

NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU FARMACEUTSKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU

KOMISIJI ZA POSLEDIPLOMSKU NASTAVU - DOKTORSKE STUDIJE

Na sednici Nastavno-naučnog veća Farmaceutskog fakulteta u Beogradu, održanoj 06.09.2016. godine imenovani su članovi Komisije za ocenu i odbranu završene doktorske disertacije kandidata diplomiranog farmaceuta Jelene Janićijević, pod naslovom:

„Karakterizacija prirodnih i modifikovanih dijatomita kao potencijalnih funkcionalnih materijala/ekscipijenasa za farmaceutsku primenu”

Komisija u sastavu:

- 1. Dr Jela Milić**, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, mentor i predsednik komisije
- 2. Dr Danina Krajišnik**, docent, Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, mentor
- 3. Dr Aleksandra Daković**, naučni savetnik, Institut za tehnologiju nuklearnih i drugih mineralnih sirovina, Beograd
- 4. Dr Radica Stepanović-Petrović**, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet
- 5. Dr Bojan Čalijski**, docent, Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

pregledala je priloženu disertaciju i podnosi Nastavno-naučnom veću Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu sledeći

IZVEŠTAJ

A. PRIKAZ SADRŽAJA DOKTORSKE DISERTACIJE

Doktorska disertacija kandidata diplomiranog farmaceuta Jelene Janićijević pod nazivom: „**Karakterizacija prirodnih i modifikovanih dijatomita kao potencijalnih funkcionalnih materijala/ekscipijenasa za farmaceutsku primenu**”, napisana je na 153 strane i sadrži 7 poglavlja: Uvod, Cilj istraživanja, Eksperimentalni deo, Rezultati i diskusija, Zaključak, Literatura i Prilozi. Na početku disertacije priložen je rezime na srpskom i engleskom jeziku.

Doktorska disertacija napisana je jasnim i preglednim stilom i sadrži 38 grafičkih prikaza (8 u uvodnom delu, 1 u eksperimentalnom delu i 29 u rezultatima i diskusiji), 22 tabele (4 u uvodnom delu, 2 u eksperimentalnom delu i 16 u rezultatima i diskusiji) i 157 literaturnih navoda koji se tiču razmatrane problematike.

UVOD obuhvata 2 odeljka: *Ekscipijenski mineralnog porekla – vrste, funkcionalne karakteristike i primena i Dijatomejska zemlja/dijatomit kao potencijalni ekscipijens*. Svaki odeljak sadrži informacije koje su od značaja za predmet proučavanja doktorske disertacije.

U *prvom odeljku* izdvojene su najznačajnije informacije o ekscipijensima mineralnog porekla, među kojima poseban značaj imaju gline. Navedeno je da poželjne fizičko-hemijske osobine glina omogućavaju njihovu tradicionalnu primenu kao farmaceutskih pomoćnih supstanci sa različitim ulogama/funkcijama, a poslednjih godina i primenu kao nosača za isporuku lekovitih supstanci. Pored slojevitih materijala, u koje spadaju gline, i porozni materijali se, zbog mogućnosti inkluzije i oslobađanja lekovitih supstanci na predvidljiv i reproduktivan način, ispituju kao potencijalni nosači.

U *drugom odeljku* navedene su informacije o dijatomejskoj zemlji/dijatomitu koja predstavlja meku, trošnu, sitnozrnu, silikatnu sedimentnu stenu nastalu taloženjem ćeliskih zidova (frustula) jednoćeliskih algi-dijatomeja na dnu morskih i jezerskih basena i očvršćavanjem taloga uz istiskivanje vode. Zbog biokompatibilnosti, visokog poroziteta i adsorpcionog kapaciteta, velike specifične površine, inertnosti, ali i mogućnosti modifikacije površine, dijatomit je prepoznat i kao nosač lekovitih supstanci. U cilju dobijanja materijala odgovarajućih funkcionalnosti, ispitivana je i mogućnost modifikacije dijatomita organskim ili neorganskim jedinjenjima.

