специфичне површине, запремине пора и дијаметра пора може постићи употребом јаким и концентрованим киселина (нпр. сумпорна киселина). Међутим, то може довести до значајног повећања порозитета, губитка цевасте структуре, па чак и разградње кристалне структуре Hal [12], због чега је у истраживању одабрана слабија сирћетна киселина. Одсуство хоризонталног платоа у региону високе вредности релативног притиска, па чак и назнака његовог постојања, спречило је класификацију добијених изотерми у тип IV и класификовало их је у тип II, према IUPAC номенклатури [14]. У неколико радова приказане су N₂ изотерме Hal, готово идентичне изотермама приказаним у докторској дисертацији, класификоване као изотерме типа IV [12,15], типа II [11,13], па чак и типа III [16].

Мерењем зета потенцијала, прва фаза рада расветлила је да третман Hal сирћетном киселином смањује површинско наелектрисање наноцеви, не нарушавајући цевасту структуру Hal и не доводећи до значајних промена у физичким и термалним особинама Hal. Ови резултати су у складу са резултатима Stodolak-Zych и сарадника [10] који су показали да не долази до значајних промена у физичкохемијским својствима Hal уколико се за његову модификацију користе благе киселине.

Функционалност Hal као носача за лековите супстанце могуће је унапредити модификацијом спољашње површине наноцеви ковалентним и нековалентним везивањем различитих полимера. За разлику од ковалентне модификације, која углавном подразумева примену органских умреживача, нековалентна модификација Hal се одвија при благим реакционим условима и нема утицаја на структуру наноцеви [2,8], због чега је одабрана у овој докторској дисертацији. Захваљујући негативно наелектрисаној спољашњој површини, Hal може да успостави електростатичке интеракције са катјонским полимерима, градећи композит као потенцијални носач за лековите супстанце. У литератури се наводи да се у ове сврхе најчешће користе хитозан, који је предмет истраживања ове докторске дисертације, а који услед протоновања амино групе у киселој средини, постаје катјонски полиелектролит и као такав се може ефикасно везати за негативно наелектрисану површину Hal [2]. У литератури је описана могућност унапређења физичкохемијских својстава Hal модификацијом киселинама и полимерима, појединачно, али не постоје литературни наводи о коришћењу комбинације ова два поступка модификације, што се може сматрати оригиналним приступом у овој докторској дисертацији.

Последњих година Hal-полимер нанокомпозити се интензивно истражују за примену у области биомедицине због јединствених хибридних својстава конституенаса. Литературни подаци указују да на функционалност нанокомпозита утиче метода припреме, као и удео и особине конститутивних материјала [17,18]. Најједноставнија и најчешћа метода за припрему Hal-полимер нанокомпозита предвиђених за примену у области биомедицине је мешање у раствору полимера, која подразумева дисперговање Hal у раствору полимера [19], која је коришћена за припрему нанокомпозита у овој докторској дисертацији.

У оквиру друге фазе је одређивањем зета потенцијала потврђена успешна модификација спољашње површине Hal и eHal са LChi и MChi при концентрацијама раствора хитозана 0,2% и 0,5% (m/V). Резултати су били у сагласности са литературним наводима који су указали да је могуће успостављање интеракција између Hal и хитозана, тј. формирање Hal-хитозан нанокомпозита при нижим концентрацијама полимера [20]. Kouser и сар. [21] су показали да концентрација дисперзије Hal у раствору полимера за облагање од 3% (m/m) и више може отежати постизање хомогене дисперзије. Тиме може доћи до смањења међуповршинске интеракције, одвајања полимера од површине Hal и нарушавања структуре композитног материјала. У другој фази експерименталног рада мерењем зета потенцијала Hal-хитозан нанокомпозита показано да је оптимална концентрација дисперзије Hal у раствору хитозана за облагање 2% (m/m). Поред тога, дефинисано је оптимално време припреме дисперзије 10 min. Након припреме Hal-хитозан и eHal-хитозан нанокомпозита при оптималним условима израде, поређењем њихових физичкохемијских својстава, процењен је утицај молекулске масе и концентрације хитозана на физичкохемијска и функционална својства Hal-хитозан и eHal-хитозан нанокомпозита. У овој фази рада, мерењем зета потенцијала Hal-хитозан и eHal-хитозан нанокомпозита у опсегу pH 2-12 утврђено је интензивније везивање LChi и MChi за спољашњу површину eHal у односу на полазни Hal. Добијени резултати су указали на утицај модификације Hal киселином на физичкохемијска и функционална својства халојзит-хитозан нанокомпозита. Додатно, Hal-LChi и eHal-LChi

нанокомпозити су показали највеће вредности зета потенцијала у киселој средини, што је потврдило да је LCh_i успоставио јаче интеракције са спољашњом површином Hal и eHal наноцеви у односу на MCh_i. Добијени резултати су били очекивани с обзиром на то да се у литератури наводи да LCh_i има краће и флексибилније ланце који могу да се вежу за више места на спољашњој површини наноцеви и успоставе јаче интеракције са негативном наелектрисаном површином Hal и eHal. Пораст концентрације раствора LCh_i и MCh_i са 0,2 на 0,5% (m/V) коришћених за облагање eHal наноцеви, довео је до пораста вредности зета потенцијала припремљених eHal-LCh_i и eHal-MCh_i нанокомпозита у киселој средини. У наставку друге фазе експерименталног рада спроведена је *FT-IR* анализа која је показала спектре LCh_i и MCh_i који су у сагласности са литературним подацима [22,23].

Померање апсорпционих трака на *FT-IR* спектрима Hal-хитозан и eHal-хитозан нанокомпозита је у сагласности са ранијим резултатима анализе нанокомпозита на бази халојзита и хитозана [24,25] и настаје као последица електростатичких интеракција између протонованих амино група хитозана и негативно наелектрисане површине наноцеви. Ова фаза истраживања открила је да је померање одговарајућих апсорпционих трака било интензивније на *FT-IR* спектру eHal-хитозан нанокомпозита него на *FT-IR* спектру Hal-хитозан нанокомпозита, што је потврдило интензивније везивање поликатиона за спољашњу површину eHal, а што је претходно потврђено већим вредностима зета потенцијала eHal-хитозан нанокомпозита. Добијене *DSC* криве Hal-хитозан нанокомпозита, које су потврдиле успешну функционализацију Hal са LCh_i и MCh_i су у складу са раније добијеним резултатима за Hal-хитозан композитне скафолде [26] и филмове [25]. Поређењем са кривама eHal-хитозан нанокомпозита, *DSC* анализа је потврдила резултате мерења зета потенцијала и *FT-IR* анализе које су откриле интензивније везивање LCh_i и MCh_i за спољашњу површину eHal у односу на полазни Hal. Резултати *XRD* анализе су показали да не долази до нарушавања кристалне структуре наноцеви након модификације различитим хитозанима. Такође, није примећена разлика између *XRD* спектра Hal-хитозан и eHal-хитозан нанокомпозита, што је у складу са литературним наводима [12] да третман Hal благим киселинама не нарушава кристалну структуру наноцеви. Применом SEM анализе уочено је да не долази до нарушавања цевасте структуре након функционализације спољашње површине eHal са LCh_i и MCh_i. Слична запажања имали су Lisuzzo и сар. [27] који су доказали да не долази до промене морфологије наноцеви након функционализације спољашње површине полазног Hal са MCh_i. Није уочена значајна разлика између *SEM* микрографија испитиваних eHal-хитозан нанокомпозита и eHal наноцеви, које би могле да укажу на присуство полимера на површини наноцеви, што се може објаснити ниском концентрацијом полимера на спољашњој површини eHal наноцеви, која се тешко уочава применом SEM анализе. Просечни спољашњи дијаметар који је добијен применом *ImageJ 1.52a* софтвера био је ≈ 106 nm за eHal-LCh_i0,5 и ≈ 108 nm за eHal-MCh_i0,5 нанокомпозите. Повећање спољашњег дијаметра испитиваних нанокомпозита у односу на дијаметар eHal наноцеви (≈ 82 nm) доказало је успешну адсорпцију LCh_i и MCh_i на спољашњој површини eHal наноцеви. Добијени подаци су били у сагласности са резултатима мерења зета потенцијала, *FT-IR* и *DSC* анализе који су потврдили успешну функционализацију eHal наноцеви са LCh_i и MCh_i. *DSC/TG* анализа открила је да eHal наноцеви имају слично термално понашање као Hal са благим променама у ендотермним пиковима у температурном интервалу између 20 и 200 °C. Наведена запажања су у складу са резултатима које су објавили и García-García и сар. [12], и Kuşawa и сар. [28]. Ова фаза истраживања потврдила је мањи губитак масе Hal-LCh_i и eHal-LCh_i нанокомпозита у односу на Hal-MCh_i и eHal-MCh_i нанокомпозите, услед интензивнијег везивања LCh_i за спољашњу површину наноцеви.

У литератури се наводи да је метакрилацијом хитозана могуће утицати на његова хемијска, механичка и биолошка својства [29]. Недавна истраживања су показала да метакрилација хитозана доводи до побољшања његових мукоадхезивних својстава услед формирања ковалентних веза између метакрилованих гупа полимера и тиола у муцину [29-32]. До сада у литератури није описана могућност функционализације Hal метакрилованим хитозаном, што је био предмет истраживања ове дисертације.

У **другој фази** експерименталног рада спољашња површина eHal је функционализована са MeLChi и добијени резултати свеобухватне физичкохемијске карактеризације припремљених eHal-MeLChi нанокомпозита која је подразумевала мерење зета потенцијала, *FT-IR*, *DSC/TG*, *XRD* и *SEM* анализу потврдила је успешно адсорпцију полимера на спољашњој површини eHal наноцеви. У наставку, спроведена је оптимизација процеса инкапсулације Асе у лумен полазног Hal, варирањем њиховог односа. Литературни подаци су показали да се лековите супстанце могу ефикасно инкапсулирати у лумен наноцеви методом упаравања растварача, што је потврђено у овој докторској дисертацији. Lvov и сар. [1] су показали да Hal има низак капацитет за инкапсулацију лековите супстанце који је обично у опсегу између 5-10 %. Добијена вредност процентуалног садржаја Асе у узорку Асе-Hal при односу Hal и Асе 1:1 био је $7,9 \pm 0,8$ %, док је при односу 2:1 била $9,1 \pm 0,9$ %. Резултати су слични раније испитаном капацитету инкапсулације ибупрофена (нестероидни антиинфламаторни лек, категорија II BSK) [33], флурбипрофена, атенолола, фурсемида и верапамил-хидрохлорида [3] у Hal наноцевима. Ова фаза истраживања открила је да повећањем удела Hal у односу на модел лековиту супстанцу, повећава се и површина доступна за везивање Асе, чиме се повећава ефикасност везивања и капацитет за инкапсулацију лековите супстанце. У eHal наноцеви, модел лековита супстанца је ефикасније инкапсулирана са процентуалним садржајем лековите супстанце (енгл. *drug loading capacity*, DL%) $16,5 \pm 0,9$ % за Асе-eHal. Значајно повећање инкапсулације лековите супстанце (≈ 81 % за Асе-eHal) у односу на Асе-Hal може се приписати селективном киселинском третману и проширењу лумена наноцеви и у складу је са литературним наводима који су показали да се модификацијом Hal киселином може повећати капацитет за инкапсулацију лековите супстанце. Ова фаза експерименталног рада је открила да током процеса функционализације Асе-eHal различитим хитозанима у концентрацији 0,5% долази до благог губитка лековите супстанце, као последица везивања хитозана и губитка лековите супстанце током инкубације у раствору полимера. Свеобухватном физичкохемијском карактеризацијом доказано је присуство Асе у припремљеним композитима. Сви испитивани Асе-Hal-хитозан и Асе-eHal-хитозан нанокомпозити на *FT-IR* спектрима, показали су карактеристичне траке Асе. За разлику од неких других анјонских активних супстанци, нпр. ибупрофена [34], Асе није показао знаке интеракције са луменом Hal и eHal наноцеви. Добијени резултати заједно са резултатима термалне анализе указали су да је Асе инкапсулиран у лумен наноцеви у свом непромењеном облику. Нанокомпозити Асе-Hal-LChi i Асе-Hal-MChi показали су слично термално понашање као Асе-eHal-LChi i Асе-eHal-MChi са благим променама у ендотермном и егзотермним пиковима. Поређењем eHal-LChi0,5 и Асе-eHal-LChi0,5 нанокомпозита, уочена су преклапања карактеристичних трака полазних конституенаса, тако да нису примећени нови пикови, што је потврдило присуство лековите супстанце у композиту у непромењеном облику. Слична запажања имали су Крејцова и сар. [35] који су доказали присуство диклофенак-натријума у наноцевима Hal у непромењеном облику.

У **трећој фази** рада, по први пут је испитан утицај третмана Hal киселином и функционализације спољашње површине наноцеви хитозаном на брзину растварања Асе као модел лековите супстанце. Бројни аутори указали су на могућност примене Hal као носача различитих лековитих супстанци из групе нестероидних антиинфламаторних

лекова, нпр. флурбипрофена [3], ибупрофена [34], диклофенака [36], напроксена [37], кетопрофена [38], ацетилсалицилне киселине [39] за перорални пут примене. Такође, у литератури се наводе подаци о примени монтморилонита (основни минерал бентонита), као носача Асе намењеног за пероралну примену [40]. Када је реч о испитивању брзине растварања Асе из Hal, у трећој фази експерименталног рада, показано је бимодално ослобађање Асе са готово линеарним почетним (нултог реда) ослобађањем током првих 5 h са $\approx 79\%$ ослобођене модел лековите супстанце. У другој фази ослобађање је било значајно спорије са потпуним растварањем током 12 h. Слично бифазно ослобађање из полазног Hal је раније показано за диклофенак-натријум (категија II BSK) [7,35]. Ослобађање Асе из Асе-eHal је имало бимодални образац и достиже $\approx 90\%$ током 5 h. Слични резултати су добијени за Hal третиран хлороводоничном [41] и сумпорном киселином [8].

У овој фази рада, постигнуто је успорено ослобађање Асе након функционализације површине Hal и eHal различитим хитозанима. Откривен је израженији ефекат успоравања ослобађања Асе при функционализацији спољашње површине eHal са LChi и MChi у односу на полазни Hal услед интензивнијег везивања хитозана за eHal у поређењу са полазним Hal, што су потврдили резултати зета потенцијала. Додатно, примећено је спорије ослобађање Асе из нанокмпозита на бази Hal и eHal са LChi у поређењу са одговарајућим нанокмпозитима припремљеним са MChi услед интензивнијег везивања LChi за спољашњу површину Hal и eHal наноцеви захваљујући краћим и флексибилнијим ланцима LChi, што су показали резултати зета потенцијала. У оквиру ове докторске дисертације је по први пут испитан утицај функционализације eHal наноцеви са MeLChi на брзину растварања Асе из eHal-MeLChi нанокмпозита. Примећено је спорије ослобађање Асе из eHal-MeLChi нанокмпозита у односу на eHal-LChi, што може бити последица већег спољашњег дијаметра eHal-MeLChi нанокмпозита (≈ 115 nm) у поређењу са eHal-LChi (≈ 106 nm) који су израчунати применом Image 1.52a софтвера.

Добра биокмпатибилност Hal показана је у више студија [42-44]. Међутим, у литератури се наводе резултати истраживања који су показали да функционализација спољашње површине Hal синтетским катјонским полимерима (нпр. поли(алиламин хидрохлорид), поли(диалилдиметиламонијум-хлорид) и полиетиленимин) значајно повећава његову ниску инхерентну токсичност изазивајући ћелијска оштећења [45].

Такође, велики допринос дисертације огледа се у испитивању утицаја модификације Hal сирћетном киселином и функционализације спољашње површине eHal наноцеви са LChi, MChi и MeLChi на биокмпатибилност припремљених нанокмпозита, а која је спроведена у оквиру треће фазе рада. Добијени резултати указали су на високу вијабилност ћелија ($> 80\%$) у присуству eHal-LChi, eHal-MChi и eHal-MeLChi нанокмпозита што је показало да функционализација eHal различитим хитозанима није утицала на његову цитокомпатибилност и у складу је са ISO 10993-5:2009 [46] и прихватљива је за биокмпатибилни носач. Слични резултати су описани у литератури за халојзит-хитозан филмове и скафолде [26,47].

Нанокмпозити Асе-eHal-LChi, Асе-eHal-MChi и Асе-eHal-MeLChi показали су нижу вијабилност ћелија у поређењу са плацебо узорцима. Вијабилност ћелија у присуству испитиваних нанокмпозита са инкапсулираном активном супстанцом, зависила је од концентрације. При концентрацији 1000 $\mu\text{g/ml}$ стопа преживљавања ћелија је била $33,7 \pm 3,8\%$ за Асе-eHal-LChi, $27,9 \pm 6,9\%$ за Асе-eHal-MChi и $24,6 \pm 7,3\%$ за Асе-eHal-MeLChi нанокмпозите. Нижа цитокомпатибилност може се приписати дејству ослобођеног Асе током 72 h периода инкубације. Ипак, нанокмпозити са инкапсулираним Асе показали су прихватљиву вијабилност ћелија са стопом преживљавања ћелија већом од 70% у концентрацијама испод 500 $\mu\text{g/ml}$. Добијени резултати су бољи у односу на податке из

литературе који указују на цитокомпатибилност Асе при концентрацији до 100 µg/ml [48,49].

Литературни подаци указују на добро изражена мукоадхезивна својства хитозана [50], што је потврђено и резултатима приказаним у овој докторској дисертацији. Када су у питању мукоадхезивна својства Hal, у литератури се проналазе подаци, да су ограничена услед истоврсног наелектрисања муцина и спољашње површине Hal [2], што је потврђено и добијеним резултатима. Бројни аутори су указали на могућност унапређења мукоадхезивних својстава хитозана реакцијом метакрилације [29-31].

Током испитивања мукоадхезивних својстава Hal, eHal и његових нанокомполита са LChi, MChi и MeLChi примењене су три *in vitro* методе. Добијени резултати су показали да се модификацијом спољашње површине eHal наноцеви са LChi и MChi значајно побољшавају мукоадхезивна својства наноцеви. Сличне резултате који указују на побољшање мукоадхезивних карактеристика Hal функционализацијом његове спољашње површине хитозаном, раније су објавили Sharif и сар. [2]. Литературни подаци указују да хитозани веће молекулске масе (≈ 1400 kDa) имају боља мукоадхезивна својства у односу на хитозане мале молекулске масе (500-800 kDa) јер формирају вискозније растворе и боље пријањају за слузокожу [51]. Добијени резултати који указују на боља мукоадхезивна својства нанокомполита на бази eHal и LChi у односу на нанокомполите израђене од eHal и MChi, могу се објаснити јачом интеракцијом LChi и eHal наноцеви захваљујући краћим и флексибилнијим ланцима LChi који су доступни за интеракцију са муцином.

Функционализацијом спољашње површине eHal наноцеви са MeLChi припремљени су eHal-MeLChi нанокомполити са унапређеним мукоадхезивним својствима у поређењу са eHal-LChi нанокомполитима. Ови резултати су у сагласности са наводима Mirkanі и сар. [32] који су указали на израженија мукоадхезивна својства липосома обложених метакрилованим хитозаном у поређењу са липосомима обложеним полазним хитозаном. Слично томе, Kolawole и сар. [29] су открили да метакриловани хитозан има већу способност задржавања флуоресцеин-натријума на слузокожи бешике у поређењу са полазним хитозаном.

Сагледавајући свеобухватно резултате представљене у овој докторској дисертацији, може се закључити да је део резултата у сагласности са подацима из литературе. Пре свега, то се односи на резултате физичкохемијске карактеризације анализом специфичне површине, мерењем зета потенцијала и испитивањем термалног понашања полазног халојзита и припремљених халојзит-хитозан композита. С обзиром на то да су у овој докторској дисертацији по први пут разматрани услови израде биокомпатибилних, нанокомполита на бази модификованог халојзита и хитозана као потенцијалних носача за модификовано ослобађање ацеклофенака као модел лековите супстанце, већина резултата и специфичних запажања није могла бити проверена у доступним литературним изворима, те се сматра оригиналним доприносом истраживачког рада кандидата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lvov M.Y., Wang L. Zhang R. Fakhrullin, Halloysite clay nanotubes for loading and sustained release of functional compounds, Adv. Mater. 28 (2016) 1227–1250.
2. Sharif S., Abbas G., Hanif M., Bernkop-Schnürch A., Jalil A., Yaqoob M. Mucoadhesive micro-composites: Chitosan coated halloysite nanotubes for sustained drug delivery, Colloids Surf. B. 184 (2019) 110527.

3. Husain T., Shoaib M.H., Ahmed F.R., Yousuf R.I., Farooqi S., Siddiqui F., Imtiaz M.S., Maboos M., Jabeen S., Investigating Halloysite Nanotubes as a Potential Platform for Oral Modified Delivery of Different BCS Class Drugs: Characterization, Optimization, and Evaluation of Drug Release Kinetics *Int J Nanomedicine*, 16 (2021) 1725-1741.
4. Setter O.P., Dahan L., Hamad H.A., Segal E. Acid-etched Halloysite nanotubes as superior carriers for ciprofloxacin, *Appl Clay Sci.* 228 (2022) 106629.
5. Sepahi S., Kalaei M., Mazinani S., Abdouss M., Hosseini S.M., Introducing electrospun polylactic acid incorporating etched halloysite nanotubes as a new nanofibrous web for controlled release of Amoxicillin. *J Nanostruct Chem*, 11 (2020) 245-258.
6. Verma D., Okhawilai M., Senthilkumar N., Subramani K., Incharoensakdi A., Raja G.G., Uyama H., Augmentin loaded functionalized halloysite nanotubes: A sustainable emerging nanocarriers for biomedical applications, *Environ Res*, 242 (2024a) 117811.
7. Li H., Zhu X, Zhou H., Zhong S., Functionalization of halloysite nanotubes by enlargement and hydrophobicity for sustained release of analgesic. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp.* 487 (2015) 154–61.
8. Bediako E.G., Nyankson E., Dodoo-Arhin D., Agyei-Tuffour B., Łukowiec D., Tomiczek B., Yaya A., Efavi J.K., Modified halloysite nanoclay as a vehicle for sustained drug delivery, *Heliyon*. 4 (2018), e00689.
9. Verma D., Okhawilai M., Subramani K., Chandrasekaran K., Kasemsiri P., Uyama H., Cefixime loaded bare and functionalized halloysite nanocarriers and their biomedical applications, *Environ Res*, 252 (2024b) 118927.
10. Stodolak-Zych E., Rapacz-Kmita A., Gajek M., Różycka A., Dudek M., Kluska S.. Functionalized Halloysite Nanotubes as Potential Drug Carriers. *J Funct Biomater*. 14 (2023) 167.
11. Pasbakhsh P., Churchman G.J., Keeling J.L., Characterisation of properties of various halloysites relevant to their use as nanotubes and microfibre fillers. *Appl Clay Sci.* 74 (2013) 47–57.
12. Garcia-Garcia D., Ferri J.M., Ripoll L., Hidalgo M., Lopez-Martinez J., Balart R., Characterization of selectively etched halloysite nanotubes by acid treatment, *Appl. Surf. Sci.* 422 (2017) 616–625.
13. Sadjadi S., Heravi M.M., Malmir M., Masoumi B., HPA decorated halloysite nanoclay: an efficient catalyst for the green synthesis of spirooxindole derivatives, *Appl. Organomet. Chem.*, 32 (2018) e4113.
14. Thommes M., Kaneko K., Neimark A.V., Olivier J.P., Rodriguez-Reinoso F., Rouquerol J., Sing K.S.W., Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC technical report), *Pure Appl. Chem.*, 87 (2015) 1051-1069
15. Szczepanik B., Rędzia N., Frydel L., Słomkiewicz P., Kołbus A., Styszko K., Dziok T., Samojeden B., Synthesis and characterization of halloysite/carbon nanocomposites for enhanced NSAIDs adsorption from water, *Materials*, 12 (2019) 3754.
16. Peres A.M., Oréfice R.L., Effect of incorporation of Halloysite nanotubes on the structure and properties of low-density polyethylene/thermoplastic starch blend, *J. Polym. Res.*, 27 (2020) 1-10.
17. Kim M.H., Choi G., Elzatahry A., Vinu A., Choy Y.B., Choy J., Review of Clay-drug

Hybrid Materials for Biomedical Applications: Administration routes. *Clays Clay Miner.* 64 (2016) 115–130.

18. Zhang M., Sabatini C., Chen K., Makowka S., Hu R., Swihart M., Cheng, C. Novel polymer/halloysite composites with high halloysite content and remarkable mechanical strength. *RSC Applied Interfaces*, 2 (2025) 410-419.
19. Liu M., Cao X., Liu H., Yang X., Zhou C., Halloysite-based polymer nanocomposites Nanomaterials from clay minerals, Elsevier, (2019) 589-626.
20. Kadam A.A., Shinde S.K., Ghodake G.S., Saratale G.D., Saratale R.G., Sharma B., Sung J.S., Chitosan-Grafted Halloysite Nanotubes-Fe₃O₄ Composite for Laccase-Immobilization and Sulfamethoxazole-Degradation, *Polym.*, 12 (2020) 2221.
21. Kouser S., Prabhu A., Prashantha K., Nagaraja G.K., D'souza J.N., Meghana Navada K., Manasa D.J., Modified halloysite nanotubes with chitosan incorporated PVA/PVP bionanocomposite films: thermal, mechanical properties and biocompatibility for tissue engineering, *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*, 634 (2022), 127941
22. Zheng X., Yin Y., Jiang W., Xing L., Pu J., Synthesis and characterization of low molecular weight chitosan, *Bio* 10 (2015) 2338–2349
23. Suryani S., Chaerunisaa A.Y, Ruslin I.M.J.R, Ramadhan L.O.A.N., Wardhana Y.W., Sabarwati S.H., Production of low molecular weight chitosan using a combination of weak acid and ultrasonication methods, *Polymers* 14 (2022) 3417.
24. Branca C., D'Angelo G., Crupi C., Khouzami K., Rifici S., Ruello G., Wanderlingh U., Role of the OH and NH vibrational groups in polysaccharide-nanocomposite interactions: a FTIR-ATR study on chitosan and chitosan/clay films, *Polymer* 99 (2016) 614–622
25. Čalija B., Milić J., Milašinović N., Daković A., Trifković K., Stojanović J., Krajišnik D., Functionality of chitosan-halloysite nanocomposite films for sustained delivery of antibiotics: The effect of chitosan molar mass. *J. Appl. Polym. Sci.* 137 (2020) 48406.
26. Liu M., Wu C., Jiao Y., Xiong S., Zhou C., Chitosan-halloysite nanotubes nanocomposite scaffolds for tissue engineering, *J. Mater. Chem. B*, 1 (2013), 2078
27. Lisuzzo L., Cavallaro G., Millioto S., Lazzara G., Halloysite Nanotubes Coated by Chitosan for the Controlled Release of Khellin, *Polymers*, 8 (2020) 1766.
28. Kujawa M., Suwak R., Dobrzanski L.A., Gerle A., Tomiczek B. Thermal characterization of halloysite materials for porous ceramic preforms, *Arch. Mater. Sci. Eng.*, 107 (2021) 5-15.
29. Kolawole O.M., Lau W.M., Khutoryanskiy V.V., Methacrylated chitosan as a polymer with enhanced mucoadhesive properties for transmucosal drug delivery, *Int. J. Pharm.* 550 (2018) 123–129
30. Chidchai P., Aung S. L. T. T., Singpanna K., Opanasopit P., Pornpitchanarong C. Synthesis of chitosan- graft-methacrylate with enhanced antimicrobial activity for improved mucoadhesive properties and controlled drug delivery systems. *Science, Engineering and Health Studies*, 17 (2023) 23050004.
31. Jalal RR, Ways TMM, Abu Elella MH, et al. Preparation of mucoadhesive methacrylated chitosan nanoparticles for delivery of ciprofloxacin. *Int J Biol Macromol.* 2023;242:124980.
32. Mirkani A., Nabid M. R., Pakian, S. Microfluidics-Facilitated Synthesis of Methacrylated Chitosan-Coated Liposomes: An Innovative Platform for Prolonged Ocular

Retention and Controlled Drug Release. *Biomacromolecules*, 8 (2025) 5336-5352.