CILJ ISTRAŽIVANJA je bio ispitivanje mogućnosti dobijanja funkcionalizovanih dijatomita poboljšanih fizičko-hemijskih osobina, modifikacijom pomoću delimično neutralisanog aluminijum-sulfata, kao i njihova farmaceutsko-tehnološka i biofarmaceutska karakterizacija (u poređenju sa poznatim alumosilikatnim materijalom farmakopejskog kvaliteta) sa aspekta potencijalne primene kao farmaceutskog ekscipijensa za modifikovano oslobađanje lekovitih supstanci. U cilju procene neškodljivosti modifikovanih dijatomita i intenziteta i dužine trajanja antihiperalgezijskog/antiedematoznog dejstva model supstance iz kompozita i fizičkih smeša modifikovani dijatomit-lekovita supstanca planirano je izvođenje *in vivo* bioloških testova.

EKSPERIMENTALNI DEO obuhvata *Materijale*, gde su navedene supstance i reagensi koji su korišćeni u eksperimentalnom radu i *Metode*, gde su opisani postupci dobijanja i metode karakterizacije modifikovanih dijatomita i kompozita i fizičkih smeša modifikovani dijatomit-model lekovita supstanca (diklofenak-natrijum i ibuprofen).

Eksperimentalni rad odvijao se u tri faze.

U *prvoj fazi eksperimentalnog rada* izvršena je fizičko-hemijska karakterizacija poroznih silikatnih materijala: australijskog dijatomita za koji u literaturi postoje podaci o ispitivanjima u svojstvu potencijalnog nosača za isporuku lekovitih supstanci, peruanskog dijatomita stepena čistoće za prehrambenu upotrebu (engl. *food grade*) koji se nalazi na tržištu i prečišćenog dijatomita iz lokalnog nalazišta (kolubarski dijatomit, poreklo - rudno jalovište kolubarskog basena uglja) koji do sada nisu opisivani u literaturi sa stanovišta farmaceutske primene. Prečišćavanje kolubarskog dijatomita je sprovedeno termičkim postupkom (žarenje na 550 °C) i prosejavanjem (sito 125 µm) kako bi se uklonile organske i druge nečistoće. Pomenuti materijali su poređeni sa bentonitom, tradicionalno korišćenim farmaceutskim ekscipijensom farmakopejskog (Ph. Eur 8.0.) kvaliteta koji je, zbog slojevitog strukture i mogućnosti interkalacije/umetanja supstanci u međuslojni prostor, opisan u literaturi kao potencijalni nosač za lekovite supstance.

Fizičko-hemijska karakterizacija peruanskog i prečišćenog kolubarskog dijatomita je izvršena metodama skenirajuće elektronske mikroskopije u sprezi sa energetske-disperzivnom rendgenskom spektrometrijom (SEM-EDS), infracrvene spektroskopije (FTIR), termalne analize (TG/DTG/DTA), zatim određivanjem raspodele veličine čestica metodom difrakcije laserske svetlosti, merenjem elektrokinetičkog (zeta) potencijala čestica, određivanjem specifične površine metodom adsorpcije-desorpcije azota na temperaturi tečnog azota (BET metod) kao i ispitivanjem sadržaja teških metala. Mikrobiološki kvalitet je ispitan u skladu sa farmakopejskim propisima (Ph. Eur. 6.0). Nakon toga je ispitana interakcija dijatomita različitog porekla kao i bentonita sa model lekovitim supstancama diklofenak-natrijumom i ibuprofenom. Interakcija model supstanci sa dijatomitima ili bentonitom (obim/kapacitet adsorpcije) je ispitana dispergovanjem odabrane količine adsorbensa (dijatomita različitog porekla ili bentonita) u rastvoru poznate početne koncentracije adsorbata (diklofenak-natrijuma ili ibuprofena) uz stalno mešanje i praćenje promene procesa adsorpcije tokom vremena do postizanja adsorpcione ravnoteže. U cilju povećanja kapaciteta vezivanja diklofenak-natrijuma i ibuprofena izvršena je modifikacija peruanskog i prečišćenog kolubarskog dijatomita delimično neutralisanim aluminijum-sulfatom.