33. Tan D., Yuan P., Annabi-Bergaya F., Yu H., Liu D., Liu H., He H., Natural halloysite nanotubes as mesoporous carriers for the loading of ibuprofen, *Micropor. Mesopor. Mat.* 179 (2013) 89-98.
34. Tan D., Yuan P., Annabi-Bergaya F., Liu D., Wang L., Liu H., He H., Loading and in vitro release of ibuprofen in tubular halloysite, *Appl. Clay Sci.*, 96 (2014) 50–55.
35. Krejčová K., Deasy P.B., Rabišková M., Diclofenac sodium entrapment and release from halloysite nanotubules, *Ceska Slov. Farm.*, 62 (2013) 28-34.
36. Lisuzzo L., Cavallaro G., Pasbakhsh P., Milioto S., Lazzara G., Why does vacuum drive to the loading of halloysite nanotubes? The key role of water confinement, *J. Colloid Interf. Sci.*, 547 (2019) 361-369.
37. Borges de Macedo J., Olivato J. B., Marini J., Aenishanslin J., Pianaro S. A., Ferrari P.C., Halloysite/cellulose derivatives-based bionanocomposites for controlled naproxen delivery, *J. Appl. Polym. Sci.* ,139 (2021) 51889.
38. Sid D., Baitiche M., Bourzami R., Merir R., Djerboua F., Gil A., Boutahala M., Experimental and theoretical studies of the interaction of ketoprofen in halloysite nanotubes *Coll. Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* 20 (2021) 127136
39. Lun H., Ouyang J., Yang H., Natural halloysite nanotubes modified as an aspirin carrier. *RSC advances*, 4 (2014) 44197-44202.
40. Thakur G., Singh A., Singh I., Chitosan-montmorillonite polymer composites: formulation and evaluation of sustained release tablets of aceclofenac, *Sci pharm.* 84 (2016) 603-618
41. Wang Q., Zhang J., Zheng Y., Wang A., Adsorption and release of ofloxacin from acid- and heat-treated halloysite, *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, 113 (2014) 51-58.
42. Ullah A., Sarwar M.N., Wang F., Kharaghani D., Sun L., Zhu C., Yoshiko Y., Mayakrishnan G., Lee J.S., Kim I.S., In vitro biocompatibility, antibacterial activity, and release behavior of halloysite nanotubes loaded with diclofenac sodium salt incorporated in electrospun soy protein isolate/hydroxyethyl cellulose nanofibers, *Current Research in Biotechnology*, 4 (2022) 445-458.
43. Jiang Z., Sun S., Liu J., Sun X., Recent Advances of Halloysite Nanotubes in Biomedical Applications. *Small*, 20 (2024), 2306169.
44. Yadav U., Verma V., Halloysite nanoclay reinforced hydroxyapatite porous scaffold for hard tissue regeneration, *Journal of Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 140 (2023) 105656
45. Tarasova E., Naumenko E., Rozhina E., Akhatova F., Fakhrullin R., Cytocompatibility and uptake of polycations-modified halloysite clay nanotubes, *Appl. Clay Sci.* 169 (2019) 21-30.
46. International Organization for Standardization, ISO 10993-5:2009. Biological evaluation of medical devices - Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity, Geneva, Švajcarska.
47. Barman M., Mahmood S., Augustine R., Hasan A., Thomas S., Ghosal K., Natural halloysite nanotubes/chitosan based bio-nanocomposite for delivering norfloxacin, an antimicrobial agent in sustained release manner, *Int. J. Biol. Macromol.*, 162 (2020) 1849-1861.
48. Negi S, Tandel N, Garg NK, Sharma P, Kumar R, Sharma P, Kumar R, Saini S, Sharma

- A, Tyagi RK. Co-Delivery of Aceclofenac and Methotrexate Nanoparticles Presents an Effective Treatment for Rheumatoid Arthritis. *Int J Nanomedicine*. 19 (2024) 2149-2177.
49. Govind SB, Martis EAF, Shirsat VA. Hot melt extrusion-driven cocrystallization of aceclofenac with nicotinamide: A strategy to enhance solubility, bioavailability, and therapeutic effect. *J Pharm Sci*. (2026) 104294.
50. Haugstad K.E., Hati A.G, Nordgård C.T, Adl P.S., Maurstad G., Sletmoen M, Draget K., Dias R.S., Stokke B.T., Direct Determination of Chitosan–Mucin Interactions Using a Single-Molecule Strategy: Comparison to Alginate–Mucin Interactions, *Polymers*, 2 (2015) 161-185.
51. Čalijs B., Milić J., Krajišnik D., Račić A., Karakteristike i primena hitozana u farmaceutskim/biomedicinskim preparatima. *Arh farm*. 63 (2013) 347-364.

6. ОБЈАВЉЕНИ И САОПШТЕНИ РЕЗУЛТАТИ КОЈИ ЧИНЕ ДЕО ДИСЕРТАЦИЈЕ

Радови у врхунском међународном часопису (M21):

1. Jauković V, Krajišnik D, Daković A, Damjanović A, Krstić J, Stojanović J, Čalijs B. Influence of selective acid-etching on functionality of halloysite-chitosan nanocontainers for sustained drug release. *Materials Science and Engineering. C: Materials for Biological Applications* 2021; 123:112029. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112029> (ISSN: 0928-4931) (M21; IF2021 8,457; *Materials Science, Biomaterials*, ранг часописа: 8/45)
2. Jauković V, Čalijs B, Ivković B, Khutoryanskiy VV, Elella MHA, Kurćubić I, Medarević Đ, Stojanović J, Damjanović A, Krajišnik D. Modification of selectively acid-etched halloysite by mucoadhesive chitosan derivatives: new bionanocomposites with improved functional properties. *Material Chemistry and Physics*. 2024;325:129756. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2024.129756> (ISSN: 0254-0584) (M21; IF2024 = 4,7 *Materials Science, Multidisciplinary*, ранг часописа: 151/461)

Саопштења са међународних скупова штампана у изводу (M34):

1. Jauković V, Krajišnik D, Damjanović A, Krstić J, Savić S, Čalijs B. Effect of lumen enlargement on functionality of halloysite-chitosan sustained-release nanocontainers. 12th World Meeting on Pharmaceuticals, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Beč, Austrija, 11-14. maj 2021, 1-2.

Саопштење са скупа националног значаја штампано у изводу (M64):

1. Jauković V, Krajišnik D, Čalijs B. Influence of chitosan methacrylation on mucoadhesiveness of halloysite-chitosan sustained release nanocomposites. VIII Serbian Congress of Pharmacy, Beograd, Srbija, 12-15 oktobar 2022, *Arhiv za farmaciju*. 2022;72:384-385.

7. ЗАКЉУЧАК СА ОБРАЗЛОЖЕЊЕМ НАУЧНОГ ДОПРИНОСА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

Највећим научним доприносом ове докторске дисертације може се сматрати свеобухватна и систематична анализа утицаја поступка израде халојзит-хитозан нанокомпозита на њихова физичкохемијска и функционална својства. Оригиналан истраживачки допринос остварен је кроз систематично испитивање физичкохемијских и функционалних својстава халојзит-хитозан нанокомпозита припремљених коришћењем комерцијалних хитозана различитих молекулских маса (мале и средње молекулске масе), као и по први пут примене метакрилованог хитозана за модификацију наноматеријала минералног порекла. Значајан допринос ове дисертације је по први пут испитани утицај комбиноване стратегије која се заснива на третману полазног халојзита сирћетном киселином и функционализацији његове спољашње површине различитим хитозанима, као и испитивање могућности примене припремљених халојзит-хитозан композита као потенцијалних фармацеутских ексципијенаса односно носача за ацеклофенак као модел лековиту супстанцу. Додатно, истраживањима у оквиру ове докторске дисертације дат је допринос испитивању брзине растварања ацеклофенака, биокомпатибилности и мукоадхезивности припремљених халојзит-хитозан нанокомпозита.

Све наведено поврћује да је докторска дисертација маг. фармације Валентине Јауковић урађена у складу са одобреном пријавом и да представља оригинално и самостално научно дело.

8. ПРОВЕРА ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

ОЦЕНА ИЗВЕШТАЈА О ПРОВЕРИ ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

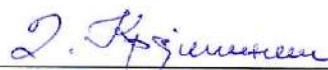
На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације *„Наноконтролнни материјали на бази халојзита и хитозана као потенцијални фармацеутски ексципијенси: истраживање утицаја поступка израде на физичкохемијске и функционалне особине“*, аутора Валентине Јауковић, констатујем да утврђено подударање текста износи 13% са 236 извора (у свим случајевима подударања сличност текста је износила мање од 1%). Овај степен подударности последица је тзв. општих места и података (личних имена, цитата, речи коришћених у опису методологије, уобичајених фраза које се користе у опису резултата истраживања) као и претходно публикованих резултата докторандових истраживања, који су проистекли из њене дисертације, што је у складу са чланом 9. Правилника.

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

09.06.2026. године

Ментор

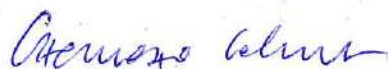
Др сц. Данина Крајишник, редовни професор
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет



9. МИШЉЕЊЕ И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ ЗА ОЦЕНУ ЗАВРШЕНЕ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

На основу прегледа докторске дисертације кандидата маг. фарм. Валентине Јауковић под називом „Нанокомполитни материјали на бази халојзита и хитозана као потенцијални фармацеутски ексципијенси: истраживање утицаја поступка израде на физичкохемијске и функционалне особине“ може се закључити да је кандидат успешно реализовао постављене циљеве истраживања и да резултати приказани у дисертацији представљају оригиналан и значајан допринос у области фармацеутске технологије, што је потврђено публикавањем два рада у врхунским међународним часописима (M21), једног саопштења са скупа међународног значаја штампаног у изводу (M34) и једног саопштења са скупа националног значаја штампаног у изводу (M64).

Комисија у наведеном саставу, стога, позитивно оцењује докторску дисертацију маг. фарм. Валентине Јауковић и предлаже Наставно-научном већу Универзитета у Београду – Фармацеутског факултета да прихвати овај Извештај о завршеној докторској дисертацији и упути га Већу научних области медицинских наука, ради добијања сагласности за јавну одбрану докторске дисертације.



1. Др сц. Снежана Савић, редовни професор
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет, председник комисије
(Ужа научна област: Фармацеутска технологија)



2. Др сц. Александра Даковић, научни саветник
Институт за технологију нуклеарних и других минералних сировина, Београд
(Ужа научна област: Физичка хемија – материјали)



3. Др сц. Бранка Ивковић, ванредни професор
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет
(Ужа научна област: Фармацеутска медицинска хемија и структурна анализа)

Београд, 11.06.2026.

**ИЗЈАВА МЕНТОРА И КАНДИДАТА ДА ИСТРАЖИВАЊЕ ЗА ПОТРЕБЕ ДОКТОРСKE
ДИСЕРТАЦИЈЕ НИЈЕ РАЂЕНО У ЗДРАВСТВЕНОЈ УСТАНОВИ**

Изјављујемо да истраживање за потребе израде докторске дисертације под насловом:

НАНОКОМПОЗИТНИ МАТЕРИЈАЛИ НА БАЗИ ХАЛОСИТА И ХИТОЗАНА КАО ПОТЕНЦИЈАЛНИ
ФАРМАЦЕУТСКИ ЕКСЦИПИЈЕНСИ: ИСТРАЖИВАЊЕ УТИЦАЈА ПОСТУПАКА ИЗРАДЕ НА
ФИЗИЧКОЕ КРЕЉОБНЕ И ФУНКЦИОНАЛНЕ ОСОБИНЕ

није рађено у здравственој установи.

Потпис ментора

Д. Крстић

Потпис кандидата

Ј. Валентић

У Београду, 08.06.2026.

Nanokompozitni materijali na bazi halojzita i h...

By: Valentina Jauković

As of: Jun 9, 2026 10:40:46 AM
47,653 words - 492 matches - 236 sources

Similarity Index

13%

Mode: Summary Report ▼

sources:

247 words / 1% - Internet

[Račić, Anđelka. "Polysaccharide mucoadhesive vehicles as carriers for antihistaminic drugs for ophthalmic application", Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет, 2022](#)

77 words / < 1% match - from 01-Nov-2025 12:00AM

[fedorabg.bg.ac.rs](#)

72 words / < 1% match - Internet

[Savić, Sanela M.. "Parenteral nanoemulsions with poorly water-soluble psychopharmacological drugs:: formulation, optimization and in vivo disposition evaluation", Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет, 2017](#)

51 words / < 1% match - Internet

[Nikolić, Ines. "Nanoemulsions prepared via spontaneous emulsification for dermal application of curcumin: investigation of the interfacial phenomena in the colloidal system and their impact on delivery efficiency and biological activity", Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет, 2022](#)

43 words / < 1% match - from 29-Nov-2025 12:00AM

[fedorabg.bg.ac.rs](#)

43 words / < 1% match - Internet from 27-Feb-2020 12:00AM

[fedorabg.bg.ac.rs](#)

35 words / < 1% match - Internet

[Drašković, Milica. "Formulation and characterization of orodispersible dosage forms containing high drug load: contribution to mechanistic system understanding", Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет, 2020](#)

34 words / < 1% match - from 16-Mar-2026 12:00AM

[fedorabg.bg.ac.rs](#)

27 words / < 1% match - Internet

[Dinić, Miroslav. "Influence of bioactive molecules of lactobacilli on autophagy and inflammation processes in in vitro and in vivo systems", Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет, 2018](#)

27 words / < 1% match - Internet from 03-Dec-2020 12:00AM

fedorabg.bg.ac.rs

25 words / < 1% match - Internet

[Rusmirović, Jelena D.. "Dynamic-mechanical and thermal properties of composites based on unsaturated polyester resins and modified silicon-dioxide and cellulose nanoparticles.", Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет, 2016](#)

21 words / < 1% match - from 25-May-2024 12:00AM

fedorabg.bg.ac.rs

17 words / < 1% match - Internet

[Ponjavić, Marijana M.. "Synthesis, characterization and application of biodegradable block copolymers based on poly\(ε-caprolactone\) and poly\(ethylene oxide\)", Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет, 2017](#)

16 words / < 1% match - from 29-Nov-2025 12:00AM

fedorabg.bg.ac.rs

16 words / < 1% match - Internet

[Cvetičanin, Jelena. "Functionalized materials based on carbon nanobutes", Универзитет у Београду, Факултет за физичку хемију, 2013](#)

11 words / < 1% match - Internet from 29-Feb-2020 12:00AM

fedorabg.bg.ac.rs

9 words / < 1% match - from 16-Mar-2026 12:00AM

fedorabg.bg.ac.rs

9 words / < 1% match - Internet from 27-Feb-2020 12:00AM

fedorabg.bg.ac.rs

8 words / < 1% match - from 06-Dec-2025 12:00AM

fedorabg.bg.ac.rs

8 words / < 1% match - Internet

[Kocić, Ivana A.. "Biopharmaceutical characterization of levothyroxine sodium immediate-release tablets", Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет, 2013](#)

6 words / < 1% match - Internet

[Stajčić, Aleksandar P.. "Synthesis and characterization of ethylcellulose polymer composite magnetic membranes", Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет, 2018](#)

164 words / < 1% match - Internet

[Čalija, Bojan R.. "Functionality of chitosans in formulation of alginate-chitosan microparticles as drug carriers for nonsteroidal antiinflammatory drugs", Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет, 2013](#)

82 words / < 1% match - Internet

[Salević, Ana. "Synthesis and characterization of active fibers and films based on poly\(e-caprolactone\) and zein", Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет, 2021](#)

77 words / < 1% match - Internet

[Todosijević, Marija N.. "Formulation, physico-chemical characterization and biological testing of biocompatible microemulsions for dermal and transdermal delivery of aceclofenac", Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет, 2017](#)

61 words / < 1% match - Internet

[Ilić, Tanja. "Micro- and nanostructured emulsion systems based on polyhydroxy surfactants for aceclofenac delivery into/through the skin using chemical penetration enhancers and microneedles", Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет, 2019](#)

35 words / < 1% match - Internet

[Janković, Jovana. "Formulation and characterization of semisolid self-microemulsifying drug delivery system as potencial new generation carriers for oral delivery of aciclovir", Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет, 2020](#)

27 words / < 1% match - Internet

[Filipović, Mila Đ.. "Cosmetic emulsion stabilized with a natural alkyl polyglucoside emulsifier containig liposome-encapsulated plant stem cells: study of interfacial phenomena and biophysical measurements on the skin", Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет, 2017](#)

18 words / < 1% match - Internet

[Pavun, Leposava. "Spectrofluorimetric investigation of complex compounds of morin, hesperidin and quercetin with aluminium", Универзитет у Београду, Факултет за физичку хемију, 2013](#)

15 words / < 1% match - Internet

[Timotijević, Mirjana. "Polymeric film-forming systems for dermal delivery of betamethasone dipropionate: defining critical quality attributes by using optimised physicochemical, tribological and biopharmaceutical tests", Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет, 2022](#)

12 words / < 1% match - Internet

[Čolović, Božana. "Biomimetic designing of scaffolds based on hydroxyapatite for encapsulation of antibiotics with controlled release", Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет, 2013](#)

11 words / < 1% match - Internet

[Krstić, Sanja. "Synthesis, functionalization and application of activated carbon micro and nano materials", Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет, 2018](#)

10 words / < 1% match - Internet

[Kaluderović, Lazar M.. "Sorption of herbicides on inorganic and organic modified natural montmorillonite from Bogovina", Универзитет у Београду, Рударско-геолошки факултет, 2018](#)

9 words / < 1% match - Internet

[Radovanović, Neda. "Plant growth biostimulators originated from marine environment intended for agricultural application", Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет, 2021](#)

8 words / < 1% match - Internet

[Pantelić, Ivana N.. "Dermal bioavailability of antiinflammatory drugs from sugar emulsifier stabilized bases: comparative application of in vitro / in vivo characterization methods", Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет, 2013](#)

8 words / < 1% match - Internet

[Milošević, Milica V.. "Nanocomposites with antimicrobial properties synthesized by photoreduction of silver ions on the surface of differently shaped titanium\(IV\)-oxide nanocrystals deposited on textile materials.", Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет, 2017](#)

8 words / < 1% match - Internet

[Obeid, Samiha. "Investigation of the influence of model design and 3D printing parameters on model drug dissolution from tablets obtained by fused deposition modelling", Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет, 2022](#)

7 words / < 1% match - Internet

[Mudrinić, Tihana. "The influence of the interaction between iron and nickel on electrochemical behavior of electrodes based on bentonites modified with acids and polyhydroxy cations.", Универзитет у Београду, Факултет за физичку хемију, 2016](#)

110 words / < 1% match - from 04-Dec-2023 12:00AM

nardus.mpn.gov.rs

97 words / < 1% match - from 04-Dec-2023 12:00AM

nardus.mpn.gov.rs

16 words / < 1% match - Internet

[Korica, Matea D.. "Obtaining of bioactive nanostructured materials based on cellulose and chitosan", Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет, 2020](#)

14 words / < 1% match - Internet

[Lončarski Maja. "Impact of physicochemical properties of microplastics and selected persistent organic pollutants on interactions in the aqueous matrix", Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет, 2020](#)

12 words / < 1% match - Internet

[Stefanović, Ivan. "Synthesis and characterization of polyurethane copolymers based on poly\(propylene oxide\)-block- poly\(dimethylsiloxane\)-block- poly\(propylene oxide\) and their nanocomposites with organomodified clay.", Универзитет у Београду, Хемијски факултет, 2017](#)

9 words / < 1% match - from 19-May-2023 12:00AM

[nardus.mpn.gov.rs](#)

9 words / < 1% match - Internet

[Milanović, Ana. "Optimization of hot-melt coating in a fluidized-bed apparatus: preparation and characterization of modified release paracetamol granules", Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет, 2021](#)

8 words / < 1% match - from 12-Sep-2023 12:00AM

[nardus.mpn.gov.rs](#)

8 words / < 1% match - Internet

[Duvnjak, Dunja K.. "Selenium acumulation in submerged and industrial cultivated Coriolus versicolor mushroom", Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет, 2017](#)

8 words / < 1% match - Internet

[Janković, Zoran. "Electrical conductivity and characterization of polymer composites filled with chemically and electrochemically obtained metal powders", Универзитет у Београду, Технички факултет, Бор, 2019](#)

125 words / < 1% match - Internet

[Četković, Zora. "Formulation and in vitro/in silico characterization of lipid-based drug delivery systems with simvastatin as model substance", Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет, 2021](#)

61 words / < 1% match - Internet

[Bubić Pajić, Nataša. "Chemical and physical enhancers for dermal delivery of poorly soluble drugs: comparative study of microemulsions, solid and dissolvable microneedles", Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет, 2020](#)

59 words / < 1% match - Internet

[Milić, Jela, Čaliја, Bojan, Krajišnik, Danina. "Funkcionalnost ekscipijenasa - značaj i farmakopejski status", Arhiv za farmaciju, 2016](#)

44 words / < 1% match - Internet

[Čaliја, Bojan, Milić, Jela, Krajišnik, Danina, Račić, Anđelka. "Karakteristike i primena hitozana u farmaceutskim/biomedicinskim preparatima", Arhiv za farmaciju, 2013](#)

8 words / < 1% match - Internet

[Todorović, Vanja. "Investigation of cocoa powder's antioxidant and antimicrobial potential and its impact on mice behavior after short-term and long-term supplementation.", Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет, 2018](#)

71 words / < 1% match - Internet

[Oalđe Pavlović, Mariana. "Biological activity of commercial medicinal Lamiaceae plant extracts from Serbia", Универзитет у Београду, Биолошки факултет, 2022](#)

29 words / < 1% match - Internet

[Madžarević, Marijana. "3D printing of tablets by photopolymerization and selective laser sintering: development and process optimisation", Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет, 2023](#)

55 words / < 1% match - Internet

[Marković, Bojana M.. "Synthesis, characterization and application of macroporous nanocomposites of glycidyl methacrylate and magnetite", Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет, 2019](#)

16 words / < 1% match - Internet

[Filipović, Nenad. "Synthesis and characterization of poly \(ε-caprolactone\) / selenium nanoparticles biocomposite", Univerzitet u Beogradu, Fakultet za fizičku hemiju, 2018](#)

15 words / < 1% match - Internet

[Vasić, Marija B.. "Optimizacija i fotokatalitička primena nanostrukturnog TiO2", Универзитет у Нишу, Природно-математички факултет, 2017](#)

13 words / < 1% match - Internet

[Vunduk, Jovana Đ.. "Chemical characterization and biological properties of polysaccharide extracts of fungi Fomes fomentarius, Auricularia auricula-judae and Sparassis crispa.", Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет, 2017](#)

27 words / < 1% match - Internet from 19-Dec-2021 12:00AM

[uvidok.rcub.bg.ac.rs](#)

26 words / < 1% match - Internet from 26-Aug-2022 12:00AM

[uvidok.rcub.bg.ac.rs](#)

13 words / < 1% match - Internet from 26-Aug-2022 12:00AM

[uvidok.rcub.bg.ac.rs](#)

9 words / < 1% match - Internet from 09-Nov-2022 12:00AM

[uvidok.rcub.bg.ac.rs](#)

73 words / < 1% match - Crossref

[Valentina Jauković, Danina Krajišnik, Aleksandra Daković, Ana Damjanović et al. "Influence of selective acid-etching on functionality of halloysite-chitosan nanocontainers for sustained drug release", Materials Science and Engineering: C, 2021](#)

53 words / < 1% match - from 31-Mar-2024 12:00AM

utvsi.com

50 words / < 1% match - ProQuest

[Ilić, Marko. "Razvoj i Primena Novih Metoda za Određivanje Autentičnosti Ulja Semena i Plodova Različitih Biljnih Vrsta.", University of Novi Sad \(Serbia\)](#)

47 words / < 1% match - ProQuest

[Džunuzović, Enis S.. "Dobijanje Nanokompozita na Bazi termoplastičnih Polimera i Uticaj nanočestica Oksida Titana i Gvožđa na Njihova Svojstva", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

46 words / < 1% match - ProQuest

[Krstić, Marko Z.. "Formulacija i Karakterizacija Čvrstih Samo-Dispergujućih Nosača Karbamazepina Izrađenih sa Poroznim Adsorbensima", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

35 words / < 1% match - Internet

[Vuković, Goran. "Synthesis, Characterization and Application of Functionalized Carbon Nanotubes", Belgrade : University of Belgrade, Faculty of Technology and Metallurgy, 2010](#)

8 words / < 1% match - Internet

[Sknepnek, Aleksandra. "Karakteristike čajne gljive - kombuhe, fermentisane u prisustvu ekstrakata odabranih vrsta medicinskih gljiva", Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, 2019](#)

37 words / < 1% match - ProQuest

[Vasiljević, Sanja. "Uticaj uslova koagulacionog procesa na efikasnost uklanjanja mikroplastike u tretmanu voda.", University of Novi Sad \(Serbia\)](#)

36 words / < 1% match - ProQuest

[Stojićević, Aleksandra S.. "Stabilizacija Hladno Presovanog Suncokretovog Ulja Primenom Etarskih Ulja i Ekstrakata Odabranih Vrsta Lekovitog i Začinskog Bilja", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

18 words / < 1% match - Internet from 24-Dec-2018 12:00AM

fedorani.ni.ac.rs

9 words / < 1% match - Internet from 06-Mar-2020 12:00AM

fedorani.ni.ac.rs

8 words / < 1% match - Internet

[Miladinović, Marija. "Quicklime-catalyzed methanolysis of sunflower oil", Универзитет у Нишу, Технолошки факултет, Лесковац, 2013](#)

33 words / < 1% match - ProQuest

[Zelenović, Nevena D.. "Ispitivanje interakcija sekundarnih metabolita elaginske kiseline \(urolitina\) sa albuminima i ekstracelularnim vezikulama.", University of Belgrade \(Serbia\)](#)

32 words / < 1% match - Crossref

[Nataša Bubić-Pajić, Biljana Gatarić, Jelena Čivčija, Gordana Vuleta. "Nanopharmaceuticals: Characteristics of importance for pharmaceutical practice", Arhiv za farmaciju, 2017](#)

32 words / < 1% match - ProQuest

[Čakarević, Jelena. "In Vitro Digestija i Njen Uticaj Na Aktivnost, Stabilnost i Dostupnost Biološki Aktivnih Jedinjenja", University of Novi Sad \(Serbia\), 2022](#)

31 words / < 1% match - ProQuest

[Đozić, Marija S.. "Biokeramičke Prevlake na Bazi Kalcijum-Fosfatnih Jedinjenja Dobijene na Titanu Elektrohemijским Metodama", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

30 words / < 1% match - from 02-Jun-2026 12:00AM

eur-lex.europa.eu

27 words / < 1% match - Internet from 03-May-2022 12:00AM

apps.unizg.hr

26 words / < 1% match - ProQuest

[Spasojević, Jelena P.. "Radijaciono-Hemijska Sintaza Termo-I pH-Osetljivih Antibakterijskih Srebro/Pol\(N-Izopropilakrilamid-Ko- Itakonska Kiselina\) Nanokompozita", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

25 words / < 1% match - ProQuest

[Ресановић, Ивана М.. "Утицај Терапије Кисеоником под Хипербаричним Условима на Ниво и Састав Масних Киселина у Плазми, и Регулацију Експресије и Активности Индуцибилне Азот-Моноксид-Синтазе у Лимфоцитима Пацијената са Инсулин-Зависним Дијабетесом", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

23 words / < 1% match - ProQuest

[Petrovic, Jelena M.. "Uticaj Magnezijuma na Ponašanje, Neuroendokrine i Poromene na Miokardu Uzrokovane Hiperaktivnošću Osovine Hipotalamus-Hipofiza-Nadbubreg kod Pacova.", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

23 words / < 1% match - ProQuest

[Simić, Vera S.. "Antimikrobna Citotoksična I Genotoksična Aktivnost Novosintetisanih Kompleksa Paladijuma\(II\) I Platine\(II\) Sa 2-\(Difenilfosfino\) Benzaldehid-1-Adamantolhidrazonom", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

23 words / < 1% match - ProQuest

[Trifković, Kata T.. "Hidrogelovi na Bazi Hitozana za Kontrolisano otpuštanje Polifenola", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

22 words / < 1% match - ProQuest

[Beloica, Sofija V.. "Mehanističko Modelovanje i Mogućnost Predviđanja Brzine Rastvaranja Lekovite Supstance iz Tableta in Vitro i in Vivo", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

22 words / < 1% match - ProQuest

[Nešović, Marija D.. "Uloga Inhibitora SRC Tirozin-Kinaze u Prevazilaženju Urođeno Rezistentnog i Invanzivnog Fenotipa Glioblastoma", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

22 words / < 1% match - Crossref

[Valentina Jauković, Bojan Čalić, Branka Ivković, Vitaliy V. Khutoryanskiy et al. "Modification of selectively acid-etched halloysite by mucoadhesive chitosan derivatives: New bionanocomposites with improved functional properties", Materials Chemistry and Physics, 2024](#)

22 words / < 1% match - Internet

[Lončarević, Branka. "Optimization of levan production from bacterium Bacillus licheniformis and its application in copolymer synthesis.", Универзитет у Београду, Хемијски факултет, 2019](#)

21 words / < 1% match - ProQuest

[Kragović, Milan M.. "Uklanjanje Jona Olova iz Vodenih Rastvora Upotrebom Prirodnog i Fe\(III\)-Modifikovanog Zeolita", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

21 words / < 1% match - ProQuest

[Maletin, Marija Ž.. "Synthesis, Characterization and Application of New Adsorbents and Ion Exchange Materials for Nickel Removal From Water.", University of Novi Sad \(Serbia\)](#)

21 words / < 1% match - ProQuest

[Vučijak, Nada M.. "Algoritam za Određivanje Fazne Razlike Sinusnih Signala Niskih Učestanosti", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

20 words / < 1% match - ProQuest

[Finaur, Nina. "Fotolitička i fotokatalitička razgradnja odabranih psihoaktivnih komponenata lekova u vodenj sredini.", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

20 words / < 1% match - ProQuest

[Mitrović, Jelena S.. "Antioksidativni Potencijal Polifenola i Ulja Semena Koprive \(Urtica Dioica L.\) i Karakterizacija Proizvoda od Pšeničnog Brašna sa Dodatkom Semena Koprive", University of Nis \(Serbia\), 2024](#)

20 words / < 1% match - ProQuest

[Svonja, Parezanovic Gordana. "Uticaj Vlage i Sastojaka Formulacije Na oslobaa'anje Lamotrigina Iz Tableta Sa Trenutnim oslobaa'anjem.", University of Novi Sad \(Serbia\), 2021](#)

20 words / < 1% match - Internet from 26-Aug-2022 12:00AM

www.pharmacy.bg.ac.rs

19 words / < 1% match - ProQuest

[Ignjatović, Jelisaveta S.. "Razvoj Formulacije i in Vitro/In Silico Karakterizacija Praškova za Inhalaciju sa Modifikovanim Oslobođanjem Lekovitih Supstanci Različitih Biofarmaceutskih Svojstava", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

19 words / < 1% match - ProQuest

[Trumić, Maja S.. "Model kinetike izdvajanja čestica tonera iz vodene suspenzije papira", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

18 words / < 1% match - ProQuest

[Bošković, Marija D.. "Ispitivanje Uticaja Odabranih Etarskih Ulja na Rast Salmonella Spp u Mesu Svinja Pakovanog u Vakuum i Modifikovanu Atmosferu", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

18 words / < 1% match - ProQuest

[Nešić, Aleksandra R.. "Karakterizacija i primena kompleksa na bazi hitozana i amidovanog pektina za uklanjanje azo boja iz vodenih rastvora", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

18 words / < 1% match - ProQuest

[Pavlović, Ksenija. "Mikrotalasno stimulisane transformacije prirodnih i sintetičkih karboksilnih kiselina i njihovih derivata.", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

18 words / < 1% match - ProQuest

[Radoičić, Marija B.. "Nanokompoziti na Bazi Polianilina i Titan \(IV\)-Oksida: Sinteza, Karakterizacija i Primena u Fotokatalizi", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

18 words / < 1% match - ProQuest

[Rakić, Milana. "Diverzitet makrogljiva i njihova uloga u monitoringu stanja sumskih ekosistema Srbije.", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

18 words / < 1% match - ProQuest

[Rakić, Aleksandra A.. "Nanostrukture Polianilina Sintetisane Oksidativnom Polimerizacijom Anilina u Sistemima Bez Dodatka Kiseline", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

18 words / < 1% match - Crossref

[Valentyn Dzyhovskyi, Arianna Romani, Walter Pula, Agnese Bondi et al. "Characterization Methods for Nanoparticle–Skin Interactions: An Overview", Life, 2024](#)

18 words / < 1% match - Internet

[Vučić, Nevena. "Structuring of composite materials based on poly\(lactide\) and carbon nanotubes", Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет, 2019](#)

17 words / < 1% match - ProQuest

[Barudžija, Tanja S.. "Ispitivanje Strukturnih i Magnetnih Svojstava Različitih Polimorfa Mangan-Dioksida", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

17 words / < 1% match - ProQuest

[Krsmanović, Nenad. "Potencijal Lignikolnih Vrsta Gljiva Schizophyllum Commune Fr. 1815., Flammulina Velutipes \(Curtis\) Singer 1951., Trametes Versicolor \(L.\) Lloyd 1921, I Pleurotus Ostreatus \(Jacq. Ex Fr.\) P.kumm. \(1871\) za Proizvodnju Biomaterijala I Funkcionalne Hrane", University of Novi Sad \(Serbia\), 2025](#)

17 words / < 1% match - ProQuest

[Rajić, Vladimir B.. "Kristalna Struktura, Optička i Magnetna Svojstva Nanočestica Zn1-xFeyO\(1-x+1.5y\). \(0.06 ≤ y/\(1-x\) ≤ 0.27\)", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

17 words / < 1% match - ProQuest

[Vasiljević, Bojana. "Microwave-assisted Synthesis of Selected Naphthenic and Bile Acids Derivatives, Exam in Their Biological Activity as Well as Thermal and Chemical Stability of Selected Medicines", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

17 words / < 1% match - ProQuest

[Vasiljević, Ivana I.. "Doprinos Savremenih Matematičkih Pristupa Mehanističkom Razumevanju Farmaceutsko-Tehnoloških Karakteristika Višečestičnih Sistema.", University of Belgrade \(Serbia\)](#)

17 words / < 1% match - Internet from 19-May-2022 12:00AM

www.ph.bg.ac.rs

16 words / < 1% match - ProQuest

[Lopičić, Zorica R.. "Proučavanje sorpcionog i energetskog potencijala otpadne biomase Prunus persica L.", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

16 words / < 1% match - ProQuest

[Petronijević, Nela, Nela. "Ispitivanje mehanizma neutralizacije kiselih rudničkih voda korišćenjem flotacijske jalovine i letećeg pepela.", University of Belgrade \(Serbia\)](#)

16 words / < 1% match - ProQuest

[Radenovic, Dunja. "Uticaj Starenja Stabilizovanog i Solidifikovanog Sedimenta Na Strukturne Karakteristike Matriksa i izluzivanje Metala", University of Novi Sad \(Serbia\), 2021](#)

16 words / < 1% match - Internet

[Velinov, Nena D.. "Sinteza, karakterizacija i primena biosorbenata na bazi različitih ligno-celuloznih materijala hemijski modifikovanih pomoću Al\[sub\]2O\[sub\]3", Универзитет у Нишу, Природно-математички факултет, 2019](#)

16 words / < 1% match - Internet from 07-Mar-2023 12:00AM

iss.rs

16 words / < 1% match - from 30-Jul-2024 12:00AM

link.springer.com

15 words / < 1% match - ProQuest

[Miletic, Aleksandra. "Funkcionalni materijali na bazi elektrospinovanih nanovlakana.", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

14 words / < 1% match - ProQuest

[Kuzminac, Ivana. "Sinteza i antitumorski potencijal C19-derivatizovanih steroidnih D-homo laktona.", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

14 words / < 1% match - ProQuest

[Milosavljević, Nedeljko. "Sinteza, karakterizacija i primena hidrogelova za izdvajanje bakra, kadmijuma i cinka iz vodenih rastvora", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

14 words / < 1% match - ProQuest

[Milovanović, Stoja L.. "Impregnacija Timola na Čvrste Nosače Natkritičnim Ugljenik\(IV\)-Oksidom", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

14 words / < 1% match - ProQuest

[Obradović, Maja D.. "Elektrohemijsko taloženje I karakterizacija legure Ni-W", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

14 words / < 1% match - Crossref

[Tatjana Simić. "Significance of thiol-disulfide balance in SARS-CoV-2 infection", Medicinski podmladak, 2021](#)

14 words / < 1% match - Internet from 20-Dec-2022 12:00AM

[downloads.regulations.gov](#)

13 words / < 1% match - ProQuest

[Bajac, Jelena D.. "Dobijanje emulzionih nosaaa aktivnih materija primenom homogenizera i membranskim emulgovanjem u celiji sa mesanjem.", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

13 words / < 1% match - ProQuest

[Karanac, Milica M.. "Primena Elektrofilterskog Pepela Modifikovanog Kalcijum-Hidroksidom i Oksidima Železa za Uklanjanje Jona Teških Metala iz Vode", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

13 words / < 1% match - ProQuest

[Lješević, Marija B.. "Mikrobna degradacija složenih aromatičnih zagađujućih supstanci I analiza proizvoda biodegradacije sveobuhvatnom dvodimenzionalnom gasnom hromatografijom sa masenom spektrometrijom", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

13 words / < 1% match - ProQuest

[Pajnik, Jelena M.. "Primena natkritičnog ugljenik\(iv\)-oksida za dobijanje materijala sa repelentnim svojstvima na bazi piretrina", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

13 words / < 1% match - ProQuest

[Pavlović, Miroslav M.. "Sinteza i Karakterizacija Elektroprovodnih Kompozitnihmaterijala na Bazi Biorazgradivih Polimera i Prahova Metala", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

13 words / < 1% match - ProQuest

[Tačić, Ana D.. "Razvoj i karakterizacija naprednih farmaceutskih sistema sa sulfanilamidom", University of Nis \(Serbia\), 2024](#)

12 words / < 1% match - ProQuest

[Beljin, Jelena. "Karakterizacija bioremedijacionih procesa u sedimentima zagadenim policiklicnim aromaticnim ugljovodonicima i procena biodostupnosti", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

12 words / < 1% match - ProQuest

[Dragojlović, Danka. "Potencijal brašna Od različitih Vrsta Insekata Kao Alternativnih Izvora Proteina u Ishrani životinja", University of Novi Sad \(Serbia\), 2023](#)

12 words / < 1% match - ProQuest

[Sentić, Milica N.. "Elektrogenerisana Hemiluminiscencija: Ispitivanje Mehanizma i Njena Primena u Bioanalitici", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

12 words / < 1% match - ProQuest

[Stojković, Aleksandra M.. "Biofarmaceutska Karakterizacija Interakcije Ciprofloksacina i Jona Metala", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

12 words / < 1% match - ProQuest

[Škorić, Marija Lj. Lučić. "Uklanjanje Boja za Tekstil iz Vode Fotokatalitičkom Degradacijom u Prisustvu Nanočestica Titan-dioksida Imobilisanih na Hidrogelove Hitozana i Alginata", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

11 words / < 1% match - Crossref

[Bojan Čalija, Jela Milić, Nikola Milašinović, Aleksandra Daković, Kata Trifković, Jovica Stojanović, Danina Krajišnik. "Functionality of chitosan-halloysite nanocomposite films for sustained delivery of antibiotics: The effect of chitosan molar mass", Journal of Applied Polymer Science, 2019](#)

11 words / < 1% match - ProQuest

[Popovic, Senka. "Istrazivanje dobijanja i karakterizacija biorazgradivih kompozitnih filmova na bazi biljnih proteina", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

11 words / < 1% match - ProQuest

[Sovljanski, Olja. "Mikrobioloska Precipitacija Karbonata – Od Odabira Induktora Do Ispitivanja Bioprocenih Parametara", University of Novi Sad \(Serbia\), 2022](#)

11 words / < 1% match - ProQuest

[Veliakovic, Tatjana D.. "Optimizacija formulacije medijuma za proizvodnju antibiotika ciljanog delovanja primenom prirodnog izolata Streptomyces hygroscopicus.", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

10 words / < 1% match - ProQuest

[Apostolović, Tamara. "Ispitivanje Mehanizma Transporta Odabranih Organskih Polutanata Kroz Aluvijalni Sloj Reke Dunav Kao Doprinos izučavanju Procesu Obalske Filtracije", University of Novi Sad \(Serbia\), 2022](#)

10 words / < 1% match - ProQuest

[Brzić, Saša J.. "Uticaj Tri\(2,3- Epoksiopropil\)Izocijanurata Kaovezujućeg Agensa na Karakteristike Kompozitnih Raketnih Goriv", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

10 words / < 1% match - ProQuest

[Gligorovska, Ljupka N.. "Metabolizam Lipida i Signalni Put Glukokortikoida u Visceralnom Masnom Tkivu i Jetri Mif-/Miševa na Režimu Ishrane Obogaćene Fruktozom", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

10 words / < 1% match - ProQuest

[Janković, Marijana Z.. "Proteinski Profili Pšenice i Njihov Uticaj na Tehnološka Svojstva Brašna", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

10 words / < 1% match - ProQuest

[Kosutic, Milenko. "Ekstrudirani Fleks Proizvod sa Dodatkom Divljeg Origana i Konzumnog Suncokreta Kao Funkcionalnih Komponenti", University of Novi Sad \(Serbia\), 2021](#)

10 words / < 1% match - ProQuest

[Kuzmanović, Bojana R.. "Struktura i Elektrohemijaska Svojstva Polianilina i Njegovih Kompozita Sintetisanih u Prisustvu Nestehiometrijskog Cerijum\(IV\)-Oksida CeO₂-δ-- Eksperimentalni i Teorijski Pristup", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

10 words / < 1% match - Crossref

[Mehmet Can, Sahin Demirci, Yildiz Yildirim, Canan Çakır Çoban, Mustafa Turk, Nurettin Sahiner. "Modification of halloysite clay nanotubes with various alkyl halides, and their characterization, blood compatibility, biocompatibility, and genotoxicity", Materials Chemistry and Physics, 2021](#)

10 words / < 1% match - ProQuest

[Milaković, Dragana. "Populaciona farmakokinetika linezolida i uspostavljanje korelacije sa parametrima efikasnosti i bezbjednosti kod pacijenata sa akutnim respiratornim distres sindromom na veno-venskoj ekstrakorporalnoj membranskoj oksigenaciji.", University of Belgrade \(Serbia\)](#)

10 words / < 1% match - ProQuest

[Mrkonjić, Zorica. "Fitohemijska karakterizacija i biohemijska ispitivanja plodova vrsta roda Sorbus L. 1753 \(Rosaceae, Maloideae\) kao izvora prirodnih nutraceutika.", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

10 words / < 1% match - ProQuest

[Rašković, Brankica G. "Ispitivanje Stabilnosti Serin- I Cistein-Proteaza na Niskim Temperaturama", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

10 words / < 1% match - ProQuest

[Simetic, Tajana M. Đ; Đ, Đ¼ĐµŃ, Đ, Ń, ĐčĐ°Ń~Đ°Đ½Đ° M.. "Degradacija Odabranih Organskih Zagađujućih Materija u Vodi Primenom Unapređenih Oksidacionih Procesu.", University of Novi Sad \(Serbia\), 2023](#)

10 words / < 1% match - ProQuest

[Stankovic, Aljosa. "Sinteza i Karakterizacija Radiofarmaceutika na Bazi Superparamagnetnih Nanocestica i Efekat Dualne Terapije na Eksperimentalnom Modelu Adenokarcinoma Kolona", University of Novi Sad \(Serbia\), 2022](#)

10 words / < 1% match - ProQuest

[Tubic, Aleksandra. "Effect of Ozone, Ozone/Hydrogen Peroxide and Hypochlorite on Natural Organic Matter and Oxidation By-products Content in Water after Coagulation, Flocculation and Adsorption Processes.", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

10 words / < 1% match - ProQuest

[Vladimir, Tadic. "Fazifikacija Gaborovog filtra i njena primena u detekciji registarskih tablica.", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

10 words / < 1% match - ProQuest

[Vučenović, Valentina D. Topić. "Razvoj Populacionog biokinetičkog i Dinamičkog Modela Radioaktivnog Joda\(131I\) i Primena u Optimizaciji Doziranja Kod Pacijenata sa Benignim Oboljenjem Štitaste Žlezde", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

10 words / < 1% match - ProQuest

[Šalipur, Hristina V.. "Dobijanje vodonika fotokatalitičkim razlaganjem vode korišćenjem dopiranih titanatnih nanokatalizatora.", University of Belgrade \(Serbia\)](#)

10 words / < 1% match - ProQuest

[Živanović, Bojana R.. "Uticaj Ciklusa Suše na Metabolizam Ugljenih Hidrata i Antioksidanata Kod Divljeg Tipa i Flacca Mutanta Paradajza \(Lycopersicum Esculentum Mill.\) Gajenih na Različitim Svetlosnim Režimima", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

9 words / < 1% match - ProQuest

[Filijović, Nataša M. Đorđević. "Karakterizacija i Procena Kritičnih Parametara Stabilnosti Tableta Olanzapina i Aripiprazola Primenom Eksperimentalnog Dizajna", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

9 words / < 1% match - ProQuest

[Karanović, Danijela J.. "Efekti hronične Primene Losartana i Tempola u Eksperimentalnom Modelu Fokalno Segmentne Glomeruloskleroze Kod Spontano Hipertenzivnih Pacova", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

9 words / < 1% match - ProQuest

[Marjanović, Vesna M.. "Proučavanje sorpcije hroma\(VI\) iz vodenih rastvora na funkcionalizovanim sepiolitima", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

9 words / < 1% match - ProQuest

[Milicevic, NatUa. "Zamenjivaci masti na bazi pšenčnih i ovsenih mekinja i njihova primena u formulaciji keksa", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

9 words / < 1% match - Crossref

[Prasant Nahak, Gourab Karmakar, Priyam Chettri, Biplab Roy et al. "Influence of Lipid Core Material on Physicochemical Characteristics of an Ursolic Acid-Loaded Nanostructured Lipid Carrier: An Attempt To Enhance Anticancer Activity", Langmuir, 2016](#)

9 words / < 1% match - ProQuest

[Sadikovic, Selka. "Bihevioralnogenetičke Osnove Petofaktorskog Modela Ličnosti", University of Novi Sad \(Serbia\), 2023](#)

9 words / < 1% match - ProQuest

[Sarić Matutinović, Marija J.. "Klinička Vrednost Antitela na TSH Receptore Kod Pacijenata sa Graves-Ovom Oftalmopatijom/Orbitopatijom", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

9 words / < 1% match - ProQuest

[Savić, Jelena S.. "Dizajniranje, Sintez, Fizičko-hemijske i Biološke Karakteristike Derivata \$\beta\$ -Hidroksi- \$\beta\$ -Arlalkanskih Kiselina", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

9 words / < 1% match - from 11-Jun-2025 12:00AM

[core.ac.uk](#)

9 words / < 1% match - Internet from 18-Aug-2019 12:00AM

[issuu.com](#)

9 words / < 1% match - Internet from 25-May-2021 12:00AM

[repozitorij.unizg.hr](#)

9 words / < 1% match - Internet from 28-Oct-2020 12:00AM

[www.mdpi.com](#)

9 words / < 1% match - from 03-Feb-2026 12:00AM

[www.ucg.ac.me](#)

9 words / < 1% match - ProQuest

[Đorđević, Nenad J.. "Primena Modifikovane Nanoceluloze za Pобоljšanje Svojstava Višeslojnih Filmova na Bazi Polietilena Male Gustine", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

8 words / < 1% match - Crossref

["Cellulose-Based Superabsorbent Hydrogels", Springer Science and Business Media LLC, 2019](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Banjanac, Katarina M.. "Imobilizacija Enzima na Nanočestice SiO₂ Modifikovane Organosilanima", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Bebić, Jelena M.. "Imobilizacija lakaze za primenu u razgradnji organskih zagađujućih materija", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Cajko, Kristina. "Dobijanje i karakterizacija 2D i 3D funkcionalnih materijala iz klase halkogenida dopiranih srebrom.", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Dordevic, Miljana. "Redukovanje sadržaja Nesaharoznih Jedinjenja u Melasi secerne Repe Primenom Modifikovanih Mineralnih i Celuloznih Adsorbenata", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Egelja, Adela D.. "Uticaj Mikrostrukture na Mehaničke Osobine Kompozitne Keramike Al₂O₃-Y₃Al₅O₁₂", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

8 words / < 1% match - Crossref

[Engineering Materials, 2016.](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Ivanovska, Aleksandra M.. "Uticaj Hemijskog Modifikovanja na Strukturu i Svojstva Jute", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Jevtić, Sanja O.. "Sinteza i karakterizacija materijala nastalih modifikacijom zeolita \(klinoptilolita\) i mikroporoznih fosfata sa strukturom zeolita", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Krulj, Jelena. "Potencijal biosinteze aflatoksina B₁ u razliitim vrstama Triticum spp.", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

8 words / < 1% match - Crossref

[Maithri Tharmavaram, Gaurav Pandey, Deepak Rawtani. "Surface modified halloysite nanotubes: A flexible interface for biological, environmental and catalytic applications", Advances in Colloid and Interface Science, 2018](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Marković, Marija P. "Kobaltom Impregnisane Pilarene Gline kao Katalizatori Oksidativne Degradacije Zagađujućih Materija Vode", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Milenković, Ivana Lj.. "Toksičnost i Biološki Uticaj Nanočestica Cerijum-Oksida Obloženih Ugljenim Hidratima na Odabrane Model Organizme", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Milovanović, Aleksandra. "Primena Imobilizovanog Čelijskog Zida Kvasca Saccharomyces Cerevisiae u Proizvodnji Invertnog Šećera", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Milović, Mladen R.. "Razvoj, Izrada i Karakterizacija Čvrstih Samodispergujućih Formulacija za Oralnu Primenu", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Mičić, Maja M.. "Radijaciona Sinteza i Karakterizacija Kopolimernih Hidrogelova na Bazi 2-Hidroksietil Metakrilata i Funkcionalizovanih Oligo\(alkilen Glikol\) \(Met\)akrilata", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Obradović, Vera M.. "Procesiranje i karakterizacija hibridnih nanokompozitnih materijala povećane otpornosti na udar", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Petrović, Jelena T.. "Optimizacija Procesne Hidrotermalne Karbonizacije Komine Grožđa i Primena Dobijene Hidročadi", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Popić, Mia M.. "Uticaj Individualnih Protektivnih Faktora na Pregovaračku Asertivnost Žena u Situaciji Pretnje Rodnim Stereotipom.", University of Belgrade \(Serbia\)](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Romanić, Ranko. "Hemometrijski Pristup Optimizaciji tehnoloških Parametara Proizvodnje Hladno Presovanog Ulja Semena Visokooleinskog Suncokreta", University of Novi Sad \(Serbia\), 2024](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Savanović, Jovo. "Uticaj dodatka etarskih ulja na kvalitet fino usitnjenih barenih i fermentisanih suvih kobasica", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Savić, Andrija B.. "Sinteza, karakterizacija i primena adsorbenata na bazi magnetita za uklanjanje fosfata iz vode", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Savić, Vesna Lj.. "Hemijski Sastav i Farmakološke Aktivnosti Vodenog Ekstrakta Korena Gaveza \(Symphytum Officinale L.\)", University of Nis \(Serbia\), 2024](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Sedlar, Tea. "Nusproizvod agroindustrije - zeleno lišće: novi izvor proteina i bioaktivnih jedinjenja", University of Novi Sad \(Serbia\), 2023](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Spasevski, Nedeljka. "Uticaj primene razlicitih izvora prirodnih pigmenata na boju zumanca i ko-ekstrudata na bazi semena lana, lanika i konoplje na profil masnih kiselina u jajima", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Spasojevic, Ljiljana. "Priprema nanocestica Zeina i Njihova Primena Kao Funkcionalnih Koloida", University of Novi Sad \(Serbia\), 2022](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Sucurovic, Aleksandra. "Kinetika i mehanizam uklanjanja odabranih metala iz vode adsorpcijom na aminofunkcionalizovanom ugljenicnom nanomaterijalu.", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Veselinović, Ljiljana M.. "Kristalna Struktura i Električne Karakteristike BaTi1-xSnxO3 i CaCu3Ti4-xRuxO12 Perovskitnih Materijala", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Vesković, Ana I.. "Primena Elektronske Paramagnetne Rezonancije za Proučavanje Albuminskih Hidrogelova za Kontrolisanu Isporku Antikancerskih Lekova i Detekciju Vijabilnosti Čelija", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Zec, Jelena R.. "Procesiranje i Karakterizacija Hibridnih Kompozita na Bazi Polietilena Visoke Molarne Mase", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

8 words / < 1% match - Internet from 19-Feb-2023 12:00AM

biotech.uniri.hr

8 words / < 1% match - Internet from 06-Oct-2022 12:00AM

digibug.ugr.es

8 words / < 1% match - from 19-Aug-2025 12:00AM

eprints.whiterose.ac.uk

8 words / < 1% match - Internet from 20-Nov-2020 12:00AM

idoc.pub

8 words / < 1% match - from 16-Dec-2024 12:00AM

phaidrdbg.bg.ac.rs

8 words / < 1% match - Internet

[Prekajski, Marija D.. "Synthesis and characterization of CeO₂-Bi₂O₃ solid solution", Универзитет у Београду, Рударско-геолошки факултет, 2014](#)

8 words / < 1% match - Internet from 06-Apr-2020 12:00AM

www.bib.irb.hr

8 words / < 1% match - from 09-May-2023 12:00AM

www.researchgate.net

8 words / < 1% match - from 01-Mar-2024 12:00AM

zir.nsk.hr

8 words / < 1% match - ProQuest

[Đorđević Aleksić, Jelena Z.. "Biološka Aktivnost Alkiltio I Ariltio Derivata 2-terc-butil-1,4-benzohinona", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Šatrić, Ana. "Karakterizacija svojstava kačkavalja sa smanjenim sadržajem natrijum-hlorida tokom zrenja.", University of Belgrade \(Serbia\)](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Šešlija, Sanja I.. "Acilovani derivati pektina: Sinteza, karakterizacija i mogućnost primene", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

8 words / < 1% match - ProQuest

[Стојковић, Никола И.. "Sulfatima i Fosfatima Modifikovan Zro\[Sub\]2 Kao Katalizator u Izabranim Industrijski Značajnim Petrohemijskim Procesima", University of Nis \(Serbia\), 2024](#)

7 words / < 1% match - ProQuest

[Ilić, Marija D.. "Primeni in Vitro i in Silico Metoda za Predviđanje Lek-hrana Interakcije: Tablete sa Modifikovanim Oslobođanjem Nifedipina", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

7 words / < 1% match - ProQuest

[Jovanović, Mirna N.. "Razvoj Antitumorske Strategije Primenom Inhibicije Tiorredoxin-Reduktaze 1 u Čelijskim Modelima Glioblastoma i Neuroblastoma", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

7 words / < 1% match - ProQuest

[Kebert, Marko. "Biohemijska i fizioloska karakterizacija klonovatopole \(Populus spp.\) u procesu fitoekstrakcije bakra, nikla i kadmijuma.", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

7 words / < 1% match - ProQuest

[Maslovaric, Marijana. "A Study on the Nutritive Value of Dried Apple Pomace and Possibilities for Using Its Utilization in the Industrial Production of Animal Feed.", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

7 words / < 1% match - ProQuest

[Mrdan, Gorana S.. "Sinteza i fizicko-Hemijska Karakterizacija N-aromaticnih Monosupstituisanih Derivata Karbohidrazona i Tiokarbohidrazona", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

7 words / < 1% match - ProQuest

[Petronijevic, Mirjana. "Uticaj oksidacionih procesa na bazi ozona, vodonik-peroksida i UV zracenja na sadrzaj i reaktivnost prirodnih organskih materija u vodi", University of Novi Sad \(Serbia\), 2020](#)

7 words / < 1% match - Crossref

[Sreekanth Reddy Obireddy, Kaiyan Liu, Chong Yu, Dahong Zhang, Guo-Qing Wu, Wing-Fu Lai. "Properties and use of chitosan/clay nanocomposites for drug delivery: A review", International Journal of Biological Macromolecules, 2025](#)

7 words / < 1% match - ProQuest

[Tancic, Natasa. "Determinante Profesionalnog Razvojanastavnika U Inkluzivnom skolskom Kontekstu", University of Novi Sad \(Serbia\), 2021](#)

7 words / < 1% match - ProQuest

[Vukoje, Ivana D.. "Sinteza, Karakterizacija i Primena Nanočestica Srebra na Makroporoznom Polimernom Nosaču", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

7 words / < 1% match - ProQuest

[skrobot, Dubravka. "Senzorski, Nutritivni I Funkcionalni Profil Integralne Testenine Sa Dodatkom Heljadinog Brasna", University of Novi Sad \(Serbia\), 2021](#)

7 words / < 1% match - ProQuest

[Маринковић, Милош М.. "Dobijanje Biodizela Korišćenjem Katalizatora Na Bazi Hemijski Modifikovanog Al₂O₃Jedinjenjima Kalijuma: Korelacija Između Fizičko-hemijskih Svojstava Katalizatora, Procesnih Parametara I Prinosa Biodizela", University of Nis \(Serbia\), 2024](#)

6 words / < 1% match - Crossref

[Amrita Das, Prateep Sengupta, Shreya Chatterjee, Jasmina Khanam et al. "Development and Evaluation of Magnetite Loaded Alginate Beads Based Nanocomposite for Enhanced Targeted Analgesic Drug Delivery", Magnetochemistry, 2025](#)

6 words / < 1% match - ProQuest

[Buha, Aleksandra A.. "Toksični Efekti Produžene Izloženosti Kadmijumu I/ili Polihlorovanim Bifenilima u Pacova", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

6 words / < 1% match - ProQuest

[Dodoš, Tanja. "Fitohemijska i morfološka Diferencijacija Prirodnih Populacija Satureja Montana L., S. Kitaibelii Wierzb. ex Heuff. i S. Subspicata Bartl. ex Vis. \(Lamiaceae\)", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

6 words / < 1% match - ProQuest

[Milutinović, Violeta M.. "Ispitivanje Sekundarnih Metabolita i Farmakološke Aktivnosti Odabranih Vrsta Roda Hieracium L. \(Asteraceae\) sa Balkanskog Poluostrva", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

6 words / < 1% match - ProQuest

[Petrović, Aleksandra A.. "Primena Koncepta Dizajna Kvaliteta u Ranoj Fazi Farmaceutskog Razvoja Tableta Sa Modifikovanim Oslobođanjem Aktivne Supstance", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

6 words / < 1% match - ProQuest

[Popović, Jasmina J.. "Efekti Nekih Predtretmana na Hemijski Sastav Juvenilnog i Zrelog Drveta Poljskog Jasena \(Fraxinus Angustifolia Vahl. Ssp. Pannonica Soó & Simon\) i Mogućnosti Primene Tako Modifikovanog Drveta", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

6 words / < 1% match - ProQuest

[Vazic, Tamara. "Smanjenje Ukupnog Kapaciteta Vodenih Ekosistema i Primena Vodonik-Peroksida u Regulaciji Ubrzane Eutrofizacije i Cvetanja Cijanobakterija.", University of Novi Sad \(Serbia\), 2021](#)

6 words / < 1% match - ProQuest

[Vujović, Maja M.. "Razvoj Nove Analitičke Metode Ultra Brze Tačne Hromatografije sa Tandem Masenim Detektorom za Određivanje Ambroksol Hidrohlorida i Njena Primena", University of Nis \(Serbia\), 2024](#)

6 words / < 1% match - Internet

[Sterjova, Marija, Dzodic, Predrag, Makreski, Petre, Janevik-Ivanovska, Emilija. "Cold labeled trastuzumab-p-SCN-Bn-DTPA and trastuzumab-p-SCN-Bn-1B4M-DTPA conjugates– preparation and spectroscopic analysis", 2018](#)

6 words / < 1% match - ProQuest

[Јелић, Александра Н.. "Механичка и Термичка Својства Синтетисаних Нанокмпозитних Материјала на Бази Халојзита и Калцијум-силиката", University of Belgrade \(Serbia\), 2024](#)

6 words / < 1% match - ProQuest

[Николић, Милена Д.. "Оптимизација и Валидација Исп-оес Методе и Цикличне Волтаметрије за Одређивање Елементног Састава и Антиоксидативне Активности Одабраних Сорти Јагодастор Боћа", University of Nis \(Serbia\), 2024](#)

paper text:

UNIVERZITET U BEOGRADU FARMACEUTSKI FAKULTET Valentina U. Jauković Nanokompozitni materijali na bazi halojzita i hitozana kao potencijalni farmaceutski ekscipijensi: istraživanje uticaja postupka izrade na fizičko-hemijske i funkcionalne osobine

Doktorska disertacija Beograd , 2026 **UNIVERZITET U BEOGRADU FARMACEUTSKI FAKULTET**



Influence of selective acid-etching on functionality of halloysite-chitosan nanocontainers for sustained drug release

Valentina Jauković^a, Danina Krajišnik^{a,*}, Aleksandra Daković^b, Ana Damjanović^c, Jugoslav Krstić^d, Jovica Stojanović^b, Bojan Čalić^a

^a University of Belgrade, Faculty of Pharmacy, Vojvode Stepe 450, 11 221 Belgrade, Serbia

^b Institute for the Technology of Nuclear and Other Mineral Raw Materials, Franje d'Epere 86, 11000 Belgrade, Serbia

^c Institute of Oncology and Radiology of Serbia, Pasterova 14, Belgrade, Serbia

^d University of Belgrade, Institute of Chemistry, Technology and Metallurgy, Njegoševa 12, 11000 Belgrade, Serbia

ARTICLE INFO

Keywords:

Halloysite nanotubes
Chitosan
Nanocomposites
Etching
Aceclofenac
Sustained release

ABSTRACT

The functionality of halloysite (Hal) nanotubes as drug carriers can be improved by lumen enlargement and polymer modification. This study investigates the influence of selective acid etching on Hal functionalization with cationic biopolymer chitosan. Hal was subjected to lumen etching under mild conditions, loaded under vacuum with nonsteroidal antiinflammatory drug aceclofenac, and incubated in an acidic solution of chitosan. The functionality of pristine and etched Hal before and upon polymer functionalization was assessed by ζ -potential measurements, structural characterization (FT-IR, DSC and XRPD analysis), cell viability assay, drug loading and drug release studies.