Modifikacija dijatomita delimično neutralisanim aluminijum-sulfatom izvedena je suspendovanjem odgovarajuće količine dijatomita u vodenom rastvoru aluminijum-sulfata (0,02 g/ml $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$), a potom se u homogenu suspenziju dodavala baza (0,1 M NaOH) iz rotirajućeg rezervoara do postizanja molarnog OH/Al odnosa 1,9 (delimična neutralizacija), nakon čega su dobijeni talozi modifikovanih dijatomita odvojeni filtracijom, osušeni i usitnjeni. Pri postupku modifikacije količina dijatomita varirana je na tri nivoa, tako da približan maseni odnos dijatomit:delimično neutralisan aluminijum sulfat, u osušenom materijalu, bude 5:6, 5:3 i 5:2.

Fizičko-hemijska karakterizacija modifikovanih dijatomita u cilju procene uticaja modifikacije na svojstva polaznih materijala izvršena je primenom SEM-EDS metode, FTIR spektroskopije, termalne analize (TG/DTG/DTA), određivanjem raspodele veličine čestica

metodom difrakcije laserske svetlosti, merenjem elektrokinetičkog (zeta) potencijala čestica i određivanjem specifične površine BET metodom.

Farmaceutsko-tehnološka karakterizacija polaznih i modifikovanih dijatomita sprovedena je u skladu sa propisima Ph. Eur. 8.0 za pojedina ispitivanja funkcionalnih karakteristika praškova (određivanje nasipne i tapkane gustine i protočnosti praška).

Stabilnost modifikovanih dijatomita/spiranje aluminijuma (jona) ispitana je u tri različita medijuma (0,1 M HCl, fosfatni pufer pH 6,8 i fosfatni pufer pH 7,4) određivanjem koncentracije otpuštenog jona aluminijuma nakon izlaganja/tretmana modifikovanih dijatomita navedenim medijumima.

U *drugoј fazi eksperimentalnog rada* je ispitana interakcija modifikovanih dijatomita različitog porekla sa model lekovitim supstancama diklofenak-natrijumom i ibuprofenom u rastvoru praćenjem kinetike adsorpcije i određivanjem adsorpcionih izoterma. Analiza kinetike adsorpcije tj. promene količine adsorbovane supstance u zavisnosti od vremena, primenom matematičkih modela koristi se radi procene mehanizma adsorpcije, stepena adsorpcije koji određuje brzinu celokupnog procesa kao i radi određivanja kinetičkih parametara. Matematičko modelovanje adsorpcionih izoterma, koje predstavljaju zavisnost adsorbovane količine od koncentracije adsorbata u stanju ravnoteže pri konstantnoj temperaturi, pruža informacije o ravnotežnim parametrima procesa, mehanizmu adsorpcije i uopšte najčešće se koristi za opisivanje samog procesa adsorpcije u datom sistemu.

Kinetika adsorpcije ispitana je dispergovanjem određene količine adsorbensa (modifikovanog dijatomita) u rastvoru poznate početne koncentracije adsorbata (diklofenak-natrijuma ili ibuprofena) uz stalno mešanje i praćenje promene količine adsorbovane supstance tokom vremena. Količina adsorbovane supstance u definisanom vremenu je izračunata na osnovu razlike poznate početne količine supstance u rastvoru i količine supstance u rastvoru u odgovarajućem vremenu. Adsorpcione izoterme su određene dispergovanjem određene količine adsorbensa (modifikovanog dijatomita) u rastvorima rastućih koncentracija model lekovitih supstanci uz stalno mešanje do postizanja ravnoteže. Količina adsorbovane supstance je izračunata iz razlike poznate početne količine supstance u rastvoru i količine supstance u rastvoru po uspostavljanju adsorpcione ravnoteže.

Fizičko-hemijska karakterizacija modifikovanih dijatomita nakon adsorpcije lekovitih supstanci u cilju procene prirode interakcija između modifikovanih dijatomita i model supstanci, izvedena je primenom SEM-EDS metode, FTIR spektroskopije, TG/DTG/DTA analize i merenjem elektrokinetičkog (zeta) potencijala čestica.

In vitro biofarmaceutska ispitivanja obuhvatila su izvođenje ispitivanja brzine rastvaranja model lekovite supstance iz komprimata kompozita koji sadrže model supstancu adsorbovanu na modifikovani dijatomit ili fizičku smešu istog sadržaja model supstance i modifikovanog dijatomita. Ispitivanja su sprovedena primenom aparature sa protočnom ćelijom u sistemu „zatvorene petlje” u fosfatnim puferima pH vrednosti 6,8 i 7,5 za komprimite sa diklofenak-natrijumom, odnosno u fosfatnom puferu pH 7,2 za komprimite sa ibuprofenom, kao i u sistemu „otvorene petlje” pri sledećem protokolu izmene medijuma: 1 sat u 0,1 M HCl, 2 sata u fosfatnom puferu pH 6,8 i 4-5 sati u fosfatnom puferu pH 7,4.

Treća faza eksperimentalnog rada obuhvatila je izvođenje *in vivo* bioloških testova u cilju procene neškodljivosti dobijenih modifikovanih dijatomita i trajanja farmakološkog efekta

lekovitih supstanci oslobođenih iz uzoraka/kompozita modifikovani dijatomit-lekovita supstanca. Uzorci/kompoziti modifikovanog dijatomita sa adsorbovanim model lekovitim supstancama, koji su u okviru prethodne faze ispitivanja pokazali najpovoljniji/najprihvatljiviji profil oslobađanja lekovite supstance, pri odgovarajućem (optimalnom) odnosu lekovita supstanca/modifikovani dijatomit, podvrgnuti su *in vivo* ispitivanju analgetičke/antiedematozne aktivnosti.

Ispitivanje neškodljivosti na miševima soja NMRI HAN izvršeno je u skladu sa protokolom za nekliničko ispitivanje *Potencijalnih ekscipijenasa namenjenih za kratkotrajnu upotrebu* i internim propisom laboratorije. Ispitivanje je izvedeno tako što je životinjama peroralnim putem data doza ispitivanih uzoraka (modifikovanih dijatomita) koja je iznosila 2000 mg/kg. Ispitivanje je trajalo 72 h tokom kojih je posmatrano ispoljavanje znakova toksične reakcije ili uginuće životinja.

In vivo ispitivanje analgetičke/antiedematozne aktivnosti izvedeno je na uzorcima/kompozitima modifikovanog dijatomita sa adsorbovanom lekovitom supstancom i fizičkim smešama lekovita supstanca-modifikovani dijatomit u cilju praćenja uticaja nosača na intenzitet i dužinu trajanja antihiperalgezijskog/antiedematoznog dejstva u modelu inflamatornog bola u pacova. Ispitivanje je sprovedeno na pacovima *Wistar* roda primenom aparata za merenje pritiska u toku ispitivanja antihiperalgezijskog dejstava, odnosno pletizmometra za merenje volumena šape pacova, nakon zapaljenja izazvanog intraplantarnom primenom karagenana.

REZULTATI I DISKUSIJA prikazani su na 67 stranica teksta, kroz 29 grafičkih prikaza i 16 tabela, kroz sledeće odeljke: *Rezultati I faze eksperimentalnog rada*, *Rezultati II faze eksperimentalnog rada* i *Rezultati III faze eksperimentalnog rada*.

Uporedo sa rezultatima prikazana je detaljna analiza i tumačenje dobijenih rezultata, po svim fazama eksperimentalnog rada.

Na kraju doktorske disertacije dat je **ZAKLJUČAK**, izveden na osnovu dobijenih rezultata istraživanja i njihove analize.

U poglavlju **LITERATURA** navedeno je 157 referenci citiranih harvardskim stilom.

B. OPIS POSTIGNUTIH REZULTATA

Rezultati doktorske disertacije podeljeni su u tri celine, shodno postavljenim ciljevima. U okviru prvog dela prikazani su rezultati fizičko-hemijske karakterizacije uzoraka poroznih silikatnih materijala peruanskog dijatomita stepena čistoće za prehrambenu upotrebu i prečišćenog kolubarskog dijatomita koji su korišćeni kao polazni materijali. Rezultati karakterizacije uzoraka polaznih materijala ukazali su na međusobne razlike u: morfologiji, raspodeli veličina i specifičnoj površini čestica. Određivanjem i analizom adsorpcionih izoterma procenjena je interakcija polaznih materijala sa model lekovitim supstancama diklofenak-natrijumom i ibuprofenom. Pokazano je da je adsorpcija ibuprofena i diklofenak-natrijuma na ispitivane materijale, bila zanemarljiva (kretala se do 50 mg/g). U cilju povećanja kapaciteta vezivanja diklofenak-natrijuma i ibuprofena za ispitivane nosače, urađena je modifikacija polaznih materijala delimično neutralisanim aluminijum-sulfatom. Rezultati fizičko-hemijske karakterizacije modifikovanih dijatomita su ukazali da je modifikacija dijatomita dovela do: značajnog povećanja zapreminskog srednjeg prečnika čestica (usled ukрупnjavanja), značajne promene zeta potencijala čestica usled površinskih promena, smanjenja specifične površine,