Acid etching increased specific surface area, pore volume and pore size of Hal, decreased ζ -potential and facilitated binding of the cationic polymer. XRPD and DSC analysis revealed crystalline structure of etched Hal. Successful chitosan binding and drug entrapment were further confirmed by FT-IR and DSC studies. XRPD showed surface polymer binding. DSC and FT-IR analyses confirmed the presence of the entrapped drug in its crystalline form. Drug loading was increased for $\approx 81\%$ by selective lumen etching. Slight decrease of drug content occurred during chitosan functionalization due to aceclofenac diffusion in the polymer solution. The drug release was more sustained from etched Hal nanocomposites (up to $\approx 87\%$ for 12 h) than from pristine Hal (up to $\approx 97\%$ for 12 h) due to more intensive chitosan binding. High human fibroblast survival rates upon exposure to pristine and etched Hal before and after chitosan functionalization ($>90\%$ in the concentration of 1000 $\mu\text{g/mL}$) confirmed that both lumen etching under mild conditions and polymer functionalization had no significant effect on cytocompatibility.

Based on these findings, selective lumen etching in combination with polycation modification appears to be a promising approach for improvement of Hal nanotubes functionality by increasing payload, polymer binding capacity, and sustained release properties with no significant effect on their cytocompatibility.

1. Introduction

Clay minerals have been traditionally used as excipients (e.g. diluents, lubricants, binders, disintegrants, desiccants, adsorbents, pigments, opacifiers, emulsifying, thickening and anticaking agents) in solid, liquid and semisolid pharmaceutical preparations for various routes of administration [1,2]. As abundant, inexpensive, biocompatible, stable and highly functional materials with unique physicochemical features, these minerals are recently attracting considerable

attention in the rapidly growing field of advanced drug delivery [3,4].

Among them, halloysite (Hal) is particularly attractive due to its hollow tubular structure composed of 10–15 rolled aluminosilicate bilayers ($\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4 \cdot n\text{H}_2\text{O}$), with negatively charged siloxane groups ($\text{Si}-\text{O}-\text{Si}$) located at the outer surface and positively charged aluminol groups ($\text{Al}-\text{OH}$) located at the inner surface [3,5]. Such unique structure allows selective lumen loading with negatively charged molecules and surface adsorption of positively charged molecules [6]. Besides, having an external diameter of 40–60 nm and an internal diameter of

* Corresponding author.

E-mail address: danina.krajsnik@pharmacy.bg.ac.rs (D. Krajišnik).

<https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112029>

Received 8 January 2021; Received in revised form 13 February 2021; Accepted 2 March 2021

Available online 10 March 2021

0928-4931/© 2021 Elsevier B.V. All rights reserved.

10–15 nm Hal is considered as a nanomaterial [6,7].

The functionality of Hal as nanocontainer for sustained drug delivery can be improved by its covalent and noncovalent modification using various polymers [8–15]. Noncovalent functionalization with cationic polymers, such as chitosan and polyethyleneimine in acidic conditions is based on electrostatic interactions between their protonated amine groups and negatively charged siloxane groups at outer surface of Hal [14,16,17].

However, the use of Hal as nanocontainer for drug delivery is limited by its low drug loading capacity (5–10 wt%) [6]. This can be overcome by different approaches such as selective etching of alumina from the lumen (chemical modification) [18] and cryoscopic expansion (non-chemical modification) [19]. Recent findings have shown that Hal lumen enlargement affects the functionality of Hal modified by a nonionic-polymer [11]. Nevertheless, a combined strategy based on lumen enlargement and polycationic functionalization has not been employed so far. Therefore, the present study was designed to investigate the simultaneous effect of these two approaches on functionality-related characteristics of Hal-polycation nanocomposites as sustained release nanocontainers for small molecules. Etching under harsh acidic conditions may result in external surface collapse, loss of crystallinity or excessive porosity [20]. These structural changes may lead to unwanted leakage of entrapped drug. To avoid this, lumen enlargement was performed under mild acidic conditions. In the second stage, etched Hal was modified with chitosan by stirring in the acidic polymer solution. Prior polymer functionalization, Hal was loaded with aceclofenac, a nonsteroidal antiinflammatory drug. Owing to its short half-life ($t_{1/2} \sim 4$ h) and local gastric irritation triggered by its burst release this drug is a suitable candidate for sustained release systems [21].

2. Experimental

2.1. Materials

Hal nanopowder with tubular morphology (30–70 nm $\times$ 1–3 μ m), 1.26–1.34 mL/g pore volume, 64 m²/g specific surface area and 8.0 meq/g cation exchange capacity was supplied from Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Germany). Aceclofenac was obtained by Jinan Jiaquan Chemical Co. Ltd. (China). Highly deacetylated (75–85%) medium molecular weight (90–310 kDa) chitosan, methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide (MTT), sodium dodecyl sulfate (SDS) and nutrient medium (RPMI-1640) were purchased from Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Germany). Human lung fibroblasts cell line (MRC5) was obtained from American Type Culture Collection (Manassas, VA, USA). Fresh purified water (Ph. Eur. 10 grade) was used for all experiments. All other chemicals and reagents were of analytical grade and used as such without further purification.

2.2. Enlargement of Hal nanotubes lumen

The lumen of Hal nanotubes was enlarged by heat-assisted treatment with acetic acid according to a previously reported protocol [22] with slight modification. Briefly, pristine Hal was dried at 100 °C for 12 h and then dispersed in 1 M aqueous solution of glacial acetic acid. The dispersion was continuously stirred on a magnetic stirrer at 50 °C for 60 h. Thereafter, Hal was repeatedly washed with purified water until the pH of supernatant reached pH value of purified water. In a final step, etched Hal was dried at 50 °C for 24 h prior to further use and labeled as eHal.

2.3. Preparation of aceclofenac-loaded Hal nanotubes

To load the drug into Hal and eHal nanotubes 1.6 g of each clay was dispersed in 10 mL of aceclofenac ethanol solution ($C_0 = 80$ mg/mL) and shaken on a laboratory shaker (KS 260 basic, IKA®-Werke GmbH, Germany) at 150 rpm speed for 24 h. The resulting dispersions were kept

under vacuum in a vacuum drying oven VT 6025 (Thermo Fisher Scientific, USA) for 1 h at 20 °C and then cycled back to atmospheric pressure. This procedure was repeated three times to drive the drug solution into the nanotubes lumen and increase loading efficiency [23]. Afterwards, the drug-loaded nanotubes were separated by centrifugation at 15,000 rpm (21,130 rcf) for 5 min at 21 °C (Eppendorf Centrifuge 5424R, Eppendorf, Germany), washed with ethanol to remove the unbound aceclofenac and dried for 12 h at 50 °C. Before further experiments, the drug-loaded samples were grounded and sieved through a 125 μ m sieve. Drug-loaded Hal and eHal were labeled as Ace-Hal and Ace-eHal, respectively.

2.4. Preparation of nanoclay-polymer composites

Chitosan solution (0.5 wt%) was obtained by dissolving the required amount of chitosan in 0.1 M acetic acid aqueous solution under stirring with a Heidolph RZR 2020 three-blade propeller stirrer (Heidolph, Germany). The resulting solution was filtered and used for Hal modification. Hal was added to the polymer solution (2 wt%, Hal: polymer ratio = 2:0.5) and sonicated for 1 min in an ultrasonic bath Sonorex RK1024 (Bandelin, Germany) to remove initial Hal agglomerates and then stirred for 10 min using an IKA RH basic 2 magnetic stirrer (IKA®-Werke GmbH, Germany). The obtained Hal-Ch composites were separated from the polymer solution by centrifugation at 15,000 rpm for 5 min at 21 °C (Eppendorf Centrifuge 5424R, Eppendorf, Germany) and washed three times with purified water to remove unbound chitosan. Thereafter, the composite powder was dried for 12 h at 50 °C, grounded and sieved through a 125 μ m sieve. Drug-loaded Hal-Ch and eHal-Ch composites were prepared by following the above described procedure from Ace-Hal and Ace-eHal and obtained composites were denoted as Ace-Hal-Ch and Ace-eHal-Ch, respectively.

2.5. Specific surface area and pore size analysis

The adsorption-desorption isotherms of Hal and eHal samples were obtained by N₂ physisorption measurement at –196 °C on a Sorptomatic 1990 Thermo Finnigan device. First, the empty mass of the vacuumed sample holder (burette) was measured, and its adsorption parameters were also determined by physisorption of N₂ at –196 °C (blank measurement). Before physisorption measurement, the sample was placed in a burette and pre-treated by evacuation below 0.1 Pa for 2 h at room temperature and an additional 24 h at 40 °C at the same residual pressure. After cooling, the exact mass of the sample (± 0.1 mg) used in the analysis was determined from the difference in the mass of the blank measurement.

The specific surface area (S_{BET}) of the sample was calculated according to the Brunauer, Emmett, Teller method, from the linear part of the nitrogen adsorption isotherms at relative pressure region determined according to Thommes et al. [24] and assuming a closely packed BET monolayer, with a cross-sectional area of N₂ of 0.162 nm² at 77 K and 0.8086 g/cm³ for density of liquid N₂ [25]. The Dubinin-Radushkevich method [26], was used to determine the micropore volume (V_{mic}) while the mesopore volume (V_{meso}) and the mesopore size distribution was estimated by the Barrett, Joyner, and Halenda (BJH) method [27] from the desorption branch using the Lecloux standard isotherm [28].

2.6. Characterization of Hal and Hal-Ch nanocomposites

2.6.1. Zeta potential measurements

Zeta potential (ζ) of 0.1 mg/mL Hal and Hal-Ch composite dispersions in deionized water was measured by laser Doppler microelectrophoresis using a Zetasizer NanoZS90 instrument (Malvern Instruments, UK). The pH value of the investigated dispersions was measured using a HI 2223 pH meter (Hanna Instruments, SAD) and adjusted by adding 0.1 M NaOH and 0.1 M HCl solutions. To ensure complete redispersion prior ζ measurements, the colloidal dispersions were sonicated in a

Sonorex RK 102 H ultrasonic bath (Bandelin, Germany) and transferred to disposable folded capillary DTS1070. Each measurement was repeated three times at 25 °C. The average values were calculated and expressed as a function of pH. Prior the measurements, the operating conditions were checked using a calibrated latex dispersion supplied by Malvern Instruments ($\zeta = -50 \pm 5$ mV).

2.6.2. Drug loading determination

Aceclofenac-loaded samples were transferred in USP phosphate buffer solution (PBS) at pH 7.4 and vigorously magnetically stirred for 12 h and then ultrasonicated for 1 h to ensure complete release of the entrapped drug. The released aceclofenac was separated from the dispersion by filtration and its concentration was determined spectrophotometrically at 229 nm by determined by Evolution 300 UV-VIS spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, UK). The drug loading (DL%) was calculated by the following Eq. (1):

$$\%DL = 100 \times \frac{c \times V}{m} \quad (1)$$

where c is the concentration of the dissolved drug (mg/mL), V is the volume of the PBS solution (mL), and m is the initial mass of drug-loaded sample (mg).

2.6.3. Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy

FT-IR spectra of the nanocomposite powders and their individual components were recorded using a Nicolet iS50 spectrometer (Thermo Scientific, USA) with a diamond attenuated total reflectance (ATR) smart accessory in the range of 4000–400 cm^{-1} at a resolution of 2 cm^{-1} .

2.6.4. Thermal analysis

Differential scanning calorimetry (DSC) experiments were performed on a DSC1 instrument (Mettler-Toledo, Switzerland). Accurately weighed samples were crimped in a pierced 40 μL standard aluminum pans and heated from 25 °C to 500 °C at a rate of 10 °C/min under 50 mL/min nitrogen flow rate. The empty standard aluminum pan was used as a reference. The obtained thermal data were analyzed by STARE Software v12.10.

2.6.5. X-ray powder diffraction method

The X-ray powder diffraction (XRPD) patterns were obtained using a Philips PW-1710 automated diffractometer (Philips, The Netherlands) with a Cu tube operating at 40 kV and 30 mA. The instrument was equipped with a diffracted beam curved graphite monochromator and a Xe filled proportional counter. The diffraction data were collected in the 2 θ Bragg angles from 4 to 65°, counting for 1 s at every 0.02° step. The divergence and receiving slits were fixed 1 and 0.1, respectively. All the XRPD measurements were performed at room temperature in a stationary sample holder. Joint Committee on Powder Diffraction Standards (JCPDS) database was used for sample identification.

2.6.6. Drug release experiments

The in vitro drug release experiments were carried out in USP PBS at pH 7.4 using dialysis bag method. Drug-loaded samples (150 mg) were dispersed in 10 mL of PBS pH 7.4 and transferred in dialysis bags (cellulose, molecular weight cut-off 14 kDa, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany). The bags were immersed in 200 mL of PBS (acceptor compartment), and gently shaken for 12 h at 50 rpm at 37 °C on a shaking water bath Grant LSB Aqua Pro 18 (Grant, UK). At scheduled time intervals, 4 mL aliquots were withdrawn from the acceptor compartment, filtered through a 0.22 μm nylon syringe filter and replaced with an equal amount of PBS to maintain a constant volume of dissolution medium. The drug concentrations in the filtered samples were determined by UV-VIS spectrophotometer (Evolution 300 spectrophotometer, Thermo Fisher Scientific, UK) at 229 nm. Drug release experiments were performed in triplicate for each investigated

formulation, and the average cumulative drug release was plotted versus time.

2.6.7. Mathematical modelling of release profiles

To elucidate mechanism of aceclofenac release and rate kinetic mechanisms, the release data were fitted to various mathematical models (Table 1) by linear regression analysis [29,30]. Coefficient of determination (r^2) was used to test the applicability of the release models.

2.6.8. Cell viability assay

The cytotoxic activity of Hal, eHal, Hal-Ch, eHal-Ch and Ace-eHal-Ch against normal human lung fibroblasts (MRC5) was determined by MTT test. The cells were maintained in complete nutrient medium RPMI-1640 at 37 °C in humidified atmosphere with 5% CO_2 , and seeded into 96-well microtiter plates with seeding density of 5000 cells per well. After 24 h five different concentrations (62.5, 125, 250, 500, and 1000 $\mu\text{g/mL}$) of five tested samples were added to the wells, while control cells were grown in culture medium only. After 72 h of incubation 10 μL of MTT solution (5 mg/mL in phosphate buffered saline) was added to each well, and after 4 h 100 mL of 10% SDS was added to the wells. The absorbance was measured at 570 nm the next day. The experiments were performed in triplicate. The IC50 was defined as the concentration of the tested substance that inhibited cell survival by 50% compared to the control, and the data are presented as mean value $\pm$ standard deviation (SD) from three independent experiments. The experiments were performed and the percent of cell survivals was calculated according to the procedure described earlier [31].

3. Results and discussion

3.1. Effect of selective acid etching on the porous texture of Hal

The nitrogen physisorption study at -196 °C was performed in order to assess the impact of the applied acid etching procedure of Hal on a surface area, pore volume and their distribution, and drug loading capacity. The N_2 adsorption-desorption isotherms of the Hal and eHal samples are shown in Fig. 1a and b, while calculated textural parameters are given in Table 2. Also, for the corresponding materials, as inserts in Fig. 1a and b, the integral and differential distributions of mesopores are given.

The shape of the isotherms of both materials reveals the formation of an adsorbent layer whose thickness increases progressively with increasing relative pressure up to $p/p_0 \approx 1$. The absence of a horizontal plateau of high value relative pressure, and even indications of its existence, prevent the classification of the obtained isotherms into type IV and classify them into type II, according to the IUPAC nomenclature [24]. Considering that the mesoporous tubular structure of halloysite is well documented in literature, not only by N_2 physisorption measurement but using TEM also, this finding is a certain surprise. Several

Table 1
Applied mathematical models to the drug release data.

Model	Equation
Zero order	$Q_t = Q_0 + k_0 t$
First order	$\ln(Q_{\max} - Q_t) = \ln Q_{\max} - k_1 t$
Higuchi	$Q_t = k_h t^{1/2}$
Korsmeyer-Peppas	$Q_t = k_k t^n$
Bhaskar	$-\log\left(1 - \frac{Q_t}{Q_{\max}}\right) = k_b t^{0.65}$

Q_t , percentage of drug dissolved at time t ; Q_0 , the percentage of drug dissolved at the beginning ($Q_0 = 0$); $Q_{\max}$, the percentage of undissolved drug at the beginning ($Q_{\max} = 100\%$); k_0 , k_1 , k_h , k_k , k_b , are dissolution rate constants; release exponent of Korsmeyer-Peppas model indicative of the drug release mechanism ($n \leq 0.5$ (diffusion controlled release); $0.5 < n < 1$ (anomalous transport)).

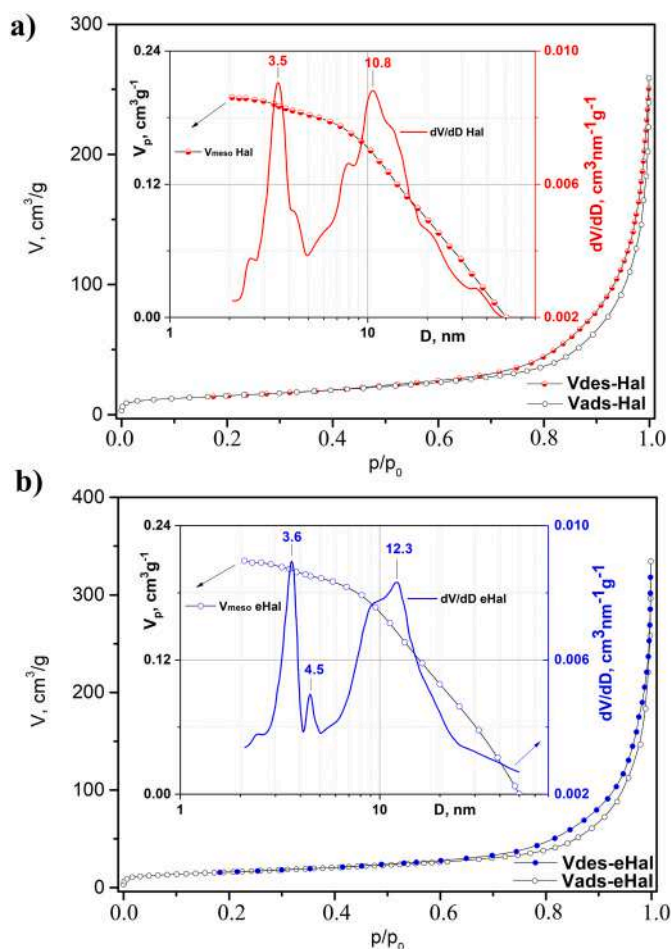


Fig. 1. N_2 adsorption-desorption isotherms, integral and differential distributions of mesopores of a) Hal and b) eHal.

Table 2

Specific surface area, pore volume and pore size of pristine Hal and acid-treated Hal (eHal).

Sample	S_{BET} (m^2/g)	V_{meso} ($cm^3 g^{-1}$)	V_{mic} (nm)
Hal	51.6	0.199	0.021
eHal	57.2	0.209	0.023

reports contain N_2 isotherms of halloysite, almost identical to those presented in Fig. 1, are in most cases classified as type IV [22,32–34], but also as Type II [35–37] and even Type III [38,39]. Although all the presented halloysite isotherms have a clear hysteresis loop, this, without a plateau at high p/p_0 , is insufficient for their classification as isotherm of exclusively mesoporous materials (type IV). Furthermore, almost all authors who referred to the measured isotherms as type IV reported hysteresis loop similar to the H3 type, which occurs in agglomerate of plate-like particles containing slit-shaped pores. However, this type of pores is not consistent with the expectation of the cylindrical shape of the halloysite pores.

A possible explanation of the plateau absence and non-existence of hysteresis loop H1 type can be found in the contribution of other mineral phases present in used halloysite (later confirmed by XRPD), whose presence enables unrestricted multilayer N_2 building even in the mesoporous region above the diameter of internal halloysite cavities. Even the smallest presence of plate-like particles containing slit-shaped pores (e.g. montmorillonite, kaolinite and dickite) will alter the interconnectivity of rod-like halloysite particles, creating an additional pore

network, altering the isotherm shape in both adsorption and desorption branches.

The values of the specific surface area of unmodified halloysite determined by the BET method (S_{BET}), presented in the literature, vary in a wide range from 22.1 m^2/g to 81.6 m^2/g [36]. For Hal sample, S_{BET} value (Table 2) is in middle of that range and is in the best agreement with previous reports of Garcia et al. [22] and Sadjadi et al. [37], while for an eHal sample S_{BET} increase a little bit more than 10% up to 57.2 m^2/g . Actually, the influence of acid treatment on Hal is visible on all selected textural parameters (Table 2). Those increases are consequence of acid octahedral AlO_6 layers dissolution [20]. Previous studies have shown that more intensive increase in specific surface area, pore volume and pore diameter can be achieved by using more aggressive and concentrated acids (e.g. sulfuric acid). However, this can lead to a remarkable increase in porosity, loss of tubular shape and even destruction of the crystalline structure of HNTs [20,22].

In mesopores diameter range (2–50 nm) both Hal and eHal have bimodal pore sizes distribution typical for halloysite. The smaller diameter pores occur during the dehydration process and represent space between rolled layers of halloysite perpendicular to the longest axis of the halloysite rods [40]. However, the origin of peak for the smallest pores must be taken with some reserve due to the well-known “tensile strength effect” which occurs due to the collapse of the liquid phase N_2 i.e., the spontaneous formation and growth of gas bubbles in the metastable condensed fluid at relative pressure around 0.42 as interpreted in detail by Groen et al. [41]. Namely, when N_2 at $-196^\circ C$ is used for textural characterization of the material, the pore size distribution calculated from desorption branch will always have a maximum at ≈ 3.8 nm if there are pores smaller than this diameter. According to the growing trend in the small-diameter segment on integral mesopore curves (Fig. 1), and V_{mic} values (Table 2), these pores are undoubtedly present in both characterized halloysite materials [32,33,42]. The second distribution peak centered at 10.8 nm for Hal is slightly shifted to 12.3 nm for acid-activated eHal, as a consequence of acid activation inside of the halloysite lumen [42].

Pores of both diameter ranges can play a role in the adsorption of the active component due to the fact that the diameter of these pores is large enough to achieve aceclofenac loading without diffusion restrictions.

3.2. Zeta potential measurements

The ζ -potential was measured as a function of pH to investigate the influence of selective alumina etching on Hal functionalization with the

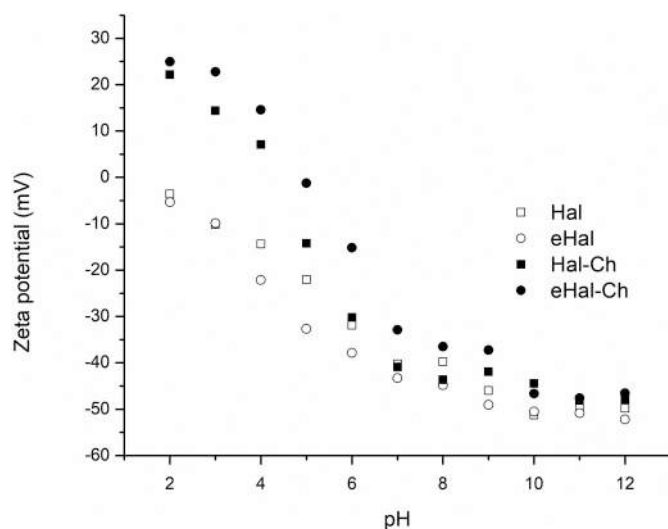


Fig. 2. ZP of Hal, eHal and the corresponding Ch composites as a function of pH value.

cationic polymer (Fig. 2). Hal exhibited negative ζ -potential in the pH range from 2 to 12 with isoelectric point very close to the isoelectric point of silica (pH $\approx$ 2) owing to the negatively charged siloxane groups mainly located at the external surface [5,43]. A similar pattern was observed for eHal with lower ζ -potential values below the isoelectric point of alumina (pH $\approx$ 8.5) [44]. This decrease of ζ -potential values can be explained by selective etching and removal of alumina, from the exposed lumen surface, edges and defects of the outer surface [45]. Garcia-Garcia and coworkers reported that Hal treatment with weak acetic acid (1 M aqueous solution of glacial acetic acid) at 50 °C caused a slight decrease in the alumina content which is in agreement with this slight ζ -potential decrease upon selective etching [22]. Treatment of Hal and eHal with chitosan shifted isoelectric points toward higher pH values (between pH 4 and 5) as a consequence of successful binding of the cationic polymer and formation of the composite. The composite formation is based on electrostatic interactions between protonated amine groups of chitosan and negatively charged siloxane groups of Hal in addition to hydrogen bonding between the amine and hydroxyl groups of chitosan and siloxane groups of Hal. Higher ζ -potential values of the composite samples in acidic conditions (Fig. 2) could be explained by presence of protonated chitosan $-\text{NH}_2$ groups on their surface. Similar behavior was reported earlier for Hal-Ch dispersion by Bertolino and coworkers [46]. The positive charge density of the composite samples increased by decreasing pH value reaching maximum at pH 2. The difference between ζ -potential values of chitosan-treated and untreated samples was reduced with pH increase due to $-\text{NH}_3^+$ deprotonation. Negative ζ -potential value of both Hal-Ch and eHal-Ch composite particles above pH 4 could be ascribed to a dominant influence of negatively charged siloxane groups.