povećanja nasipne i tapkane gustine i poboljšanja protočnosti. Ispitivanjem stabilnosti modificovanih dijatomita/spiranje aluminijuma (jona) u medijumima različitih pH vrednosti, utvrđeno je da se jedino značajnije spiranje aluminijuma odvijalo u kiseloj sredini, dok je spiranje u fosfatnim puferima bilo zanemarljivo.

Rezultati farmaceutsko-tehnološke karakterizacije polaznih i modificovanih dijatomita, koji uključuju rezultate određivanje nasipne i tapkane gustine i ispitivanja protočnosti pokazali su da se modifikacijom poboljšavaju određena svojstva praškova koja su značajna u proizvodnom postupku čvrstih farmaceutskih oblika.

U drugom delu prikazana je adsorpcija diklofenak-natrijuma, kao i ibuprofena, na modificovane dijatomite koja je procenjena određivanjem adsorpcionih izoterma. Pokazano je da adsorpciju diklofenak-natrijuma, kao i ibuprofena, na modificovane dijatomite bolje opisuje *Langmuir*-ov model, pa se pretpostavlja da se lekovite supstance adsorbuju u monosloju na energetski homogenu površinu modificovanih dijatomita. Izračunate vrednosti maksimalnog kapaciteta adsorpcije kod monoslojne pokrivenosti ($Q_{\max}$) diklofenak-natrijuma iznosile su ~ 378 mg/g za MD500 (modifikovani peruanski dijatomit) i ~ 394 mg/g za MD (modifikovani kolubarski dijatomit). Izračunata vrednost $Q_{\max}$ uzorka MD500 znatno je veća od vrednosti adsorpcionog kapaciteta određenog u uslovima eksperimenta (262 mg/g), pošto su parametri postupka adsorpcije diklofenak-natrijuma na modificovane peruanske dijatomite postavljeni tako da se omoguću skoro 100% stepen adsorpcije diklofenak-natrijuma u relativno kratkom vremenskom periodu, usled čega se pun obim vezivanja supstanci nije pokazao u samom ispitivanju. Izračunate vrednosti $Q_{\max}$ ibuprofena bile su ~ 207 mg/g za MD500 i MD. Pokazano je da neorganska modifikacija dijatomita značajno povećava kapacitet adsorpcije ovih materijala za model supstance, što omogućava primenu adsorpcije kao postupka vezivanja lekovite supstance na ove potencijalne funkcionalne nosače.

Ispitivanja *in vitro* brzine rastvaranja model lekovite supstance iz komprimata kompozita pokazala su da nezavisno od pH vrednosti medijuma za ispitivanje (fosfatni pufer pH 6,8 i pH 7,5) kao i vrste dijatomita koji je korišćen za pripremu nosača (peruanski ili kolubarski), komprimati koji sadrže diklofenak-natrijuma adsorbovan na nosač ili njihovu fizičku smešu produženo oslobađaju lekovitu supstancu. Za opisivanje oslobađanja diklofenak-natrijuma iz komprimata kompozita i fizičkih smeša lekovite supstance sa modificovanim dijatomitima najpogodniji je bio *Korsmeyer–Peppas*-ov model. Vrednost eksponenta n u *Korsmeyer–Peppas*-ovom modelu ukazala je da je ne-Fikova difuzija (engl. *anomalous transport*) dominantan mehanizam oslobađanja diklofenak-natrijuma iz komprimata sa modificovanim dijatomitima. Takođe, *Korsmeyer–Peppas*-ov model se pokazao kao najbolji za opisivanje oslobađanja ibuprofena iz komprimata kompozita i fizičkih smeša lekovite supstance sa modificovanim dijatomitima. Na osnovu vrednosti n eksponenta *Korsmeyer–Peppas*-ovog modela, može se pretpostaviti da je mehanizam oslobađanja ibuprofena iz komprimata sa modificovanim dijatomitima nepravilni transport.