The lower ζ -potential value of eHal (-22.13 ± 0.46) mV- than that of Hal (-14.37 ± 2.15) mV at pH value of chitosan solution (pH 4.0) used for the preparation of the composite powders facilitated binding of this cationic polymer. Consequently, an increase in ζ -potential observed upon chitosan treatment was more intensive for eHal-Ch in comparison to Hal-Ch.

3.3. Drug loading determination

Internal tube volume of Hal typically ranges from 10 to 15 vol%, with average drug loading capacity from 5 to 10 wt% [6,47]. DL% value of Ace-Hal sample was $9.1 \pm 0.9\%$ which is close to earlier report for ibuprofen loading capacity (another BCS class II nonsteroidal anti-

inflammatory drug) [48]. Upon functionalization with chitosan (Ace-Hal-Ch sample), DL% slightly decreased to $(8.4 \pm 0.4)\%$. Selectively etched samples entrapped the drug more efficiently, with $(16.5 \pm 0.9)\%$ and (14.2 ± 0.4) DL% values, for Ace-eHal and Ace-eHal-Ch, respectively. Such a significant payload increase ($\approx 81\%$ for Ace-eHal and $\approx 68\%$ for Ace-eHal-Ch) could be ascribed to selective acid etching and lumen enlargement. DL% values for chitosan functionalized samples (Ace-Hal-Ch and Ace-eHal-Ch) were slightly lower than those of the corresponding clay powders (Ace-Hal and Ace-eHal) as a consequence of chitosan binding and the drug loss during incubation in the polymer solution. Low loss of the entrapped drug from the Hal and eHal powders during their incubation in the polymer solution could be attributed to the short incubation times (10 min), and low solubility of aceclofenac (pKa 4.7) in acidic chitosan solution (pH 4.0).

3.4. Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy

FT-IR spectroscopy was used to scrutinize the presence of individual components and their interactions within placebo and drug-loaded composite powders. FT-IR spectra of the Hal and chitosan presented in Fig. 3 were consistent with previous reports [49–51]. No significant change in absorption bands on FT-IR spectrum of Hal was observed upon mild acid etching, which is in accordance with findings of Saklar and Yorukoglu [52]. A close comparison of chitosan spectrum with spectra of the composite powders gave insight into shifting of the protonated amide group band from 1574 cm^{-1} to 1560 cm^{-1} and 1557 cm^{-1} , for Hal-Ch and eHal-Ch, respectively. The shift of this band toward higher frequencies is in line with earlier findings on composites of pristine Hal and chitosan [50,53] and could be explained by electrostatic interactions between the protonated amine group of chitosan and negatively charged surface of the nanotubes. This absorption band and corresponding shifting were more intensive on the FT-IR spectrum of eHal-Ch in comparison to the Hal-Ch, suggesting more intensive binding of the polycation for eHal, as further supported by the higher values of ζ -potential of eHal-Ch.

FT-IR spectra of aceclofenac, eHal-Ch and Ace-eHal-Ch are given in Fig. 4. The spectrum of Ace-eHal-Ch showed following bands originating from aceclofenac: N—H stretching at 3317 cm^{-1} , O—H stretching at 2936 cm^{-1} , C=O stretching of carboxylic acid at 1770 cm^{-1} , C=O stretching at 1715 cm^{-1} , aromatic C—C stretching at 1589 cm^{-1} and 1452 cm^{-1} , in plane N—H bending at 1507 cm^{-1} , C—N aromatic amine stretching at 1281 cm^{-1} and 1256 cm^{-1} and out plane bending for N—H

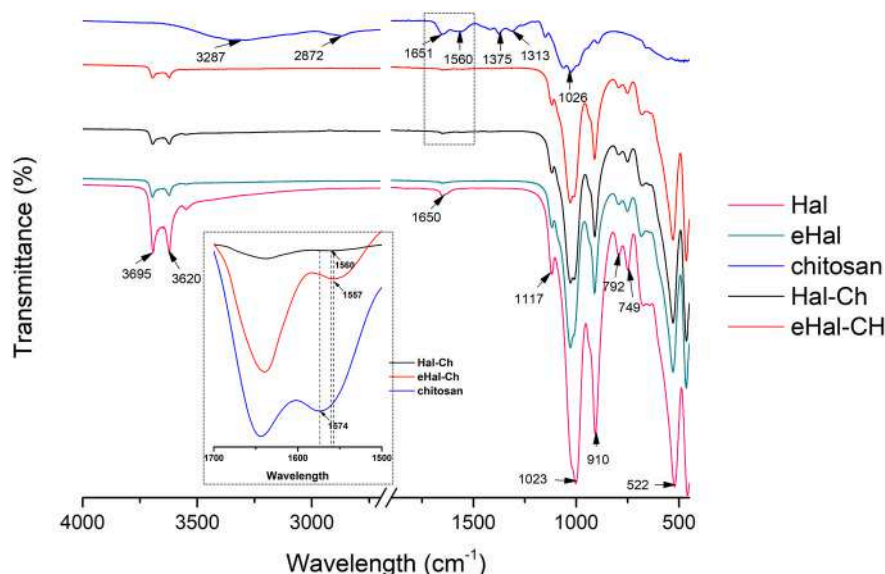


Fig. 3. FTIR spectra of Hal, eHal, chitosan, Hal-Ch and eHal-Ch.

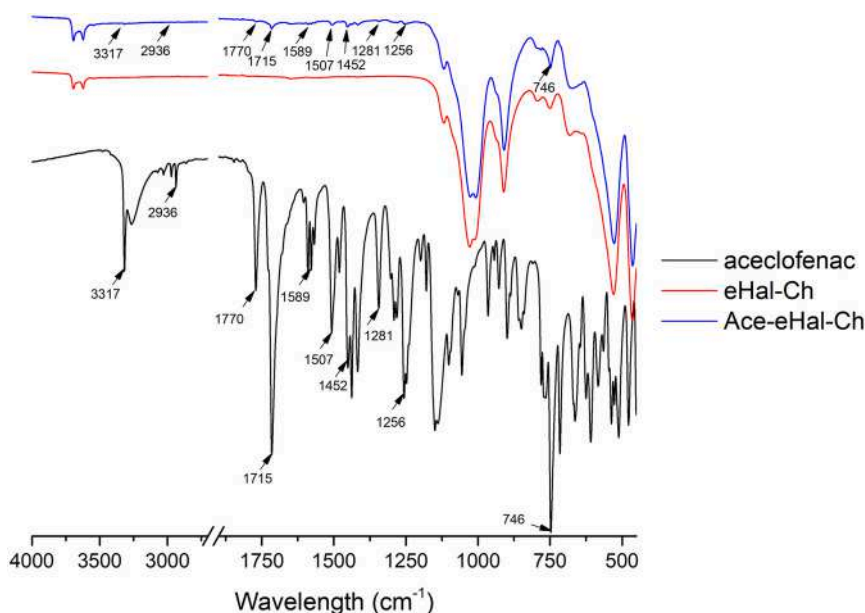


Fig. 4. FTIR spectra of eHal, aceclofenac and Ace-eHal-Ch.

at 746 cm^{-1} . Intensive bands of eHal overlapped the other characteristic bands of aceclofenac, so no additional bands were noticed. It should be highlighted that unlike some other anionic drugs, i.e. ibuprofen [54], aceclofenac showed no sign of interactions with tubule lumen. These findings along with the results of the thermal analysis indicate the presence of unaltered drug in the nanotubes lumen.

3.5. Thermal analysis

Hal and eHal demonstrated similar thermal behavior upon heating, with two distinctive endothermic events (Fig. 5): the one with the peak around 70°C related to loss of physically absorbed water, and the other, more intensive with onset around 400°C due to dehydroxylation of aluminol groups [50]. DSC curves of placebo chitosan-functionalized samples followed similar pattern. The only observable difference was presence of broad exothermic bands with peaks at 432°C and 413°C on DSC curves of Hal-Ch and eHal-Ch, respectively, attributable to thermal decomposition of the polymer. Namely, thermal decomposition of pure chitosan started above 240°C with the sharp exothermic peak at 302°C

(Fig. 5). Shifting of this degradation exotherm toward higher temperatures for the composite powders could be explained by electrostatic interactions between protonated $-\text{NH}_2$ groups of chitosan and the negatively charged surface siloxane groups of Hal confirmed by findings of FT-IR analysis. Similar findings were reported earlier for chitosan-Hal composite scaffolds [55] and films [50]. Visual inspection of the composite samples after cooling to room temperature revealed intensive black colour caused by decomposition of their organic component (chitosan). In contrast, the colour of Hal and eHal remained almost unchanged.

DSC was further used to scrutinize the state of the entrapped drug. Thermogram of Ace-eHal-Chi displayed intensive endothermic event at 153°C (Fig. 5). This sharp peak of aceclofenac melting suggested its presence in crystalline form within nanotube lumen. Clearly, both the drug loading procedure and chitosan functionalization did not affect the state of the entrapped drug, as supported by the results of FT-IR analysis.

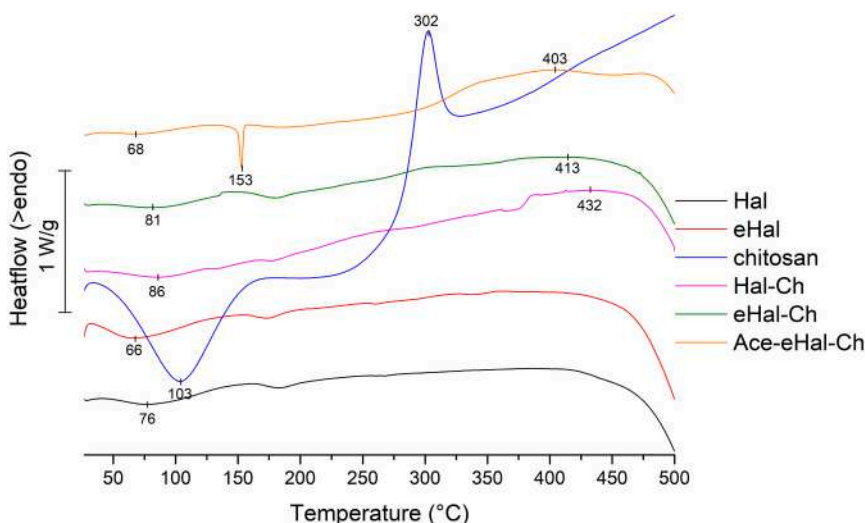


Fig. 5. DSC curves of Hal, eHal, chitosan, placebo Hal-Ch, placebo eHal-Ch and Ace-eHal-Ch.

3.6. X-ray powder diffraction method

The effect of acid etching and polymer functionalization on the crystalline structure of Hal was analyzed by XRPD. The Hal sample consisted of halloysite-7A (JCPDS-29-1487), dickite (JCPDS-10-0446), kaolinite (JCPDS-14-0164), quartz (JCPDS-46-1045), and smectite minerals (montmorillonite-JCPDS-13-0135) (Fig. 6). The most abundant phase was halloysite-7A, with reflections at $2\theta = 11.8^\circ$, 20.0° , 22.2° , 24.5° and 26.6° , while dickite and kaolinite were far less present. Quartz and smectite minerals were in a trace.

The eHal sample showed almost identical XRPD patterns indicating that crystalline structure was unaffected by acetic acid treatment. These results are consistent with previous reports on etching in mildly acidic conditions, e.g. 1 M acetic acid, 1 M acrylic acid [22], 1.3 M hydrochloric acid and 0.9 M oxalic acid [52]. Abdullayev et al. [18] have shown that partial loss of the tube wall crystallinity starts above 40% of the alumina removal. More important, functionalization with chitosan did not affect XRPD patterns due to surface polymer binding and absence of intercalation.

3.7. Drug release study and drug release kinetics

Pristine Hal exhibited bimodal aceclofenac release with almost linear initial (zero order) release during the first 5 h with $\approx 79\%$ of the released drug (Fig. 7). In the second stage the release was significantly slower with complete dissolution for 12 h. Similar biphasic release from pristine Hal was reported earlier for other BCS II class drug - diclofenac sodium [56,57]. Aceclofenac release from Ace-eHal sample followed similar bimodal pattern reaching $\approx 90\%$ after 5 h of the experiment. Faster drug release from the etched sample is the most likely consequence of increased porosity and lumen enlargement which is in line with findings of nitrogen adsorption-desorption studies. Similar findings were reported earlier for hydrochloric [58] and sulfuric [11] activated Hal. On the contrary, the release of aceclofenac was slowed down by chitosan functionalization for both pristine and etched Hal. As a weak base with $pK_a \approx 6.3$, chitosan is insoluble at pH 7.4, thus hinders diffusion of aceclofenac from the lumen. This retardation effect was more pronounced upon eHal functionalization, with $\approx 61\%$ of the released drug after 5 h and $\approx 87\%$ after 12 h. The latter could be ascribed to more intensive chitosan binding for eHal in comparison to Hal as confirmed by ζ -potential measurements.

Considering the determination coefficient (r^2) values of tested experimental models given in Table 3, aceclofenac release profile from Hal, Hal-Ch and eHal-Ch showed the best fit to the first-order model. This model, typical for porous carriers containing water-soluble drug

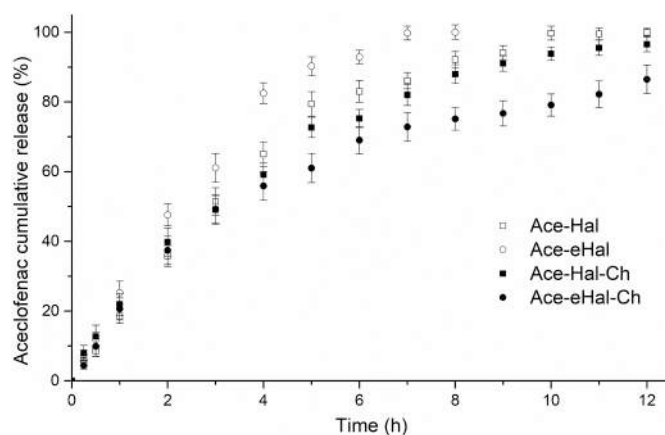


Fig. 7. In vitro aceclofenac release profiles from investigated samples in phosphate buffer solution: pH 7.4 (means $\pm$ SD, $n = 3$). Error bars represent SDs.

Table 3

Values of fitted parameters by different drug release models.

Model	Fitted parameters	Formulation			
		Ace-Hal	Ace-eHal	Ace-Hal-Ch	Ace-eHal-Ch
Zero order	r^2	0.9206	0.9839	0.9076	0.8776
	k_0	0.1646	0.3015	0.1264	0.1077
First order	r^2	0.9906	0.9671	0.9917	0.9818
	k_1	0.0054	0.0078	0.0047	0.0026
Higuchi	r^2	0.9842	0.9904	0.9893	0.9738
	k_h	5.0170	6.4615	4.2884	3.5789
Korsmeyer-Peppas	r^2	0.9746	0.9953	0.9866	0.9568
	n	0.7864	0.8675	0.6626	0.7294
Bhaskar	k_k	0.7202	1.4528	1.4488	0.8666
	r^2	0.9473	0.8381	0.9369	0.9694
	k_b	0.0230	0.0278	0.0216	0.0130

describes drug release proportional to its remained amount in the carrier interior [30]. Release profile from eHal showed a good fit to Higuchi and Korsmeyer-Peppas model suggesting diffusion dependent release. A higher r^2 value for Korsmeyer-Peppas with release exponent (n) value 0.82 indicated on non-Fickian diffusion release mechanism from the etched nanotubes.

3.8. Cell viability assay

Pristine Hal is widely considered as biocompatible and safe in concentrations relevant for oral administration [59,60]. Recent findings have shown that surface modification of Hal by single layer of synthetic cationic polymers (poly(allylamine) hydrochloride, poly(diallyldimethylammonium chloride) and poly(ethyleneimine)) significantly increases its low toxicity by inducing cellular and nuclear defects [61]. Yet, there are no reports on cytotoxicity of selectively etched Hal modified with cationic biopolymers. To investigate effect of both etching and chitosan functionalization on Hal cytocompatibility, cytotoxicity of Hal, eHal, Hal-Ch and eHal-Ch in concentrations from 62.5 to 1000 $\mu\text{g/mL}$ was determined by MTT test. The samples exhibited good cytocompatibility within investigated concentration range (Fig. 8) with cell viability reduction far below 30% threshold specified by the ISO 10993-5 standard [62]. Comparable values of cell survival rates of etched and pristine Hal confirmed that lumen etching under mild conditions exert no significant effect on cytocompatibility. More important, comparison of cell survival rates of eHal and eHal-Ch composite points out that Hal functionalization with chitosan did not show significant effect on cytocompatibility. This was expected given that chitosan itself

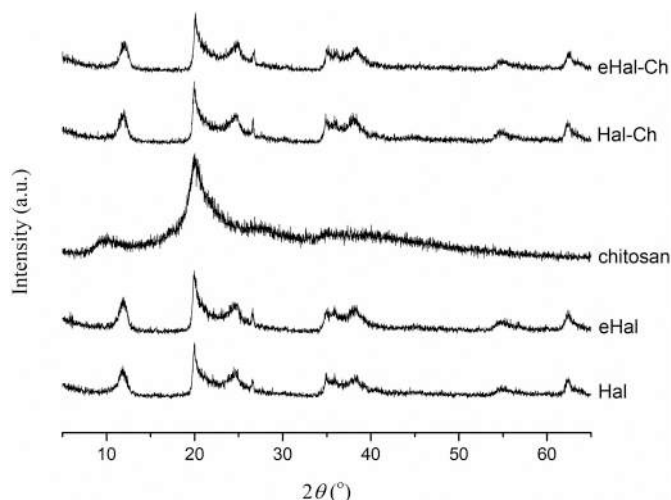


Fig. 6. XRPD traces of Hal, eHal, chitosan and corresponding composites.

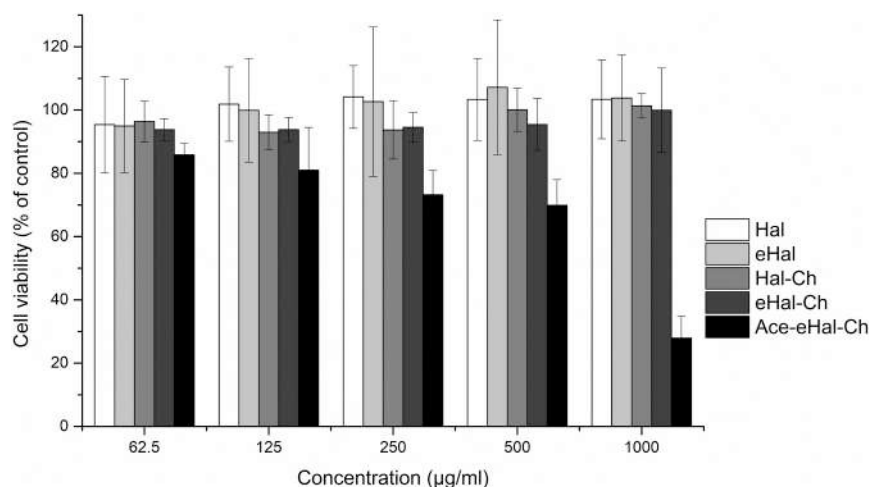


Fig. 8. Cell viability after 72 h exposure to increasing concentrations of Hal, eHal, Hal-Ch, eHal-Ch and Ace-eHal-Ch aqueous dispersions (means $\pm$ SD, $n = 3$). Error bars represent SDs.

exhibit low cytotoxicity in concentrations below 1 mg/mL [63,64]. Similar findings were reported earlier for chitosan-Hal and oligochitosan-Hal films and scaffolds [15,55,65,66]. The results of these studies showed high viability of different fibroblast cell lines in presence of these composite materials, suggesting their excellent cytocompatibility even after prolonged exposure. Excellent cytocompatibility of Hal-polymer composites could also be ascribed to high surface energy, enhanced cell attachment and proliferation in presence of Hal [67]. These reports are consistent with the obtained cell viability values for Hal-Ch and eHal-Ch samples shown in Fig. 8.

The only significant difference ($p < 0.05$) in cytotoxic activity among investigated formulations was observed for the drug loaded sample (Ace-eHal-Ch). Cell viability of this nanocomposite powder was concentration-dependent with IC₅₀ value of (708 ± 5) µg/mL. Significantly lower cytocompatibility could be ascribed to the effect of released aceclofenac during 72 h incubation period. Still, the drug-loaded sample displayed acceptable cell viability with $>70\%$ cell survival rate in concentrations below 500 µg/mL.

4. Conclusions

Functionalized nanocomposites were prepared by mild acid treatment of Hal and subsequent modification with chitosan. Successful etching was confirmed by increase in specific surface area and porosity of acid-treated Hal while the crystalline structure was unaffected. Findings of ζ -potential measurements point out that acid treatment promotes binding of the polycationic polymer due to octahedral AlO₆ layers dissolution. Drug loading was increased for 81% by selective lumen etching, reaching 14.2% for the etched Hal nanocomposites. The drug release was slower from the etched Hal nanocomposites (up to 87% for 12 h) than those obtained from pristine Hal (up to $\approx 97\%$ for 12 h) due to more intensive chitosan binding. Both acid etching and chitosan functionalization exert no significant effect on high human lung fibroblast cell survival rates of ($>90\%$ in the concentration of 1000 µg/mL).

These findings imply that combined strategy based on halloysite etching under mild acid conditions and polycationic functionalization could serve as a promising approach for improvement of halloysite-polycation nanocomposites by increasing drug loading and polymer binding capacity, in addition to sustained release properties, while preserving their high cytocompatibility.

CRedit authorship contribution statement

Valentina Jauković: Conceptualization, Investigation,

Methodology, Writing - Original Draft; **Danina Krajišnik:** Investigation, Formal analysis, Writing - Original Draft; **Aleksandra Daković:** Investigation, Resources Writing - Original Draft; **Ana Damjanović:** Investigation, Writing - Original Draft; **Jovica Stojanović:** Investigation, Writing - Original Draft; **Jugoslav Krstić:** Investigation, Writing - Original Draft; **Bojan Čalić:** Supervision, Conceptualization, Methodology, Investigation, Writing - Original Draft.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper. The authors alone are responsible for the content and writing of this paper.

Acknowledgements

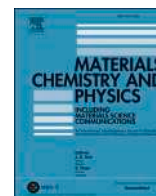
This work was supported by the Ministry of Education, Science and Technological Development, Republic of Serbia (contracts No 451-03-9/2021-14/200161, 451-03-9/2021-14/200043 and 451-03-9/2021-14/200023). The authors wish to thank Dr. Vladimir Dobričić and Mrs. Biljana Mihailović (Department of Pharmaceutical Chemistry, University of Belgrade - Faculty of Pharmacy) for their technical assistance regarding drug loading procedure.

References

- [1] J.D.D. Moraes, S.R.A. Bertolino, S.L. Cuffini, D.F. Ducart, P.E. Bretzke, G. R. Leonardi, Clay minerals: properties and applications to dermocosmetic products and perspectives of natural raw materials for therapeutic purposes-a review, *Int. J. Pharm.* 534 (2017) 213–219, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.10.031>.
- [2] C. Viseras, E. Carazo, A. Borrego-Sánchez, F. García-Villén, R. Sánchez-Espejo, P. Cerezo, C. Aguzzi, Clay minerals in skin drug delivery, *Clay Miner.* 67 (2019) 59–71, <https://doi.org/10.1007/s42860-018-0003-7>.
- [3] M. Massaro, G. Cavallaro, C.G. Colletti, G. Lazzara, S. Milioto, R. Noto, S. Riela, Chemical modification of halloysite nanotubes for controlled loading and release, *J. Mater. Chem. B* 6 (2018) 3415–3433, <https://doi.org/10.1039/c8tb00543e>.
- [4] D. Krajišnik, B. Čalić, J. Milić, Aluminosilicate-based composites functionalized with cationic materials: possibilities for drug-delivery applications, in: V. Grumezescu, A.M. Grumezescu (Eds.), *Materials for Biomedical Engineering: Inorganic Micro- and Nanostructures*, Elsevier, 2019, pp. 285–327. Chapter 9, <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102814-8.00010-X>.
- [5] A.C. Santos, I. Pereira, S. Reis, F. Veiga, M. Saleh, Y. Lvov, Biomedical potential of clay nanotube formulations and their toxicity assessment, *Expert Opin. Drug Del.* 16 (2019) 1169–1182, <https://doi.org/10.1080/17425247.2019.1665020>.
- [6] Y.M. Lvov, M.M. DeVilliers, R.F. Fakhrullin, The application of halloysite tubule nanoclay in drug delivery, *Expert Opin. Drug Del.* 13 (2016) 977–986, <https://doi.org/10.1517/17425247.2016.1169271>.
- [7] Food and Drug Administration, *Considering whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology*, Rockville, MD, USA, 2014.