U trećem delu prikazani su rezultati *in vivo* bioloških testova koji su imali za cilj procenu neškodljivosti dobijenih modificovanih dijatomita, kao i procenu intenziteta i dužine trajanja antihiperalgezijskog/antiedematoznog dejstva model supstance iz kompozita i fizičkih smeša modificovani dijatomit-lekovita supstanca. Rezultati ispitivanja neškodljivosti ukazali su na bezbednost primene modificovanih dijatomita u svojstvu potencijalnih nosača lekovitih supstanci. Kompozit i fizička smeša ibuprofena sa modificovanim kolubarskim dijatomitom, ostvarili su veću efikasnost u odnosu na ekvivalentne doze čistog ibuprofena u suprimiranju bola kao manifestacije zapaljenja u pacova. Antiedematozno dejstvo pomenutih kompozita i fizičke

smeše bilo je poredbeno efektima ibuprofena. Modifikovani dijatomit, kao potencijalni nosač za lekovite supstance, kao i način pripreme nosača sa lekovitom supstancom, nisu uticali značajno na produženje dejstva ibuprofena, iako je u *in vitro* uslovima pokazano produženo oslobađanje aktivne supstance.

C. UPOREDNA ANALIZA REZULTATA SA PODACIMA IZ LITERATURE

Morfologije frustula tržišno dostupnog (peruanskog) i prečišćenog kolubarskog dijatomita znatno se razlikuju međusobno, kao i u odnosu na prečišćen australijski dijatomit (Aw i sar., 2011; Bariana i sar., 2013). Visok sadržaj silicijuma i kiseonika (odnosno silicijum-dioksida) u uzorcima polaznih dijatomita u skladu je sa nalazima Losic i sar. (2010), koji za australijski dijatomit navode da je sadržaj silicijum-dioksida veći od 95%. Fizičko-hemijska karakterizacija peruanskog i prečišćenog kolubarskog dijatomita ukazala je na razlike u: raspodeli veličina čestica, specifičnoj površini i zapremini pora u odnosu na prečišćen australijski dijatomit (Aw i sar., 2012) i prečišćen tržišno dostupan dijatomit Fossil Shell Flour® (Zhang i sar., 2013). Vrednosti zeta potencijala polaznih dijatomita bile su slične vrednosti zeta potencijala prečišćenog tržišno dostupnog dijatomita (Zhang i sar., 2013). Konverzija negativnog naelektrisanja dijatomita u pozitivnu vrednost kod modifikovanog kolubarskog dijatomita usled bolje pokrivenosti supstancom za modifikaciju u skladu je sa nalazima Zhang i sar. (2011). Prisustvo dijatomejskog silicijum-dioksida u polaznim dijatomitima potvrđeno je FTIR analizom na osnovu karakterističnih traka (Ilia i sar., 2009; Gulturk i Guden, 2011). Na prisustvo onečišćenja tipa glina u peruanskom dijatomitu ukazala je karakteristična traka (Madejova i Komadel, 2001; Ilia i sar., 2009), dok su onečišćenja u prečišćenom kolubarskom dijatomitu (kvarc i dehidroksilovan ilit - mineralni sastav uzorka prikazan u radu Janićijević i sar., 2015) pokazala karakteristične trake (Jiang i sar., 2008; Oumabady Alias Cannane i sar., 2013) u istom regionu kao i silicijum-dioksid, te usled prepokrivanja nisu uočene FTIR analizom. Trake delimično neutralisanog aluminijum-sulfata tumačene su na osnovu analogije sa pojedinim jedinjenjima aluminijuma (Garcia-Gonzales i sar., 2000; Bhattacharya i sar., 2004). Primenjeni postupak modifikacije ne dovodi do promene strukture dijatomita, što je u skladu sa nalazima Zhang i sar. (2011), koji su pokazali da modifikacija dijatomita aluminijum-oksdom ne dovodi do promene strukture. Termalno ponašanje peruanskog i prečišćenog kolubarskog dijatomita u skladu je sa termalnim ponašanjem dijatomejskog silicijum-dioksida, kao i prisutnih onečišćenja (Ilia i sar., 2009; Földvári, 2011), dok je termalno ponašanje delimično neutralisanog aluminijum-sulfata tumačeno na osnovu analogije sa termalnim ponašanjem jedinjenja sličnog sastava (Bhattacharya i sar., 2004; Jiménez-Becerril i sar., 2011). Adsorpciju diklofenak-natrijuma na peruanski, prečišćen kolubarski i australijski dijatomit bolje je opisivao *Freundlich*-ov nego *Langmuir*-ov model izoterme i na osnovu vrednosti parametra *Freundlich*-ovog modela $1/n$ zaključeno je da je u datom slučaju adsorpcija otežana/nepovoljna (Aivalioti i sar., 2010; Kaur i Datta, 2014). Znatno veće vrednosti maksimalnog kapaciteta adsorpcije u monosloju opisane su u literaturi za adsorpciju tetraciklina na dijatomit i lantanom modifikovani dijatomit (Chao i sar., 2014; Li i sar., 2015) u odnosu na dobijene vrednosti kapaciteta adsorpcije diklofenak-natrijuma na ispitivane dijatomite. Navedeno se može objasniti činjenicom da je adsorpcija na dijatomit i lantanom modifikovani dijatomit ispitivana iz rastvora tetraciklina čiji je pH takav da su pri toj vrednosti tetraciklini prisutni u obliku cviterjona, usled čega je njihova elektrostatika interakcija sa negativno naelektrisanim česticama dijatomita povoljnija nego u

slučaju diklofenak anjona. Međutim, u literaturi su opisani primeri dobijanja visokog kapaciteta adsorpcije/vezivanja diklofenak-natrijuma i ibuprofena interkalacijom u montmorilonit (Kaur i Datta, 2014), ali ove vrednosti nisu reprodukovane u uslovima ispitivanja adsorpcije pomenutih supstanci na bentonit farmakopejskog kavaliteta. Kinetiku adsorpcije diklofenak-natrijuma i ibuprofena na modifikovane peruanske i modifikovani kolubarski diatomit najbolje opisuje model kinetike pseudo-drugog reda, usled čega se pretpostavlja da se u datim sistemima odvija hemisorpcija (Al-Ghouti i sar., 2005; Al-Qodah i sar., 2007). Takođe, adsorpciju diklofenak-natrijuma i ibuprofena na modifikovane diatomite bolje opisuje *Langmuir*-ov nego *Freundlich*-ov model što ukazuje da se lekovite supstance adsorbuju u monosloju na energetski homogenu površinu modifikovanih diatomita (Foo i Hameed, 2010; Chao i sar., 2014). U odnosu na FTIR spektar čistog diklofenak-natrijuma, u FTIR spektrima modifikovanih diatomita nakon adsorpcije diklofenak-natrijuma došlo je do pomeranja/pojave novih traka/pikova. Pošto je u literaturi opisana mogućnost građenja kompleksa diklofenaka sa jonima metala (El-Megharbel i sar., 2015; Tabrizi i sar., 2015) pretpostavilo se da tokom adsorpcije diklofenak-natrijuma na modifikovane diatomite može doći do koordinativnog vezivanja karboksilatne grupe diklofenaka za aluminijum jone na površini čestica modifikovanih diatomita. Međutim, pregledom literaturnih podataka različitih oblika diklofenaka (Palomo i sar., 1999; Baena Aristizábal i sar., 2011) utvrđeno je slaganje novih pikova sa onim karakterističnim za diklofenak kiselinu. Ibuprofen se takođe adsorbuje u kiselom obliku na modifikovane diatomite što potvrđuje karakteristična traka FTIR spektra (Bannach i sar., 2010). Međutim, uočene su nove trake u FTIR spektrima modifikovanih diatomita nakon adsorpcije ibuprofena i one su pripisane istezanju karboksilata iz površinskog kompleksa ibuprofena sa aluminijum jonima. Naime, poznato je i da ibuprofen može da gradi komplekse sa jonima metala (Palacios-Hernández i sar., 2013; Silva i sar., 2013; Gállico i sar., 2014). Takođe, pojava nove trake u skladu je sa nalazima Mallick i sar. (2008) i Andini i sar. (2012), što potvrđuje interakciju ibuprofena sa delimično neutralisanim aluminijum-sulfatom iz modifikovanih diatomita. Za razliku od pomenutih autora koji navode da je interakcija ibuprofena sa aluminijum-hidroksidom kiselo-bazna reakcija uz građenje soli, pojava nova trake pripisana je karboksilatu iz površinskog kompleksa, zbog prethodno navedene mogućnosti građenja kompleksa. Termalna analiza modifikovanih diatomita nakon adsorpcije diklofenak-natrijuma i ibuprofena pokazala je da se termalno ponašanje supstanci na nosaču značajno razlikuje od termalnog ponašanja čistih supstanci (diklofenak-natrijuma i diklofenak kiseline - Llinàs i sar., 2007; Giordano i sar., 2003; ibuprofena i ibuprofen-natrijuma - Tita i sar., 2013; Grochowicz i Kierys, 2015) što je posledica interakcije lekovite supstance sa nosačem. Poboljšanje termalne stabilnosti ibuprofena vezanog za nosač takođe je opisano u literaturi (Lu i sar., 2013).