- [8] M. Liu, Y. Chang, J. Yang, Y. You, R. He, T. Chen, C. Zhou, Functionalized halloysite nanotube by chitosan grafting for drug delivery of curcumin to achieve enhanced anticancer efficacy, *J. Mater. Chem. B* 4 (2016) 2253–2263, <https://doi.org/10.1039/c5tb02725j>.
- [9] J. Yang, Y. Wu, Y. Shen, C. Zhou, Y.-F. Li, R.-R. He, M. Liu, Enhanced therapeutic efficacy of doxorubicin for breast cancer using chitosan oligosaccharide-modified halloysite nanotubes, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 8 (2016) 26578–26590, <https://doi.org/10.1021/acsami.6b09074>.
- [10] M. Fizar, P. Dramou, K. Zhang, C. Sun, C. Pham-Huy, H. He, Polymer grafted-magnetic halloysite nanotube for controlled and sustained release of cationic drug, *J. Colloid Interf. Sci.* 505 (2017) 476–488, <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.04.011>.
- [11] E.G. Bediako, E. Nyankson, D. Dodoo-Arhin, B. Agyei-Tuffour, D. Łukowiec, B. Tomiczek, A. Yaya, J.K. Efavi, Modified halloysite nanoclay as a vehicle for sustained drug delivery, *Heliyon* 4 (2018), e00689, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00689>.
- [12] G. Cavallaro, G. Lazzara, S. Milioto, F. Parisi, V. Evtugyn, E. Rozhina, R. Fakhrullin, Nanohydrogel formation within the halloysite lumen for triggered and sustained release, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 10 (2018) 8265–8273, <https://doi.org/10.1021/acsami.7b19361>.
- [13] R. Shi, Y. Niu, M. Gong, J. Ye, W. Tian, L. Zhang, Antimicrobial gelatin-based elastomer nanocomposite membrane loaded with ciprofloxacin and polymyxin B sulfate in halloysite nanotubes for wound dressing, *Mater. Sci. Eng. C-Mater.* 87 (2018) 128–138, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.02.025>.
- [14] S. Sharif, G. Abbas, M. Hanif, A. Bernkop-Schnürch, A. Jalil, M. Yaqoob, Mucoadhesive micro-composites: Chitosan coated halloysite nanotubes for sustained drug delivery, *Colloids Surf. B: Biointerfaces* 184 (2019), 110527, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110527>.
- [15] M. Barman, S. Mahmood, R. Augustine, A. Hasan, S. Thomas, K. Ghosal, Natural halloysite nanotubes/chitosan based bio-nanocomposite for delivering norfloxacin, an anti-microbial agent in sustained release manner, *Int. J. Biol. Macromol.* 162 (2020) 1849–1861, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.060>.
- [16] R. Zhai, B. Zhang, Y. Wan, C. Li, J. Wang, J. Liu, Chitosan-halloysite hybrid-nanotubes: horseradish peroxidase immobilization and applications in phenol removal, *Chem. Eng. J.* 214 (2013) 304–309, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.10.073>.
- [17] F. Jamshidzadeh, A. Mohebbi, M. Abdouss, Three-ply biocompatible pH-responsive nanocarriers based on HNT sandwiched by chitosan/pectin layers for controlled release of phenytoin sodium, *Int. J. Biol. Macromol.* 150 (2020) 336–343, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.029>.
- [18] E. Abdullayev, A. Joshi, W. Wei, Y. Zhao, Y. Lvov, Enlargement of halloysite clay nanotube lumen by selective etching of aluminum oxide, *ACS Nano* 6 (2012) 7216–7226, <https://doi.org/10.1021/nn302328x>.
- [19] S. Palántóken, E. Tekay, S. Şen, T. Nugay, N. Nugay, A novel nonchemical approach to the expansion of halloysite nanotubes and their uses in chitosan composite hydrogels for broad-spectrum dye adsorption capacity, *Polym. Compos.* 37 (2016) 2770–2781, <https://doi.org/10.1002/pc.23473>.
- [20] A.-B. Zhang, L. Pan, H.-Y. Zhang, S.-T. Liu, Y. Ye, M.-S. Xia, X.-G. Chen, Effects of acid treatment on the physico-chemical and pore characteristics of halloysite, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 396 (2012) 182–188, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.12.067>.
- [21] Y. Hussain, A. Rehman, M.N. Shah, Liquid-solid technique: a novel tool to develop aceclofenac-loaded eudragit L-100 and RS-100-based sustained release tablets, *J. Pharm. Innov.* (2020), <https://doi.org/10.1007/s12247-020-09474-w>.
- [22] D. García-García, J.M. Ferri, L. Ripoll, M. Hidalgo, J. Lopez-Martinez, R. Balart, Characterization of selectively etched halloysite nanotubes by acid treatment, *Appl. Surf. Sci.* 422 (2017) 616–625, <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.06.104>.
- [23] L. Lisuzzo, G. Cavallaro, P. Pasbakhsh, S. Milioto, G. Lazzara, Why does vacuum drive to the loading of halloysite nanotubes? The key role of water confinement, *J. Colloid Interf. Sci.* 547 (2019) 361–369, <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.04.012>.
- [24] M. Thommes, K. Kaneko, A.V. Neimark, J.P. Olivier, F. Rodriguez-Reinoso, J. Rouquerol, K.S.W. Sing, Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC technical report), *Pure Appl. Chem.* 87 (2015) 1051–1069, <https://doi.org/10.1515/pac-2014-1117>.
- [25] J. Rouquerol, F. Rouquerol, K. Sing, *Adsorption by Powders and Porous Solids: Principles, Methodology and Applications*, 1st ed., Academic Press, London, 1999.
- [26] M.M. Dubinin, Physical adsorption of gases and vapors in micropores, in: D. A. Cadenhead, J.F. Danielli, M.D. Rosenberg (Eds.), *Progress in Surface and Membrane Science*, 1st ed. volume 9, Academic Press, New York, 1975, pp. 1–70, <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-571809-7.50006-1>.
- [27] E.P. Barrett, L.G. Joyner, P.P. Halenda, The determination of pore volume and area distributions in porous substances. I. Computations from nitrogen isotherms, *J. Am. Chem. Soc.* 73 (1951) 373–380, <https://doi.org/10.1021/ja01145a126>.
- [28] A. Lecloux, J. Pirard, The importance of standard isotherms in the analysis of adsorption isotherms for determining the porous texture of solids, *J. Colloid Interf. Sci.* 70 (1979) 265–281, [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(79\)90031-6](https://doi.org/10.1016/0021-9797(79)90031-6).
- [29] R. Bhaskar, R.S.R. Murthy, B.D. Miglani, K. Viswanathan, Novel method to evaluate diffusion controlled release of drug from resinate, *Int. J. Pharm.* 28 (1986) 59–66, [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(86\)90147-x](https://doi.org/10.1016/0378-5173(86)90147-x).
- [30] P. Costa, J.M. Sousa Lobo, Modeling and comparison of dissolution profiles, *Eur. J. Pharm. Sci.* 13 (2001) 123–133, [https://doi.org/10.1016/s0928-0987\(01\)00095-1](https://doi.org/10.1016/s0928-0987(01)00095-1).
- [31] I.Z. Matic, I. Aljančić, Ž. Žizak, V. Vajs, M. Jadranin, S. Milosavljević, Z.D. Jurančić, In vitro antitumor actions of extracts from endemic plant *Helichrysum zivojinii*, *BMC Complem. Altern. M.* 13 (2013) 36, <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-36>.
- [32] C. Li, J. Wang, S. Feng, Z. Yang, S. Ding, Low-temperature synthesis of heterogeneous crystalline TiO₂-halloysite nanotubes and their visible light photocatalytic activity, *J. Mater. Chem. A* 1 (2013) 8045–8054, <https://doi.org/10.1039/c3ta11176h>.
- [33] T.S. Gaaz, A.B. Sulong, A.A.H. Kadhum, M.H. Nassir, A.A. Al-Amiry, Impact of sulfuric acid treatment of halloysite on physico-chemical property modification, *Materials* 9 (2016) 620, <https://doi.org/10.3390/ma9080620>.
- [34] B. Szczepanik, N. Rędzia, L. Frydel, P. Słomkiewicz, A. Kolbusz, K. Styszko, T. Dziok, B. Samojeden, Synthesis and characterization of halloysite/carbon nanocomposites for enhanced NSAIDs adsorption from water, *Materials* 12 (2019) 3754, <https://doi.org/10.3390/ma12223754>.
- [35] W.O. Yah, A. Takahara, Y.M. Lvov, Selective modification of halloysite lumen with octadecylphosphonic acid: new inorganic tubular micelle, *J. Am. Chem. Soc.* 134 (2012) 1853–1859, <https://doi.org/10.1021/ja210258y>.
- [36] P. Pasbakhsh, G.J. Churchman, J.L. Keeling, Characterisation of properties of various halloysites relevant to their use as nanotubes and microfibre fillers, *Appl. Clay Sci.* 74 (2013) 47–57, <https://doi.org/10.1016/j.clay.2012.06.014>.
- [37] S. Sadjadi, M.M. Heravi, M. Malmir, B. Masoumi, HPA decorated halloysite nanoclay: an efficient catalyst for the green synthesis of spirooxindole derivatives, *Appl. Organomet. Chem.* 32 (2018), e4113, <https://doi.org/10.1002/aoc.4113>.
- [38] A.M. Peres, R.L. Oréfice, Effect of incorporation of Halloysite nanotubes on the structure and properties of low-density polyethylene/thermoplastic starch blend, *J. Polym. Res.* 27 (2020) 1–10, <https://doi.org/10.1007/s10965-020-02185-3>.
- [39] A. Pajdak, N. Skoczylas, A. Szymanek, M. Lutyński, P. Sakiewicz, Sorption of CO₂ and CH₄ on raw and calcined halloysite-structural and pore characterization study, *Materials* 13 (2020) 917, <https://doi.org/10.3390/ma13040917>.
- [40] N. Kohyama, K. Fukushima, A. Fukami, Observation of the hydrated form of tubular halloysite by an electron microscope equipped with an environmental cell, *Clay. Clay Miner.* 26 (1978) 25–40, <https://doi.org/10.1346/CCMN.1978.0260103>.
- [41] J.C. Groen, L.A. Peffer, J. Pérez-Ramírez, Pore size determination in modified micro- and mesoporous materials. Pitfalls and limitations in gas adsorption data analysis, *Micropor. Mesopor. Mat.* 60 (2003) 1–17, [https://doi.org/10.1016/S1387-1811\(03\)00339-1](https://doi.org/10.1016/S1387-1811(03)00339-1).
- [42] R. Mahmoudi, P. Kardar, A.M. Arabi, R. Amini, P. Pasbakhsh, Acid-modification and praseodymium loading of halloysite nanotubes as a corrosion inhibitor, *Appl. Clay Sci.* 184 (2020), 105355, <https://doi.org/10.1016/j.clay.2019.105355>.
- [43] T. Ribeiro, A. Sofia Rodrigues, S. Calderon, A. Fidalgo, J.L.M. Gonçalves, V. André, M. Teresa Duarte, P.J. Ferreira, J.P.S. Farinha, C. Baleizão, Silica nanocarriers with user-defined precise diameters by controlled template self-assembly, *J. Colloid Interf. Sci.* 561 (2020) 609–619, <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.11.036>.
- [44] Y.M. Lvov, D.G. Shchukin, H. Möhwald, R.R. Price, Halloysite clay nanotubes for controlled release of protective agents, *ACS Nano* 2 (2008) 814–820, <https://doi.org/10.1021/nn800259q>.
- [45] P. Yuan, P.D. Southon, Z. Liu, C.J. Kepert, Organosilane functionalization of halloysite nanotubes for enhanced loading and controlled release, *Nanotechnology* 23 (2012), 375705, <https://doi.org/10.1088/0957-4484/23/37/375705>.
- [46] V. Bertolino, G. Cavallaro, G. Lazzara, S. Milioto, F. Parisi, Biopolymer-targeted adsorption onto halloysite nanotubes in aqueous media, *Langmuir* 33 (2017) 3317–3323, <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b00600>.
- [47] Y. Lvov, W. Wang, L. Zhang, R. Fakhrullin, Halloysite clay nanotubes for loading and sustained release of functional compounds, *Adv. Mater.* 28 (2015) 1227–1250, <https://doi.org/10.1002/adma.201502341>.
- [48] D. Tan, P. Yuan, F. Annabi-Bergaya, H. Yu, D. Liu, H. Liu, H. He, Natural halloysite nanotubes as mesoporous carriers for the loading of ibuprofen, *Micropor. Mesopor. Mater.* 179 (2013) 89–98, <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2013.05.007>.
- [49] J. Zheng, F. Wu, H. Li, M. Liu, Preparation of bioactive hydroxyapatite@halloysite and its effect on MC3T3-E1 osteogenic differentiation of chitosan film, *Mater. Sci. Eng. C-Mater.* 105 (2019), 110072, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110072>.
- [50] B. Calija, J. Milić, N. Milasinić, A. Daković, K. Trifković, J. Stojanović, D. Krajišnik, Functionality of chitosan-halloysite nanocomposite films for sustained delivery of antibiotics: the effect of chitosan molar mass, *J. Appl. Polym. Sci.* 137 (2020), 48406, <https://doi.org/10.1002/app.48406>.
- [51] A. Mohebbi, M. Abdouss, F.A. Taromi, Fabrication of biocompatible antibacterial nanowafers based on HNT/PVA nanocomposites loaded with minocycline for burn wound dressing, *Mater. Sci. Eng. C-Mater.* 110 (2020), 110685, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110685>.
- [52] S. Saklar, A. Yorukoglu, Effects of acid leaching on halloysite, *Physicochem. Probl. Mi.* 51 (2015) 83–94, <https://doi.org/10.5277/ppmi50108>.
- [53] C. Branca, G. D'Angelo, C. Crupi, K. Khouzami, S. Rifici, G. Ruello, U. Wanderlingh, Role of the OH and NH vibrational groups in polysaccharide-nanocomposite interactions: a FTIR-ATR study on chitosan and chitosan/clay films, *Polymer* 99 (2016) 614–622, <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2016.07.086>.
- [54] D. Tan, P. Yuan, F. Annabi-Bergaya, D. Liu, L. Wang, H. Liu, H. He, Loading and in vitro release of ibuprofen in tubular halloysite, *Appl. Clay Sci.* 96 (2014) 50–55, <https://doi.org/10.1016/j.clay.2014.01.018>.
- [55] M. Liu, C. Wu, Y. Jiao, S. Xiong, C. Zhou, Chitosan-halloysite nanotubes nanocomposite scaffolds for tissue engineering, *J. Mater. Chem. B* 1 (2013) 2078, <https://doi.org/10.1039/c3tb20084a>.
- [56] K. Krejčová, P.B. Deasy, M. Rabišková, Diclofenac sodium entrapment and release from halloysite nanotubes, *Česka Slov. Farm.* 62 (2013) 28–34.
- [57] H. Li, X. Zhu, H. Zhou, S. Zhong, Functionalization of halloysite nanotubes by enlargement and hydrophobicity for sustained release of analgesic, *Colloids Surf. A*

- Physicochem. Eng. Asp. 487 (2015) 154–161, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2015.09.062>.
- [58] Q. Wang, J. Zhang, Y. Zheng, A. Wang, Adsorption and release of ofloxacin from acid- and heat-treated halloysite, *Colloids Surf. B: Biointerfaces* 113 (2014) 51–58, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.08.036>.
- [59] F.R. Ahmed, M.H. Shoaib, M. Azhar, S.H. Um, R.I. Yousuf, S. Hashmi, A. Dar, In-vitro assessment of cytotoxicity of halloysite nanotubes against HepG2, HCT116 and human peripheral blood lymphocytes, *Colloids Surf. B: Biointerfaces* 135 (2015) 50–55, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.07.021>.
- [60] X. Zhao, Q. Wan, X. Fu, X. Meng, X. Ou, R. Zhong, Q. Zhou, M. Liu, The toxicity evaluation of one-dimensional nanoparticles using *Caenorhabditis elegans*: a comparative study of halloysite nanotubes and chitin nanocrystals, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 7 (2019) 18965–18975, <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b04365>.
- [61] E. Tarasova, E. Naumenko, E. Rozhina, F. Akhatova, R. Fakhrullin, Cytocompatibility and uptake of polycations-modified halloysite clay nanotubes, *Appl. Clay Sci.* 169 (2019) 21–30, <https://doi.org/10.1016/j.clay.2018.12.016>.
- [62] International Organization for Standardization, ISO 10993-5:2009. Biological evaluation of medical devices — Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity, Geneva, Switzerland.
- [63] M. Huang, E. Khor, L.-Y. Lim, Uptake and cytotoxicity of chitosan molecules and nanoparticles: effects of molecular weight and degree of deacetylation, *Pharm. Res.* 21 (2004) 344–353, <https://doi.org/10.1023/b:pham.0000016249.52831.a5>.
- [64] S. Rodrigues, M. Dionísio, C.R. López, A. Grenha, Biocompatibility of chitosan carriers with application in drug delivery, *J. Funct. Biomater.* 3 (2012) 615–641, <https://doi.org/10.3390/jfb3030615>.
- [65] M. Liu, Y. Zhang, C. Wu, S. Xiong, C. Zhou, Chitosan/halloysite nanotubes bionanocomposites: structure, mechanical properties and biocompatibility, *Int. J. Biol. Macromol.* 51 (2012) 566–575, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.06.022>.
- [66] G. Sandri, C. Aguzzi, S. Rossi, M.C. Bonferoni, G. Bruni, C. Boselli, A.I. Cornaglia, F. Riva, C. Viseras, C. Caramella, F. Ferrari, Halloysite and chitosan oligosaccharide nanocomposite for wound healing, *Acta Biomater.* 57 (2017) 216–224, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.05.032>.
- [67] M. Koosha, M. Raoufi, H. Moravvej, One-pot reactive electrospinning of chitosan/PVA hydrogel nanofibers reinforced by halloysite nanotubes with enhanced fibroblast cell attachment for skin tissue regeneration, *Colloids Surf. B: Biointerfaces* 179 (2019) 270–279, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.03.054>.



Modification of selectively acid-etched halloysite by mucoadhesive chitosan derivatives: New bionanocomposites with improved functional properties

Valentina Jauković^a, Bojan Čalijski^a, Branka Ivković^b, Vitaliy V. Khutoryanskiy^c, Mahmoud H. Abu Elella^{c,d}, Ivana Kurćubić^a, Đorđe Medarević^a, Jovica Stojanović^e, Ana Damjanović^f, Danina Krajišnik^{a,*}

^a Department of Pharmaceutical Technology and Cosmetology, University of Belgrade-Faculty of Pharmacy, 11221, Belgrade, Serbia

^b Department of Pharmaceutical Chemistry, University of Belgrade-Faculty of Pharmacy, 11221, Belgrade, Serbia

^c Reading School of Pharmacy, University of Reading, Reading, RG6 6DX, United Kingdom

^d Chemistry Department, Faculty of Science, Cairo University, Giza, 12613, Egypt

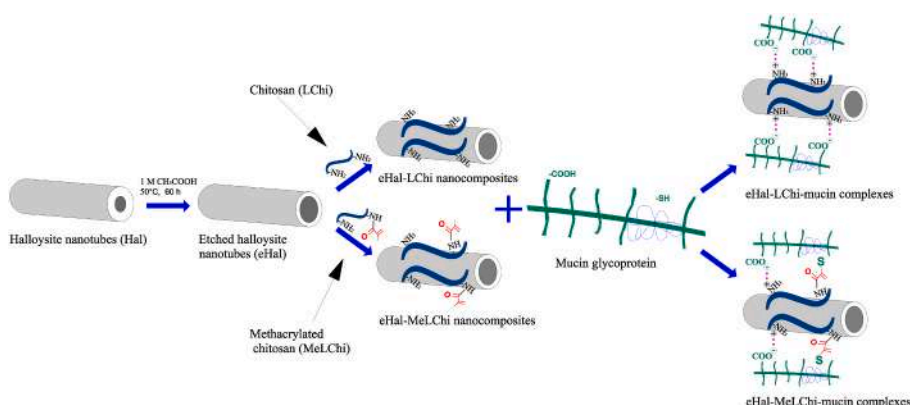
^e Institute for the Technology of Nuclear and Other Mineral Raw Materials, Franje d'Epere 86, 11000, Belgrade, Serbia

^f Institute of Oncology and Radiology of Serbia, Pasterova 14, 11000, Belgrade, Serbia

HIGHLIGHTS

- Functional properties of halloysite based bionanocomposites were investigated.
- Modification with chitosan and its methacrylated derivative was successful.
- Functionalized acid-etched modified halloysite showed good biocompatibility.
- Chitosan derivatives improved mucoadhesive properties of halloysite composites.
- Halloysite-chitosan nanocomposites could be used for drug delivery.

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Keywords:

Acid-etched
Halloysite
Chitosan
Methacrylated chitosan
Mucoadhesive properties

ABSTRACT

In this study, the modification of selectively acid-etched halloysite (eHal) by low molecular weight chitosan (LChi) and its methacrylated derivative (MeLChi) is investigated to form new bionanocomposites with improved functional properties. The formation of nanocomposites was confirmed by various instrumental techniques (ζ -potential measurements, SEM, FT-IR, DSC, XRD and ¹H NMR). Both nanocomposites exhibited improved functional properties while preserving the tubular structure of halloysite. The cytotoxic activity of eHal and eHal-polycation nanocomposites against normal human lung fibroblasts (MRC5) was determined using MTT assay. The results showed good biocompatibility of the prepared nanocomposites, with a cell survival rate of more than

* Corresponding author.

E-mail address: danina.krajsnik@pharmacy.bg.ac.rs (D. Krajišnik).

<https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2024.129756>

Received 12 March 2024; Received in revised form 18 July 2024; Accepted 22 July 2024

Available online 23 July 2024

0254-0584/© 2024 Elsevier B.V. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

90 %. The mucoadhesive properties of eHal and the corresponding chitosan nanocomposites were investigated *in vitro*. Primarily, ζ -potential measurements revealed electrostatic interactions between the eHal-polycation nanocomposites and mucin. The absorption study showed that the eHal-MeLChi nanocomposites could adsorb a greater amount of mucin (≈ 82 %) than the eHal-LChi nanocomposites (≈ 72 %) and eHal (≈ 58 %) after 8 h of incubation. Furthermore, the compacts of the tested samples were prepared by direct compression, and the detachment force against the mucin compact was measured using a texture analyzer. A significantly higher detachment force of the eHal-MeLChi nanocomposite compact (1.59 ± 0.07 N) from the mucin compact was determined compared to the eHal-LChi (1.35 ± 0.08 N) and eHal (0.98 ± 0.08 N) samples, demonstrating their improved mucoadhesive potential. In summary, this study demonstrates that functionalization of eHal with MeLChi may be a useful approach for the preparation of nanocomposites as potential carriers for mucoadhesive dosage forms.

1. Introduction

In recent decades, mucoadhesive drug delivery systems have received much attention because they can prolong the residence time of the dosage form at the site of absorption, allowing controlled drug release and improving therapeutic effect [1–3]. Various polymers have been used to develop mucoadhesive formulations [4–7]. Among them, chitosan is widely used due to its remarkable properties, such as non-toxicity, low cost, biocompatibility, biodegradability, and excellent mucoadhesive properties [8–10]. Chitosan is a naturally occurring cationic polysaccharide produced by the deacetylation of chitin. This polymer exhibits significant mucoadhesive properties, mainly due to electrostatic interactions between positively charged amino groups in chitosan and negatively charged groups in the mucin layer, at low pH < 6.5 [11]. The mucoadhesive properties of chitosan can be further improved by chemical modification through interaction with methacrylic anhydride. Methacrylated chitosan is able to form covalent bonds with the thiol groups of mucin, resulting in improved adhesion [12,13].

The preparation of new drug delivery systems based on the combination of chitosan and clay minerals has evoked intense research in recent years. Clay minerals can be considered naturally available materials that can be used as drug carriers because of their high retention capacity and colloidal properties [14,15]. Among them, halloysite (Hal) is of particular interest due to its biocompatibility, hollow tubular structure, large specific surface area, tunable surface chemistry, positive lumen, and negative external surface charge [16–18].

The Hal nanotubes are two-layered aluminosilicate clay minerals, consisting of silica tetrahedral layer situated on the outside and an octahedral layer of alumina on the inside of the tubes [19]. Despite numerous advances, the use of Hal as a drug carrier is limited by its low loading capacity (5–10 wt%) [18] and mucoadhesiveness [20,21]. This can be overcome by various approaches such as selective etching of alumina from the lumen [22–25] and functionalization of Hal with mucoadhesive polymers [21].

Owing to their excellent biological and mechanical properties, Hal-chitosan nanocomposites have been used in various biomedical applications including wound healing [26], drug delivery [27–30], implant coatings [31] and as scaffolds for tissue engineering [32–34]. Our previous study showed that a combined strategy of Hal etching under mild acidic conditions and functionalization with medium molecular weight chitosan had a significant effect on increasing drug loading (≈ 81 %) and sustained release of aceclofenac (≈ 87 % of the drug after 12 h) [23]. Low molecular weight chitosan has more flexible chains than medium and high molecular weight chitosans, which facilitates its efficient binding to the external surface of halloysite. The simultaneous effect of acid etching of Hal and functionalization with LChi on the mucoadhesive properties of nanocomposites has not yet been investigated. To fill this knowledge gap, the present study investigated the effect of these two approaches, which represent a significant contribution to the understanding of the interactions within these systems and their importance for the development of novel drug delivery systems. Hence, this study contributes to the understanding of the effects of methacrylation of LChi on the

mucoadhesive properties of eHal-LChi nanocomposites. The combination of acid etching of halloysite and modification with low molecular weight chitosan and its methacrylate derivative represents a novel approach to improve the mucoadhesive properties of halloysite which may prolong the therapeutic effect of loaded drugs. Primarily, lumen enlargement was performed under mild acidic conditions [23]. Moreover, the obtained eHal was modified with LChi and MeLChi by stirring in the acidic polymer solution. Considering that drugs can be loaded into the lumen of Hal by vacuum suction (e.g., aceclofenac [23], curcumin [28]), the drugs entrapped in the lumen were not expected to affect the mucoadhesive properties of eHal-polycation nanocomposites. Accordingly, mucoadhesive properties evaluation was performed using drug-free samples.

2. Experimental

2.1. Materials

Hal clay ($\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) was purchased from Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Germany). Low molecular weight chitosan (50–190 kDa; degree of deacetylation 75–85 %) was obtained from Sigma-Aldrich (UK). Methacrylated low molecular weight chitosan (degree of methacrylation 27 %) was synthesized according to the method described in Ref. [12]. Mucin from the porcine stomach, type II (Sigma-Aldrich Co., USA) was used to evaluate mucoadhesive properties. Deuterated trifluoroacetic acid and deuterated water were acquired from Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Germany). Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide (MTT), sodium dodecyl sulphate (SDS) and culture medium (RPMI-1640) were also purchased from Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Germany). The human lung fibroblast cell line (MRC5) was obtained from the American Type Culture Collection (Manassas, VA, USA). Ultrapure water from a GenPure apparatus (TKA Wasseraufbereitungssysteme GmbH, Germany) was used for all experiments. All other chemicals and reagents used were of analytical grade.

2.2. Preparation of nanoclay-polymer composites

To increase the surface area and inner lumen diameter, Hal was treated with acetic acid according to a previously described protocol [23]. The final sample was a white solid that was easily crushed to powder with a mortar and pestle, sieved through a 125 μm sieve and labeled as eHal. In addition, eHal was coated with LChi and MeLChi. The preparation of nanocomposites is described in detail in the Supplementary material.

2.3. Characterization of eHal and eHal-polycation composites

2.3.1. Scanning electron microscopy (SEM)

The surface morphology of all samples was examined by scanning electron microscopy (SEM) (JSM-6390LV, JEOL, Japan) at 20 kV. To avoid electrostatic charging during imaging, all samples were coated with a thin conductive gold layer using SCD 005 Cool Sputter Coater

(Bal-Tec, Germany) at 30 mA for 100 s before analysis. SEM images were acquired at two different magnifications ($30000\times$ and $8000\times$). ImageJ software, version 1.52a (National Institutes of Health, USA) was used to evaluate particle size. For each sample captured on SEM micrographs, one hundred tubes were randomly selected, and their external diameter and length were measured. The dimensions of the samples were expressed as the mean of length and external diameter.

2.3.2. Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy

The Nicolet iS10 FT-IR spectrometer (Thermo Fisher Scientific, USA) was used to obtain the attenuated total reflectance FT-IR spectra of the prepared nanocomposites and their individual components. The measurements were performed in a wavelength range between 4000 and 400 cm^{-1} with a resolution of 2 cm^{-1} .

2.3.3. Thermal analysis

Differential scanning calorimetry (DSC)/Thermogravimetry (TG) utilised a STA 449 F5 Jupiter Simultaneous Thermal Analyzer with Proteus® software produced by Netzsch, Germany. Samples were heated at a rate of 10 °C min^{-1} from 25 to 1000 °C using Pt80Rh20 thermocouples and Pt80Rh20 crucibles with lids. An empty crucible with lid was used as reference. The oven gas was streaming with 70 ml min^{-1} (20 ml min^{-1} protective gas - synthetic air and 50 ml min^{-1} purge gas - synthetic air). Prior to analyses, samples were kept in a desiccator over a saturated solution of NH_4Cl (a relative humidity of 75 %) for 24 h.

2.3.4. X-ray powder diffraction analysis

X-ray powder diffraction (XRD) was performed using the Philips PW-1710 automatic diffractometer (Philips, The Netherlands) with a Cu tube at 40 kV and a current of 30 mA . The instrument was equipped with a graphite monochromator with a curved diffracted beam and a proportional counter filled with Xe. The XRD patterns were recorded in a 2θ range from 4 to 65° with a step of 0.02° and a sampling time of 1 s per step. The divergence and reception gap were set to 1 and 0.1 , respectively. All XRD measurements were performed at room temperature in a stationary sample holder. The Joint Committee on Powder Diffraction Standards (JCPDS) database was used for sample identification.

2.3.5. Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy

^1H NMR spectra were recorded using a Bruker Avance III spectrometer (Bruker Biospin GmbH, Germany) at 400 MHz . Samples of LChi and MeLChi were prepared by stirring in a solution of deuterated water acidified with 0.1% deuterated trifluoroacetic acid. The solutions were heated to $70\text{--}80\text{ °C}$ for $2\text{--}3\text{ min}$ and then left at room temperature for half an hour. The ^1H NMR spectra were recorded after the complete dissolution of LChi and MeLChi. The same procedure was used for the composites eHal-LChi and eHal-MeLChi as well as for physical mixtures (prepared by geometric dilution with mortar and pestle) of eHal and LChi, i.e. eHal and MeLChi (in a ratio of $2:0.5$). The ^1H NMR spectra were recorded after good dispersion of the above physical mixtures and composite samples.

2.4. Assessment of mucoadhesive properties

To evaluate potential interactions between Hal (and its derivatives, such as eHal and eHal-polycation nanocomposites) with mucin, mucoadhesive studies were performed using three *in vitro* methods.

The first method was based on zeta potential measurements (ζ) of the mixture at 20 °C using a Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments, UK). The ζ measurements can provide insight into the mechanism of interaction between Hal (and its derivatives, such as eHal, eHal-polycation nanocomposites), and mucin. The ζ -potential of mucin free dispersions of the samples in deionized water at a certain concentration was used as a reference. Any changes in their ζ -potential values during incubation with mucin could be considered as an indication of their interaction [35]. The pH of mucin dispersion was measured using a HI

2223 pH meter (Hanna Instruments, USA).

For the test, a mucin stock dispersion was prepared by adding mucin powder at a concentration of 0.1% (w/v) to deionized water. The mucin dispersion was ultrasonically homogenized for 30 min at room temperature. Then, the accurately weighed Hal, eHal, eHal-LChi, and eHal-MeLChi (from each 25 mg) were added to 25 mL of aqueous mucin dispersion (0.1% w/v) and shaken for 4 h at 300 rpm and $20 \pm 1\text{ °C}$. The ζ -potential of the mixture was measured at specific time intervals (1 and 4 h) and compared with the ζ -potential of the mucin-free aqueous dispersions under the same conditions. Each measurement was repeated three times at room temperature and the data are presented as mean $\pm$ standard deviation (SD).

The mucoadhesiveness of the samples was additionally assessed by measuring their ability to adsorb mucin, using a method previously reported in Ref. [36] with a slight modification (Supplementary material, Fig. S1).

The interactions between the samples and mucin were also studied using a Shimadzu Texture Analyzer EZ-LX (Shimadzu Corporation, Japan) operated in a compression mode. A detailed description of the method is provided in the Supplementary material, Fig. S2.

2.5. Cell viability assay

The cytotoxic effect of eHal, eHal-LChi, and eHal-MeLChi against MRC-5 normal human lung fibroblasts was determined by MTT assay. The procedure is described in the Supplementary material.

3. Results and discussion

3.1. Scanning electron microscopy (SEM)

The SEM images of all samples at different magnifications ($8000\times$ and $30000\times$) are shown in Fig. 1. It can be clearly seen that the pristine Hal (Fig. 1a and e) has a tubular structure with a smooth and flat surface, which is consistent with the results of Murphy et al. [37]. No significant change in the particle morphology of Hal was observed after etching with acetic acid (Fig. 1b and f). This observation is consistent with previous results on the morphology of Hal etched in 0.01 M sulfuric acid [38]. The average characteristic size (external diameter of $50\text{--}100\text{ nm}$ and $300\text{--}700\text{ nm}$ in length) was maintained for pristine Hal and eHal. Similar results were previously reported for hydrochloric and sulfuric acid-activated Hal, showing that acid treatment selectively affects the inner octahedral layers of Hal, while the external diameter and length of the tubes remain unchanged [25].

The morphology of the composite particles at $30000\times$ magnification (Fig. 1c and d) shows that the tubular shape of the nanotubes has been preserved. The tubular structure of the composite particles can also be seen at $8000\times$ magnification (Fig. 1g and h). There were no significant differences in the SEM images of the composites compared to eHal, clearly indicating the presence of the polymer on the nanoclay surface. This can be explained by the low concentration of the polymer on the surface of the etched halloysite, which is not clearly visible in the SEM analysis. Using data from ImageJ (National Institutes of Health, USA), an average external diameter of $\approx 82\text{ nm}$ was determined for the eHal tubes. In contrast, the eHal-LChi and eHal-MeLChi nanocomposites had external diameters of $\approx 106\text{ nm}$ and $\approx 115\text{ nm}$, respectively. The increase in external diameter supports the adsorption of the polymers on the external surface of the eHal nanotubes.

3.2. Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy

The functional groups on the surface of the eHal and eHal-polycation nanocomposites were further analyzed by FTIR analysis (Fig. 2). Fig. 2 shows the FT-IR spectra of LChi, MeLChi, and eHal-polycation nanocomposites. The FT-IR spectrum of eHal has been discussed previously [23]. Pure LChi showed a peak at 3354 cm^{-1} representing the stretching

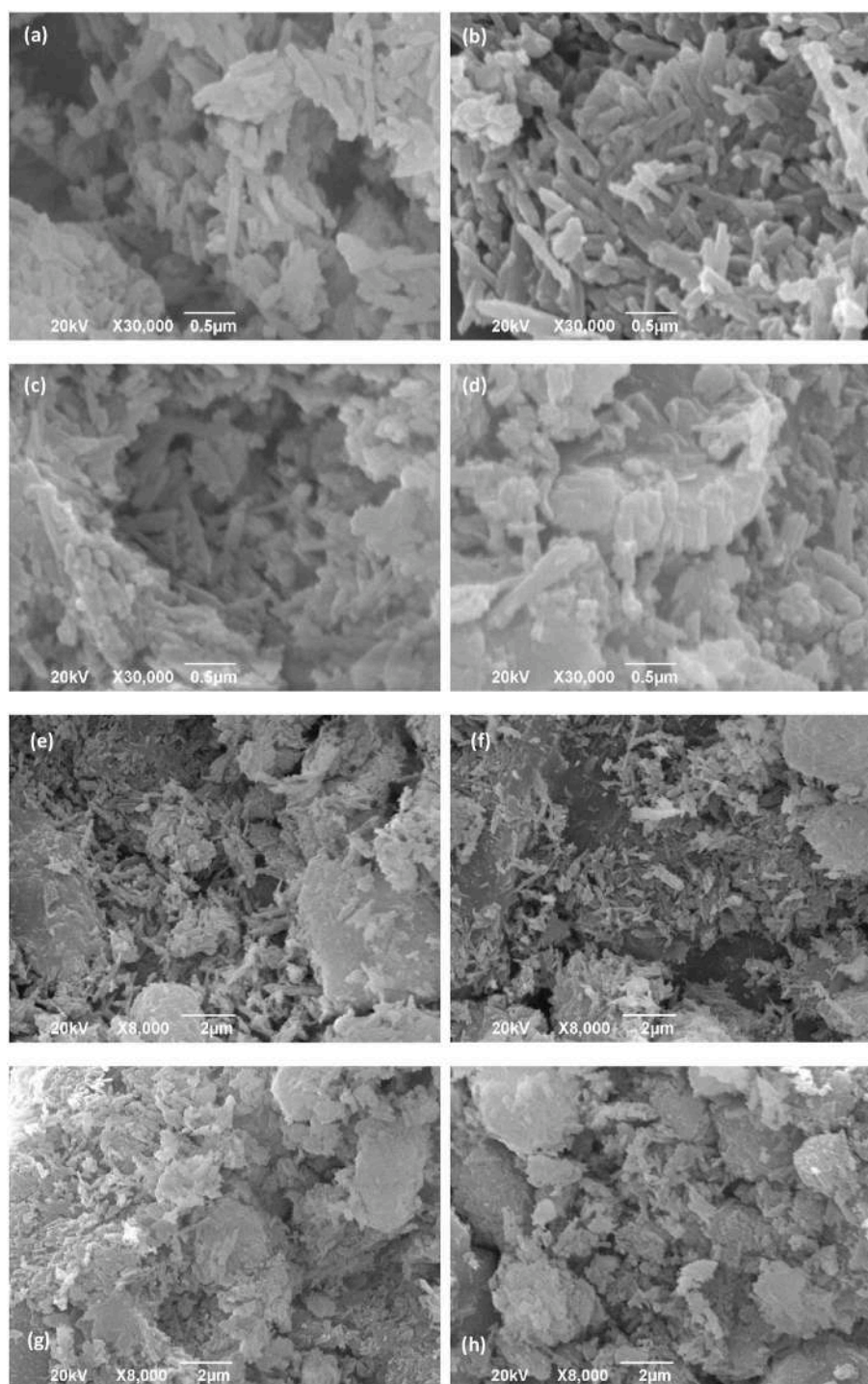


Fig. 1. SEM images at 30 000 $\times$ magnification of (a) pristine Hal; (b) eHal; (c) eHal-LChi; and (d) eHal-MeLChi, and SEM images at 8000 $\times$ magnification of (e) pristine Hal; (f) eHal; (g) eHal-LChi; and (h) eHal-MeLChi.

of the hydroxyl groups and the symmetric stretching of the amine groups at 2871 cm^{-1} (Fig. 2). The peak observed at 1374 cm^{-1} corresponds to $-\text{CH}_3$ stretching, while the absorption bands at 1026 cm^{-1} and 1150 cm^{-1} can be assigned to C–O stretching. The signal at 1651 cm^{-1} is attributed to the C=O stretching of the amide group. The FTIR spectrum of LChi is consistent with previous reports [39,40].

According to Fig. 2, the largest differences between LChi and MeLChi were observed in the range ($1538\text{--}1652\text{ cm}^{-1}$). The coupling of the methacrylated groups to the LChi backbone led to the appearance of a characteristic double bond peak in this region, indicating the C=C

stretching of the alkenyl group. The absorption band at 1621 cm^{-1} can be assigned to the C=O stretching of the amide in the methacrylate moiety of MeLChi, confirming the chemical modification of LChi. Moreover, the increased intensity of the absorption band at 2921 cm^{-1} , corresponding to the C–H stretching of the alkyl groups, proves the successful methacrylation of LChi, which was also confirmed by DSC, XRD, and ^1H NMR analyses. These results are consistent with previous reports on methacrylated chitosan [12,41].

Comparing the FT-IR spectral details of LChi and eHal-LChi, it was found that after the interaction of LChi with eHal in the nanocomposites

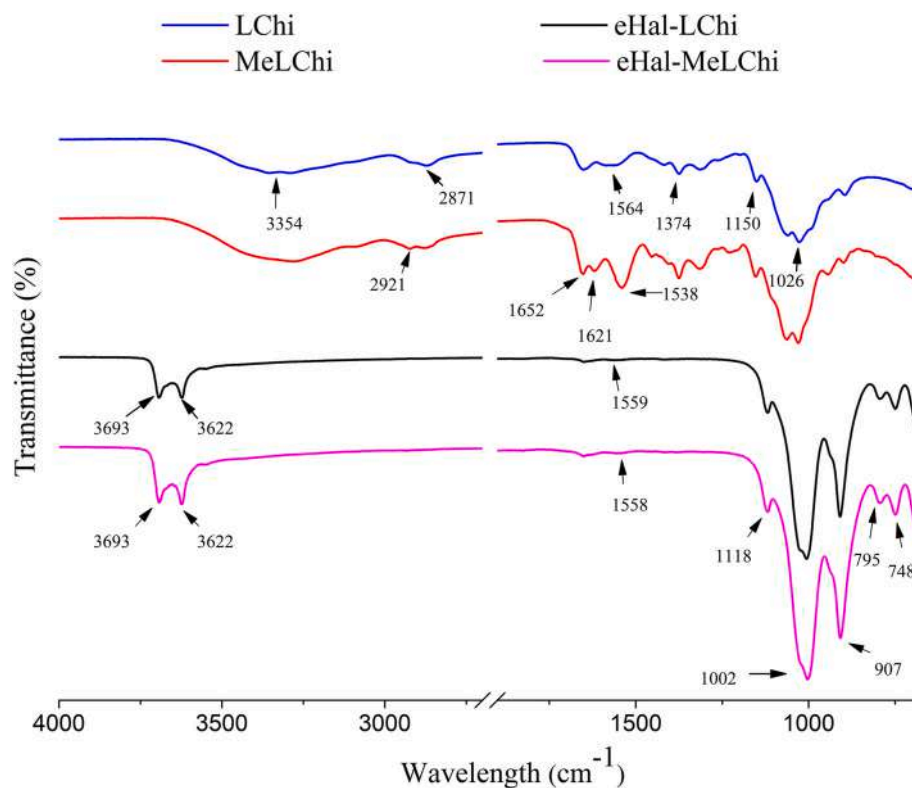


Fig. 2. FT-IR spectra of LChi, MeLChi and the corresponding composites.

(eHal-LChi), the stretching vibration of the protonated amino group observed in LChi at 1564 cm^{-1} was shifted to 1559 cm^{-1} in the nanocomposites. Similar results have been previously reported for nanocomposites of eHal and medium molecular weight chitosan [23]. In the eHal-MeLChi nanocomposites, the C=C stretching vibration of the alkenyl group was shifted from 1538 cm^{-1} in MeLChi to 1558 cm^{-1} in the composite sample. The shift of these absorption bands confirmed that both polymers were effectively linked to eHal in the prepared nanocomposite samples.

3.3. Thermal analysis

At DSC curve (Fig. 3), the dehydration of eHal is described by the endothermic peaks at 77 and $148\text{ }^{\circ}\text{C}$ related to the removal of the physically adsorbed water and the interlayer water during the transformation from Hal- $10\text{ }\text{\AA}$ to Hal- $7\text{ }\text{\AA}$, followed by the high intensity endothermic peak centered at and $505\text{ }^{\circ}\text{C}$ originated from

dehydroxylation of the structural aluminol groups. Exothermic peak at $996\text{ }^{\circ}\text{C}$ of eHal is attributed to the formation of $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ [42]. From TG curve, the total mass loss of eHal is 17.15% up to $1000\text{ }^{\circ}\text{C}$, which emphasizes its inherent stability as an inorganic material (Fig. 4).

For the LChi, in the interval between 20 and $200\text{ }^{\circ}\text{C}$, at DSC curve, endothermic peak at $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ is visible attributed to the water evaporation, while in the temperature region from 200 to $650\text{ }^{\circ}\text{C}$ exothermic peaks at 299 , 323 and $510\text{ }^{\circ}\text{C}$ originated from the degradation of polymer due to the rupture the anhydrous glycoside ring and deamination process (Fig. 3a) [43]. The DSC curve of eHal-LChi nanocomposite shows slightly visible changes in the endothermic and exothermic peaks compared to pure LChi, only in the temperature region from 20 to $650\text{ }^{\circ}\text{C}$, the mass loss of eHal increased from 13.66% after modification with LChi to 14.87% indicating the chitosan functionalization on the surface of eHal (Fig. 4) [44].

At DSC curve of MeLChi, the attached methacrylated groups to the LChi are confirmed with the change of the intensities and with the shift

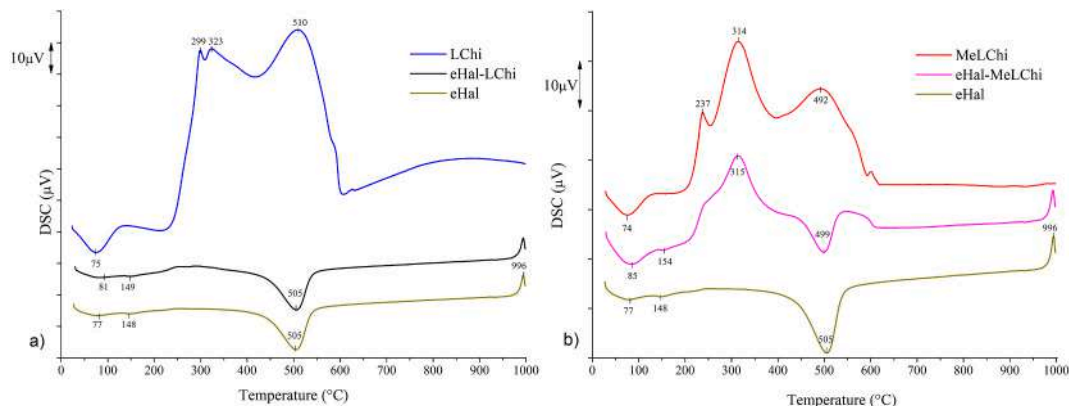


Fig. 3. DSC curves of eHal, LChi and eHal-LChi composites (a), eHal, MeLChi and eHal-MeLChi composites (b).

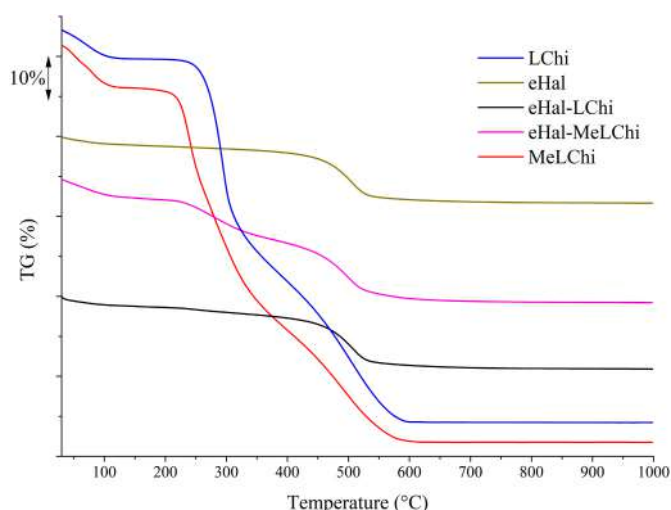


Fig. 4. TG curves of eHal, LChi, MeLChi and the corresponding composites.

of the characteristic exothermic peaks of LChi. For MeLChi, exothermic peaks are visible at 237, 314 and 492 °C. After modification of eHal with MeLChi, changes in the thermal behavior of composite eHal-MeLChi are more visible. The endothermic peaks of eHal visible at 77 and 148 °C were shifted toward higher temperatures (85 and 154 °C) and were more pronounced in the eHal-MeLChi composites (Fig. 3b). The mass loss in the temperature region from 20 to 200 °C increased from 2.96 % for eHal to 5.70 % for eHal-MeLChi composite (Fig. 4). In the temperature region 200–650 °C, at DSC curve of nanocomposite, high intensity exothermic peak originated from MeLChi appeared at 315 °C, while mass loss increased from 13.66 % (eHal) to 25.10 % (eHal-MeLChi). Also, the intensity of the dehydroxilation peak of eHal decreased after modification with MeLChi probably due to the overlapping with the exothermic peak of MeLChi and peak is slightly shifted toward lower temperature (from 505 °C for eHal to 499 °C for nanocomposite). These results are another confirmation of the successful modification of eHal with MeLChi.

3.4. X-ray powder diffraction method (XRD)

The effect of polymer functionalization on the crystalline structure of eHal was analyzed using XRD. The XRD patterns of eHal showed diffraction patterns at $2\theta = 12.02^\circ$, 19.96° , 24.72° , 35.98° , 38.4° , 54.98° , and 62.5° (Fig. 5). All observed diffraction peaks are indexed with the diffraction of the halloysite powder (JCPDS 29-1487). These results agree well with our previous report that the crystalline structure

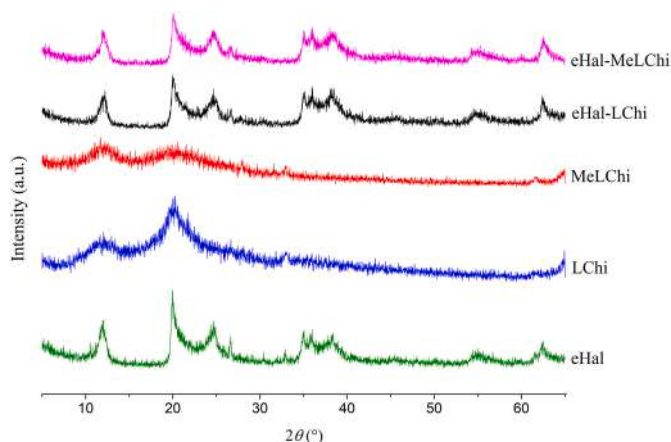


Fig. 5. XRD traces of eHal, LChi, MeLChi and the corresponding composites.

of pristine Hal was not affected by acetic acid treatment. After functionalization with LChi and MeLChi, the reflections of eHal remain unchanged, indicating that functionalization with these polymers does not affect the structure of eHal. This is in accordance with the observation that LChi and MeLChi adsorb only on the external surface of eHal nanotubes.

In addition, the XRD patterns were used to study the effects of methacrylation on the crystalline structure of LChi. Two intense crystalline peaks (2θ) at 12.06° and 20.28° were observed in pure chitosan previously reported in Ref. [45]. The change in the XRD pattern of MeLChi, characterized by a broadening of the peak at 20.28° due to the destruction of the intermolecular hydrogen bonds, indicates successful methacrylation of LChi. Kolawole et al. [12] reported lower crystallinity of methacrylated chitosan (degree of methacrylation, 34.3 %) compared to pure chitosan, with broadening of the peak around 20° and disappearance of the peak around 10° . In this study, the characteristic peak at 12.06° did not disappear, which can be explained by the lower degree of methacrylation of chitosan (27 %).

3.5. Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy

The ^1H NMR spectra of LCh and MeLChi are shown in Fig. 6. The ^1H NMR spectrum of LChi (Fig. 6a) shows a peak at 1.98 ppm attributable to methyl groups and peaks at 3.1–3.81 ppm attributable to hydrogen atoms of the glucosamine ring. In the ^1H NMR spectrum of MeLChi (Fig. 6b), new peaks appeared at 5.60 and 5.99 ppm, which were due to the presence of hydrogen atoms of the methylene group. These peaks indicated the successful methacrylation of chitosan. The physical mixtures of eHal and LChi (Fig. 6c), and eHal and MeLChi (Fig. 6d) showed the same peaks characteristic for LChi and MeLChi, respectively. The presence of hydrogen atoms was not detected in the ^1H NMR spectra of eHal-LChi and eHal-MeLChi nanocomposites (Fig. 6e and f). The peak of the methyl group, which is not involved in the interaction of LChi and MeLChi with eHal, was preserved, confirming that the interaction between the polymers and eHal occurred.

3.6. Assessment of mucoadhesive properties

The mucoadhesive properties of the Hal, eHal, eHal-LChi, and eHal-MeLChi nanocomposites were evaluated by measuring the changes in their ζ -potential upon interaction with negatively charged mucin; the results are shown in Fig. 7. The ζ -potential value of the mucin particles was -12.2 mV, confirming their negative charge due to the presence of sialic acid. In several studies, the negative ζ -potential of mucin was reported to be about -10 mV [46,47]. This slight difference in surface charge can be explained by the different conductivity and pH of water used for preparation of mucin dispersion, as well as by the different concentration and pH of the mucin dispersion.

Pristine Hal and eHal nanotubes initially exhibited a negative ζ -potential due to the negatively charged silanol groups located mainly on their external surface [48]. After incubation with mucin at $20 \pm 1^\circ\text{C}$ for 1 h, ζ -potentials of pristine Hal and eHal increased from (-25.9 ± 0.9) mV to (-14.2 ± 0.8) mV and from (-28.3 ± 1.1) mV to (-13.1 ± 0.8) mV, respectively. The values obtained were close to the ζ -potential of pure mucin (-12.2 mV), indicating that the surface of the complexes formed between mucin and nanotubes has a similar charge density to mucin. The interaction arises from hydrogen bonds between the hydroxyl groups of mucin and the silanol groups of nanotubes and from hydrogen bonds between the thiol groups of mucin and the silanol groups of nanotubes. With increasing incubation time with mucin, the ζ -potential of the nanotubes slightly decreased.

The ζ -potential measurements are also used to evaluate polymer adsorption on the eHal surface. The ζ -potentials for eHal-LChi and eHal-MeLChi nanocomposites were $+25.9 \pm 0.9$ mV and $+24.4 \pm 0.8$ mV, respectively, indicating successful binding of the cationic polymers to the external surface of the eHal nanotubes. In aqueous mucin dispersion

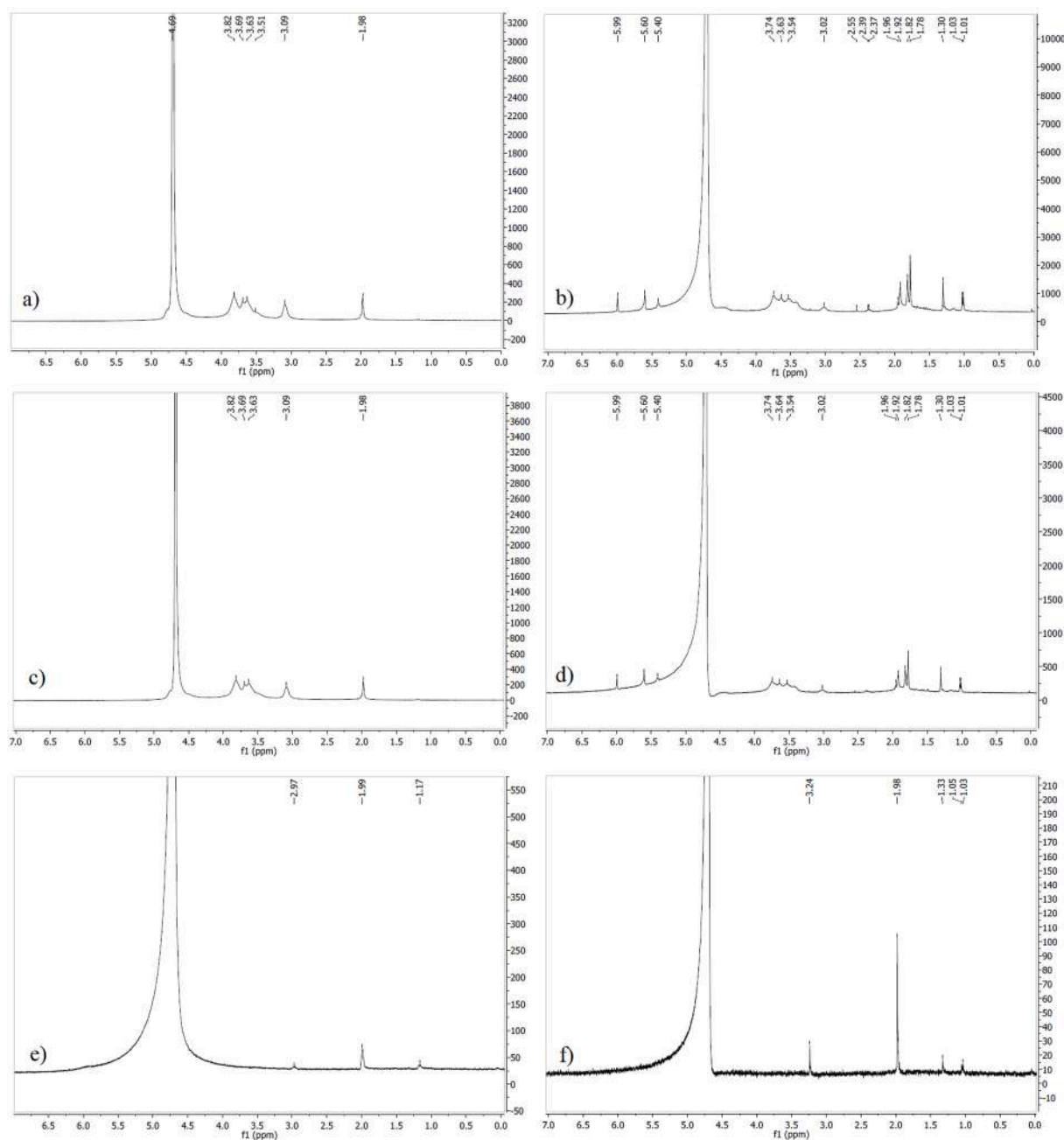


Fig. 6. ^1H NMR spectra of chitosans (a) LChi and (b) MeLChi; physical mixtures of (c) eHal and LChi and (d) eHal and MeLChi; nanocomposites (e) eHal-LChi and (f) eHal-MeLChi.

(pH $\approx$ 4.5), the sialic acid residues of mucin (pKa 2.6) are present in ionized form, indicating an overall negative charge of the glycoprotein [49]. At the same pH, the amine groups of chitosan are protonated, and given the strength of electrostatic interactions, positively charged species of the nanocomposite particles may interact with mucin. Indeed, the positive charge of eHal-LChi and eHal-MeLChi nanocomposites decreased significantly from $+25.9 \pm 0.9$ mV to -13.3 ± 0.5 mV and from $+24.4 \pm 0.8$ mV to -12.6 ± 0.4 mV, respectively, after 1 h incubation with mucin. This change in the surface charge of the nanocomposite particles strongly suggests that their interaction with mucin is electrostatic in nature. The complexes formed between mucin and nanocomposites exhibited a lower ζ -potential value compared to mucin itself, which can be explained by the different conformation of adsorbed mucin [50,51].

The mucoadhesive properties of the samples were further

determined by measuring their ability to adsorb mucin. The results of the mucoadhesion measurements followed the trend eHal-MeLChi > eHal-LChi > eHal > Hal. As shown in Fig. 8, pristine Hal exhibited the lowest mucoadhesive potential: 49 ± 0.7 % of the initially added mucin was adsorbed onto the nanotubes after 1 h of incubation. These results are consistent with a previous study showing that Hal has mucoadhesive potential [21]. Acetic acid treatment increased the specific surface area of nanotubes from $51.6 \text{ m}^2/\text{g}$ to $57.2 \text{ m}^2/\text{g}$ [23] for Hal and eHal, respectively. Due to the larger surface area, eHal was able to adsorb a higher percentage of mucin than the pristine Hal, with 54 ± 0.7 % of mucin adsorbed on the eHal surface after 1 h of incubation. For all samples tested, most of the mucin was bound to the nanotubes within the first hour of incubation and did not differ according to the duration of incubation. This could be due to the saturation of the nanotube surface by mucin chains.

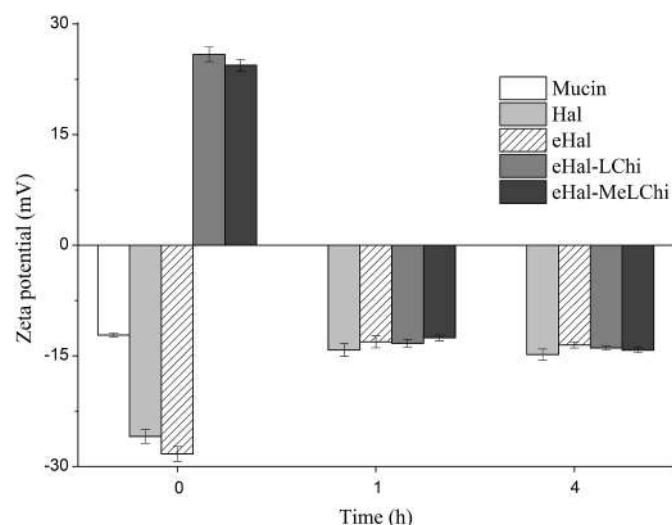


Fig. 7. ζ -potential values of Hal, eHal, eHal-LChi and eHal-MeLChi nanocomposites during incubation in 0.1 % aqueous mucin dispersion. The charge of nanoparticles in mucin free aqueous dispersion was used as reference (mean $\pm$ SD, $n = 3$).

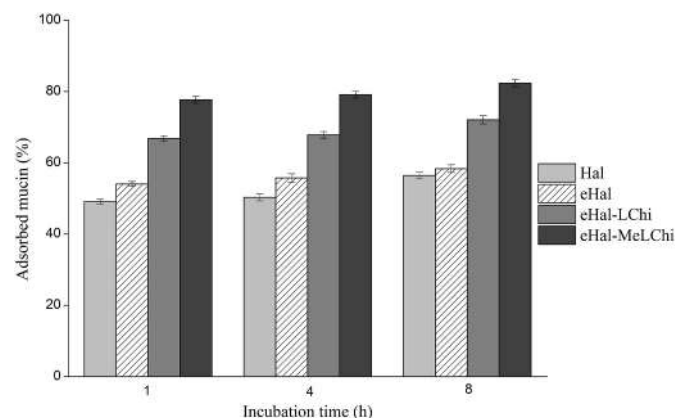


Fig. 8. Adsorption of mucin by the samples presented as a % of the initial amount of mucin added to the mixture. Data are presented as mean $\pm$ SD of three independent experiments.

After functionalization of eHal with LChi, the amount of mucin adsorbed on the composite surface increased to 66.8 ± 0.8 % after 1 h of incubation. This was expected since chitosan itself has good mucoadhesive properties [52,53]. The binding of eHal-LChi nanocomposites to mucin can be attributed to electrostatic interactions between the positively charged amines of LChi and the negatively charged sialic acid residue of mucin, as well as hydrogen bonds between the hydroxyl groups of LChi and the hydroxyl groups of mucin. Similar behavior was reported in Ref. [21], where the functionalization of pristine Hal with chitosan had a positive effect on mucoadhesive properties.

The introduction of methacrylate groups into MeLChi provides an opportunity for formation of covalent bonds with mucin in addition to the previously mentioned interactions (Fig. 9). The interaction between the alkenyl groups of MeLChi and the thiol groups of mucin are likely responsible for a greater percentage of adsorbed mucin by eHal-MeLChi nanocomposites (77.7 ± 0.9 %) compared to eHal-LChi nanocomposites (66.8 ± 0.8 %) after 1 h of incubation. These results were expected based on the findings of Kolawole et al. [12], who reported better mucoadhesivity of methacrylated chitosan compared with pure chitosan.

The mucoadhesiveness of the samples was additionally evaluated

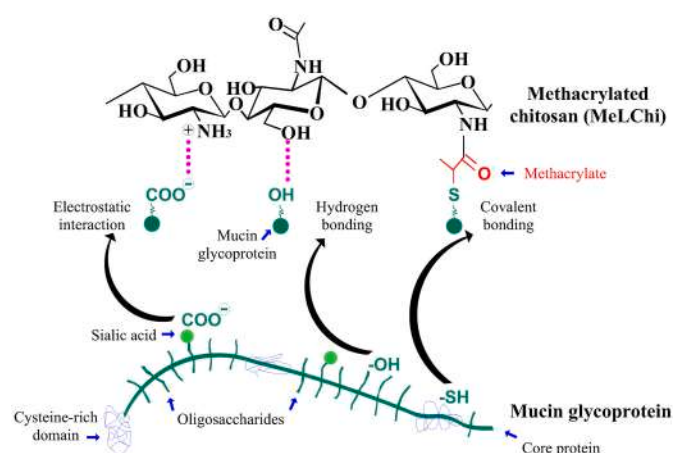


Fig. 9. Proposed mechanism of interaction between MeLChi and mucin glycoprotein in acidic conditions.

with a texture analyzer. Table 1 shows the F_{adh} values of all tested samples after detachment from the mucin compact.

In the present study, the eHal-MeLChi nanocomposite compacts showed the strongest adhesive properties to the mucin compacts, whereas the halloysite compacts showed the weakest interaction with mucin. Pristine Hal showed limited interactions with mucin due to its negative surface charge, which inhibits adhesion to negatively charged mucin. This study showed that F_{adh} , which is required for the detachment of the eHal compact from the mucin compact, was greater than the Hal compact, with values of 0.98 ± 0.08 N (eHal) and 0.78 ± 0.06 N (Hal), respectively. The better mucoadhesive properties of eHal compared with the pristine nanotubes could be explained by the larger specific surface area of eHal, which contributes to a stronger interaction with mucin.

In addition, the force required to break the mucoadhesive bonds between eHal-LChi and mucin compacts was 1.35 ± 0.08 N, greater than for eHal compacts. This suggests that noncovalent modification of eHal with LChi significantly improves mucoadhesive properties. Such results are expected due to the presence of positively charged amino groups in the structure of LChi, which can interact electrostatically with negatively charged mucin. Furthermore, this study revealed significant differences in the detachment force of eHal-LChi and eHal-MeLChi nanocomposite compacts from mucin compacts. The better mucoadhesive behavior of the eHal-MeLChi nanocomposites, with a mean detachment force (1.59 ± 0.07) N is probably due to the presence of methacrylate groups that form covalent bonds with the thiols of mucin. These results support our hypothesis that LChi and MeLChi have a marked effect on the mucoadhesiveness of eHal, and among the tested samples, eHal-MeLChi stands out as the composite with the best mucoadhesive properties.

3.7. Cell viability assay

The cytotoxic effect of eHal, eHal-LChi, and eHal-MeLChi nanocomposites on MRC-5 cells was determined by the MTT assay; the results are shown in Table S1 (Supplementary material). According to the

Table 1

Values of F_{adh} of sample compacts to the porcine mucin compact (mean $\pm$ SD; $n = 4$).

Samples	F_{adh} (N)
Hal	0.78 ± 0.06
eHal	0.98 ± 0.08
eHal-LChi	1.35 ± 0.08
eHal-MeLChi	1.59 ± 0.07

standard ISO 10993-5 [54], a cell viability more than 70 % is acceptable for a biocompatible nanocarrier (ISO 10993-5:2009). The results showed that eHal and eHal-polycation nanocomposites were biocompatible as the resulting percentage of viability in MRC-5 cells was more than 70 % within investigated concentration range, even after prolonged exposure. The cell survival rate of eHal-LChi (90.7 ± 3 %) and eHal-MeLChi (96.3 ± 3 %) nanocomposites at a concentration 1000 $\mu\text{g/mL}$, indicated that functionalization with LChi and MeLChi did not affect cytocompatibility of eHal. Comparable values of cell survival rates of eHal-LChi and eHal-MeLChi confirmed that methacrylation of LChi does not affect cytocompatibility. This result was expected since Zanon et al. [55] showed that methacrylation did not affect the good biocompatibility of chitosan when tumor cell lines (H1299 and A549 GFP) were studied. These data suggest good biocompatibility of the new eHal-polycation composites under the cell culture conditions.

4. Conclusion

Selectively etched halloysite and corresponding composites with polycationic polymers (low molecular weight chitosan (LChi) and its methacrylated derivative (MeLChi)) were studied. The successful functionalization of eHal with the polycationic polymers was confirmed by ζ -potential measurements, SEM, FT-IR, DSC, XRD, and ^1H NMR. The results of *in vitro* mucoadhesion studies showed that the mucoadhesive properties of eHal were improved by functionalization with LChi and MeLChi. Overall, the eHal-MeLChi nanocomposite exhibited remarkable mucin-binding properties, which were attributed to the presence of methacrylate groups that interact with thiol groups of mucin. The enhanced mucoadhesive properties of the eHal-MeLChi nanocomposites were confirmed by ζ -potential measurements, mucin adsorption capacity, and mucoadhesion studies using a texture analyzer. The MRC5 cell cytotoxicity assay showed excellent cytocompatibility of the halloysite-polycation composites, even after prolonged exposure over 72 h, while the cell survival rate for the eHal-MeLChi nanocomposite at a concentration of 1000 $\mu\text{g/mL}$ was more than 90 % and the IC50 values were above 1000 $\mu\text{g/mL}$.

These results suggest that modification of selectively etched halloysite with MeLChi may be a promising approach to improve the functional properties of these nanocarriers. The improved mucosal adhesion of halloysite-chitosan nanocomposites and good biocompatibility make them promising materials for drug delivery application.

CRedit authorship contribution statement

Valentina Jauković: Writing – original draft, Methodology, Investigation, Formal analysis, Conceptualization. **Bojan Čalić:** Investigation, Formal analysis, Conceptualization. **Branka Ivković:** Writing – review & editing, Methodology, Investigation, Formal analysis. **Vitaliy V. Khutoryanskiy:** Writing – review & editing, Methodology. **Mahmoud H. Abu Elella:** Writing – review & editing, Methodology. **Ivana Kurćubić:** Writing – review & editing, Investigation. **Đorđe Medarević:** Writing – review & editing, Investigation. **Jovica Stojanović:** Writing – review & editing, Investigation. **Ana Damjanović:** Writing – review & editing, Investigation. **Danina Krajišnik:** Writing – review & editing, Supervision, Methodology, Investigation, Conceptualization.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Data availability

Data will be made available on request.

Acknowledgements

This research was funded by the Ministry of Science, Technological Development and Innovation, Republic of Serbia through two Grant Agreements with University of Belgrade-Faculty of Pharmacy No 451-03-65/2024-03/200161 and No 451-03-66/2024-03/200161) and by the Science Fund of the Republic of Serbia, #GRANT No 7748088, Project title: Composite clays as advanced materials in animal nutrition and biomedicine – AniNutBiomedCLAYs. We are thankful to Mrs. Biljana Mihailović (Department of Pharmaceutical Chemistry, University of Belgrade - Faculty of Pharmacy) for excellent technical assistance. The authors would like to thank Prof. Miloš Petković (Department of Organic Chemistry, University of Belgrade - Faculty of Pharmacy) for help with ^1H NMR spectroscopy. We thank Dr Aleksandra Daković and Dr Marija Marković (Institute for the Technology of Nuclear and Other Mineral Raw Materials, Belgrade, Serbia) for their help with DSC-TG analysis.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2024.129756>.

References

- [1] B.M. Boddupalli, Z.N. Mohammed, R.A. Nath, D. Banji, Mucoadhesive drug delivery system: an overview, *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* 1 (2010) 381–387, <https://doi.org/10.4103/0110-5558.76436>.
- [2] P. Gao, X. Nie, M. Zou, Y. Shi, G. Cheng, Recent advances in materials for extended-release antibiotic delivery system, *J. Antibiot.* 64 (2011) 625–634, <https://doi.org/10.1038/ja.2011.58>.
- [3] R. Shaikh, T.R. Raj Singh, M.J. Garland, A.D. Woolfson, R.F. Donnelly, Mucoadhesive drug delivery systems, *J. Pharm. BioAllied Sci.* 3 (2011) 89–100, <https://doi.org/10.4103/0975-7406.76478>.
- [4] M.M. Issa, M. Köping-Höggård, P. Artursson, Chitosan and the mucosal delivery of biotechnology drugs, *Drug Discov. Today* 2 (2005) 1–6, <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2005.05.008>.
- [5] M. Mishra, B. Mishra, Mucoadhesive microparticles as potential carriers in inhalation delivery of doxycycline hyclate: a comparative study, *Acta Pharm. Sin.* B 2 (2012) 518–526, <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2012.05.001>.
- [6] R. Surya, M.D. Mullassery, N.B. Fernandez, D. Thomas, Synthesis and characterization of a clay-alginate nanocomposite for the controlled release of 5-Fluorouracil, *J. Sci. Adv. Mater. Dev.* 4 (2019) 432–441, <https://doi.org/10.1016/j.jsamd.2019.08.001>.
- [7] S.N. Zadeh, S. Rajabnezhad, M. Zandkarimi, S. Dahmardeh, L. Mir, M.A. Darbandi, M.R. Rajabnejad, Mucoadhesive microspheres of chitosan and polyvinyl alcohol as a carrier for intranasal delivery of insulin: in vitro and in vivo studies, *MOJ Bioequiv. Availab.* 3 (2017) 39–45, <https://doi.org/10.15406/mojbb.2017.03.00030>.
- [8] D. Zhao, S. Yu, B. Sun, S. Gao, S. Guo, K. Zhao, Biomedical applications of chitosan and its derivative nanoparticles, *Polymers* 10 (2018) 462, <https://doi.org/10.3390/polym10040462>.
- [9] S. Mansuri, P. Kesharwani, K. Jain, R.K. Tekade, N.K. Jain, Mucoadhesion: a promising approach in drug delivery system, *React. Funct. Polym.* 100 (2016) 151–172, <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2016.01.011>.
- [10] S. Murugesan, T. Scheibel, Chitosan-based nanocomposites for medical applications, *J. Polym. Sci.* 59 (2021) 1610–1642, <https://doi.org/10.1002/pol.20210251>.
- [11] I.A. Sogias, A.C. Williams, V.V. Khutoryanskiy, Why is chitosan mucoadhesive? *Biomacromolecules* 9 (2008) 1837–1842, <https://doi.org/10.1021/bm800276d>.
- [12] O.M. Kolawole, W.M. Lau, V.V. Khutoryanskiy, Methacrylated chitosan as a polymer with enhanced mucoadhesive properties for transmucosal drug delivery, *Int. J. Pharm.* 550 (2018) 123–129, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.08.034>.
- [13] Y. Shitrit, H. Bianco-Peled, Acrylated chitosan for mucoadhesive drug delivery systems, *Int. J. Pharm.* 517 (2017) 247–255, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.12.023>.
- [14] C. Aguzzi, P. Cerezo, C. Viseras, C. Caramella, Use of clays as drug delivery systems: possibilities and limitations, *Appl. Clay Sci.* 36 (2007) 22–36, <https://doi.org/10.1016/j.clay.2006.06.015>.
- [15] W. Chrzanowski, S.Y. Kim, E.A.A. Neel, Biomedical applications of clay, *Aust. J. Chem.* 66 (2013) 1315–1322, <https://doi.org/10.1071/CH13361>.
- [16] P. Yuan, D. Tan, F. Annabi-Bergaya, Properties and applications of halloysite nanotubes: recent research advances and future prospects, *Appl. Clay Sci.* 112–113 (2015) 75–93, <https://doi.org/10.1016/j.clay.2015.05.001>.
- [17] V. Bertolino, G. Cavallaro, S. Miloto, G. Lazzara, Polysaccharides/Halloysite nanotubes for smart bionanocomposite materials, *Carbohydr. Polym.* 245 (2020) 116502, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116502>.

- [18] Y.M. Lvov, M.M. DeVilliers, R.F. Fakhruddin, The application of halloysite tubule nanoclay in drug delivery, *Expert Opin. Drug Deliv.* 13 (2016) 977–986, <https://doi.org/10.1517/17425247.2016.1169271>.
- [19] X. Zhang, M. Cresswell, Alternative inorganic systems for controlled release applications, in: X. Zhang, M. Cresswell (Eds.), *Inorganic Controlled Release Technology*, Elsevier, 2016, pp. 189–219.
- [20] N. Kerdasakundee, W. Li, J.P. Martins, Z. Liu, F. Zhang, M. Kemell, A. Correia, Y. Ding, M. Airavaara, J. Hirvonen, R. Wiwattanapatapee, H.A. Santos, Multifunctional nanotube-mucoadhesive poly (methyl vinyl ether-co-maleic acid) @ hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate composite for site-specific oral drug delivery, *Adv. Healthcare Mater.* 6 (2017) 1700629, <https://doi.org/10.1002/adhm.201700629>.
- [21] S. Sharif, G. Abbas, M. Hanif, A. Bernkop-Schnürch, A. Jalil, M. Yaqoob, Mucoadhesive micro-composites: chitosan coated halloysite nanotubes for sustained drug delivery, *Colloids Surf., B* 184 (2019) 110527, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110527>.
- [22] E. Abdullayev, A. Joshi, W. Wei, Y. Zhao, Y. Lvov, Enlargement of halloysite clay nanotube lumen by selective etching of aluminum oxide, *ACS Nano* 6 (2012) 7216–7226, <https://doi.org/10.1021/nn302328x>.
- [23] V. Jauković, D. Krajišnik, A. Daković, A. Damjanović, J. Krstić, J. Stojanović, B. Čalić, Influence of selective acid-etching on functionality of halloysite-chitosan nanocomposites for sustained drug release, *Mater. Sci. Eng. C* 123 (2021) 112029, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112029>.
- [24] X. Xing, J. Wang, Q. Li, W. Hu, Influence of acid treatment on the loading and release behavior of halloysite with 2-Mercaptobenzothiazole, *J. Nanosci. Nanotechnol.* 19 (2019) 7178–7184, <https://doi.org/10.1166/jnn.2019.16616>.
- [25] Y. Lvov, W. Wang, L. Zhang, R. Fakhruddin, Halloysite clay nanotubes for loading and sustained release of functional compounds, *Adv. Mater.* 28 (2016) 1227–1250, <https://doi.org/10.1002/adma.201502341>.
- [26] G. Sandri, C. Aguzzi, S. Rossi, M.C. Bonferoni, G. Bruni, C. Boselli, A.I. Cornaglia, F. Riva, C. Viseras, C. Caramella, F. Ferrari, Halloysite and chitosan oligosaccharide nanocomposite for wound healing, *Acta Biomater.* 57 (2017) 216–224, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.05.032>.
- [27] A. Paul, R. Augustine, A. Hasan, A.A. Zahid, S. Thomas, C. Agatemor, K. Ghosa, Halloysite nanotube and chitosan polymer composites: physicochemical and drug delivery properties, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 72 (2022) 103380, <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103380>.
- [28] E. Nyankson, S.O. Aboagye, J.K. Efavi, B. Agyei-Tuffour, L. Paemka, B.O. Asimeng, S. Balapangu, P.K. Arthur, E.K. Tiburu, Chitosan-coated halloysite nanotubes as vehicle for controlled drug delivery to MCF-7 cancer cells in vitro, *Materials* 14 (2021) 2837, <https://doi.org/10.3390/ma14112837>.
- [29] L. Lisuzzo, G. Cavallaro, S. Milioto, G. Lazzara, Halloysite nanotubes coated by chitosan for the controlled release of khellin, *Polymers* 12 (2020) 1766, <https://doi.org/10.3390/polym12081766>.
- [30] M. Barman, S. Mahmood, R. Augustine, A. Hasan, S. Thomas, K. Ghosal, Natural halloysite nanotubes/chitosan based bio-nanocomposite for delivering norfloxacin, an anti-microbial agent in sustained release manner, *Int. J. Biol. Macromol.* 162 (2020) 1849–1861, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.060>.
- [31] M. Chozhanathmisra, K. Pandian, D. Govindaraj, P. Karthikeyan, L. Mitu, R. Rajavel, Halloysite nanotube-reinforced ion-incorporated hydroxyapatite-chitosan composite coating on Ti-6Al-4 V alloy for implant application, *J. Chem. Neuroanat.* (2019) 1–12, <https://doi.org/10.1155/2019/7472058>.
- [32] K. Govindasamy, C. Fernandopulle, P. Pasbakhsh, K. Goh, Synthesis and characterisation of electrospun chitosan membranes reinforced by halloysite nanotubes, *J. Mech. Med. Biol.* 14 (2014) 1450058, <https://doi.org/10.1142/s0219519414500584>.
- [33] M.P. Krishnapur, N. Sushma, K.B. Revathi, K.G. Shinomol, Chitosan-halloysite nano-composite for scaffolds for tissue engineering, in: A. Al-Ahmed, Inamuddin (Eds.), *Advanced Applications of Micro and Nano Clay*, Mater. Sci. Eng., 2022, pp. 103–123.
- [34] M. Liu, C. Wu, Y. Jiao, S. Xiong, C. Zhou, Chitosan-halloysite nanotubes nanocomposite scaffolds for tissue engineering, *J. Mater. Chem. B* 1 (2013) 2078–2089, <https://doi.org/10.1039/c3tb20084a>.
- [35] V.N. Boya, R. Lovett, S. Setua, V. Gandhi, P.K.B. Nagesh, S. Khan, M. Jaggi, M. M. Yallapu, S.C. Chauhan, Probing mucin interaction behavior of magnetic nanoparticles, *J. Colloid Interface Sci.* 488 (2017) 258–268, <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2016.10.090>.
- [36] S. Sunogrot, L. Hasan, A. Alsadi, R. Hamed, O. Tarawneh, Interactions of mussel-inspired polymeric nanoparticles with gastric mucin: Implications for gastro-retentive drug delivery, *Colloids Surf., B* 156 (2017) 1–8, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.05.005>.
- [37] Z. Murphy, M. Kent, C. Freeman, S. Landge, E. Koricho, Halloysite nanotubes functionalized with epoxy and thiol organosilane groups to improve fracture toughness in nanocomposites, *SN Appl. Sci.* 2 (2020) 2130, <https://doi.org/10.1007/s42452-020-03909-2>.
- [38] E.G. Bediako, E. Nyankson, D. Dodoo-Arhin, B. Agyei-Tuffour, D. Lukoweic, B. Tomiczek, A. Yaya, J.K. Efavi, Modified halloysite nanoclay as a vehicle for sustained drug delivery, *Heliyon* 4 (2018) e00689, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00689>.
- [39] X. Zheng, Y. Yin, W. Jiang, L. Xing, J. Pu, Synthesis and characterization of low molecular weight chitosan, *Bio* 10 (2015) 2338–2349, <https://doi.org/10.15376/biores.10.2.2338-2349>.
- [40] S. Suryani, A.Y. Chaerunisa, I.M. Jonim R. Ruslin, L.O.A.N. Ramadhan, Y. W. Wardhana, S.H. Sabarwati, Production of low molecular weight chitosan using a combination of weak acid and ultrasonication methods, *Polymers* 14 (2022) 3417, <https://doi.org/10.3390/polym14163417>.
- [41] T. Cebe, N. Ahuja, F. Monte, K. Awad, K. Vyavhare, P. Aswath, J. Huang, M. Brotto, V. Varansi, Novel 3D-printed methacrylated chitosan-laponite nanosilicate composite scaffolds enhance cell growth and biomimetic formation in MC3T3 pre-osteoblasts, *J. Mater. Res.* 35 (2018) 58–75, <https://doi.org/10.1557/jmr.2018.260>.
- [42] P. Yuan, D. Tan, F. Annabi-Bergaya, W. Yan, M. Fan, D. Liu, H. He, Changes in structure, morphology, porosity and surface activity of mesoporous halloysite nanotubes under heating, *Clay Clay Miner.* 6 (2012) 561–573, <https://doi.org/10.1346/CCMN.2012.0600602>.
- [43] Y. Villegas-Peralta, J. López-Cervantes, T.J.M. Santana, R.G. Sánchez-Duarte, D. I. Sánchez-Machado, M.R. Martínez-Macias, M.A. Correa-Murrieta, Impact of the molecular weight on the size of chitosan nanoparticles: characterization and its solid-state application, *Polym. Bull.* 78 (2021) 813–832, <https://doi.org/10.1007/s00289-020-03139-x>.
- [44] S. Kouser, A. Prabhu, S. Sheik, K. Prashantha, G.K. Nagaraja, J.N. D'souza, K. M. Navada, D.J. Manasa, Chitosan functionalized halloysite nanotube/poly (caprolactone) nanocomposites for wound healing application, Chitosan functionalized halloysite nanotube/poly (caprolactone) nanocomposites for wound healing application, *Appl. Surf. Sci. Adv.* 6 (2021) 100158, <https://doi.org/10.1016/j.apsadv.2021.100158>.
- [45] M.E.I. Badawy, T.M.R. Lotfy, S.M.S. Shawir, Preparation and antibacterial activity of chitosan-silver nanoparticles for application in preservation of minced meat, *Bull. Natl. Res. Cent.* 43 (2019) 83, <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0124-8>.
- [46] A. Graça, L.M. Gonçalves, S. Raposo, H.M. Ribeiro, J. Marto, Useful in vitro techniques to evaluate the mucoadhesive properties of hyaluronic acid-based ocular delivery systems, *Pharmaceutics* 10 (2018) 110, <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10030110>.
- [47] B.A. Szilágyi, A. Mammadova, B. Gyarmati, A. Szilágyi, Mucoadhesive interactions between synthetic polyaspartamides and porcine gastric mucin on the colloid size scale, *Colloids Surf., B* 194 (2020) 111219, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111219>.
- [48] A.C. Santos, I. Pereira, S. Reis, F. Veiga, M. Saleh, Y. Lvov, Biomedical potential of clay nanotube formulations and their toxicity assessment, *Expert Opin. Drug Deliv.* 16 (2019) 1169–1182, <https://doi.org/10.1080/17425247.2019.1665020>.
- [49] E.R. Vimr, K.A. Kalivoda, E.L. Deszo, S.M. Steenberg, Diversity of microbial sialic acid metabolism, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 68 (2004) 132–153, <https://doi.org/10.1128/mmbr.68.1.132-153.2004>.
- [50] J.M. Coles, D.P. Chang, S. Zauscher, Molecular mechanisms of aqueous boundary lubrication by mucinous glycoproteins, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 15 (2010) 406–416, <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2010.07.002>.
- [51] M. Collado-González, Y.G. Espinosa, F.M. Goycoolea, Interaction between chitosan and mucin: fundamentals and applications, *Biomimetics* 4 (2019) 32, <https://doi.org/10.3390/biomimetics4020032>.
- [52] T.M.M. Ways, W.M. Lau, V.V. Khutoryanskiy, Chitosan and its derivatives for application in mucoadhesive drug delivery systems, *Polymers* 10 (2018) 267, <https://doi.org/10.3390/polym10030267>.
- [53] M. Kononova, B. Shagdarova, A. Zubareva, A. Generalov, M. Grechikhina, E. Svirshchevskaya, Development of mucoadhesive chitosan-based drug delivery system, *Prog. Chem. Appl. Chitin Deriv* 23 (2018) 103–113, <https://doi.org/10.15259/PCACD.23.10>.
- [54] International Organization for Standardization, ISO 10993-5, *Biological Evaluation of Medical Devices - Part 5: Tests for in Vitro Cytotoxicity*, 2009.
- [55] M. Zanon, A. Chiappone, N. Garino, M. Canta, F. Frascella, M. Hakkarainen, C. F. Pirri, M. Sangermano, Microwave-assisted methacrylation of chitosan for 3D printable hydrogels in tissue engineering, *Mater. Adv.* 3 (2022) 514–525, <https://doi.org/10.1039/D1MA00765C>.

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ФАРМАЦЕУТСКИ ФАКУЛТЕТ

Посл.број: 5/110

Дана 19.09.2024. године

На основу Статута Универзитета у Београду, продекан Факултета је дана 19.09.2024. године, донела

ОДЛУКУ

ОДОБРАВА се **ЈАУКОВИЋ ВАЛЕНТИНИ**, студенту Фармацеутског факултета, индекс бр. 20/2018, продужетак рока за завршетак студија у школској 2024/2025.

Образложење

ЈАУКОВИЋ ВАЛЕНТИНА, студент на студијском програму ДАС – Фармацеутска технологија, поднела је захтев број 5/110 од 19.09.2024. године продекану Факултета да јој се одобри продужетак рока за завршетак студија у школској 2024/2025.

Продекан Факултета је разматрала захтев 19.09.2024. године и оценила да је захтев основан, те је донето решење као у диспозитиву.

ПРАВНА ПОУКА: Против ове одлуке именовани има право приговора декану Факултета у року од 8 (осам) дана од дана пријема истог.

Одлуку доставити: Именованој-ом, декану и Одсеку за наставу и студентска питања.

ПРОДЕКАН ЗА ПОСЛЕДИПЛОМСКУ
НАСТАВУ
И КОНТИНУИРАНУ ЕДУКАЦИЈУ



Проф. др Сандра Везмар Ковачевић

UNIVERZITET U BEOGRADU
FARMACEUTSKI FAKULTET

03 br. 3/74
20. 10. 2025. godine

Na osnovu Statuta Univerziteta u Beogradu, prodekan Fakulteta je dana 20. 10. 2025. godine, donela

ODLUKU

ODOBRAVA se Tauković Valentina, studentu Farmaceutskog fakulteta, indeks br. 20/2018, produžetak roka za završetak studija do 2025/26. godine.

Obrazloženje

Tauković Valentina, student na studijskom programu DAS iz Farm. tehnologije, podneo je zahtev 03 br. 3/74 od 20. 10. 2025. godine prodekanu Fakulteta da mu se odobri produžetak roka za završetak studija.

Prodekan Fakulteta je razmatrala zahtev 20. 10. 2025. godine i ocenila da je zahtev osnovan, te je doneto rešenje kao u dispozitivu.

PRAVNA POUKA: Protiv ove odluke imenovani ima pravo prigovora dekanu Fakulteta u roku od 8 (osam) dana od dana prijema istog.

Odluku dostaviti: Imenovanoj-om, Odseku za nastavu i studentska pitanja i mentoru.

PRODEKAN ZA POSLEDIPLOMSKU NASTAVU
I KONTINUIRANU EDUKACIJU



Duška Krajnović
Prof. dr Dušanka Krajnović