Oslobađanje diklofenak-natrijuma iz komprimata kompozita i fizičkih smeša bilo je produženo (Janićijević i sar., 2014; Janićijević i sar., 2015). Poznato je da fosfati pokazuju afinitet ka aluminijum-(hidr)oksidu (Del Nero i sar., 2010), pa je očekivan uticaj fosfatnih anjona na oslobađanje diklofenak-natrijuma sa diatomita modifikovanih delimično neutralisanim aluminijum-sulfatom. Na osnovu literaturnih podataka koji opisuju uticaj fosfata na adsorpciju/desorpciju jedinjenja koja sadrže karboksilne grupe (Guan i sar., 2006; Schefe i sar., 2009) očekivano je veće oslobađanje diklofenak-natrijuma iz kompozita i iz fizičkih smeša na pH 6,8 nego na pH 7,5, međutim dobijeni rezultati su ukazali na drugačiji uticaj pH vrednosti. *Korsmeyer–Peppas*-ov model najbolje opisuje oslobađanje diklofenak-natrijuma i ibuprofena iz komprimata kompozita i fizičkih smeša što ukazuje da ne-Fikova difuzija predstavlja dominantan mehanizam oslobađanja lekovitih supstanci iz komprimata (Costa i Lobo, 2001).

Potencijalna bezbednost dijatomita u biomedicinskoj primeni potkrepljena je rezultatima *in vitro* ispitivanja citotoksičnosti dijatomita na ćelijskim linijama kancera kolona Caco-2, HT-29 i HCT-116 (Zhang i sar., 2013). Dodatno, u korist bezbednosti primene dijatomita modifikovanih delimično neutralisanim aluminijum-sulfatom govore i podaci da se aluminijum-sulfati nalaze na Listi aditiva odobrenih za upotrebu u hrani (Službeni glasnik RS broj 63/2013). U *in vitro* uslovima pokazano je da nosači na bazi dijatomita povećavaju kapacitet vezivanja, permeabilnost i produžavaju oslobađanje pojedinih lekovitih supstanci (Aw i sar., 2011; Zhang i sar., 2013; Janićijević i sar., 2015), ali dijatomiti kao nosači za modifikovano oslobađanje lekovitih supstanci nisu do sada ispitivani u *in vivo* uslovima. Pokazano je da kompozit i fizička smeša ibuprofena sa modifikovanim kolubarskim dijatomitom ostvaruju veću efikasnost u odnosu na ekvivalentne doze čistog ibuprofena u suprimiranju bola kao manifestacije zapaljenja u pacova. Nedavno je pokazano da zeolit, prirodni adsorpcioni nosač potencira dejstvo diklofenaka, ali zeolit za razliku od dijatomita pokazuje izvesnu intrizičku aktivnost (Krajišnik i sar., 2014). U literaturi postoje podaci o poboljšanoj efikasnosti nesteroidnih antiinflamatornih lekova od strane sintetskih adsorpcionih nosača u animalnim modelima bola (Shah i sar., 2006, Nguyen i sar., 2013). Međutim, kako rezultati FTIR analize kompozita ukazuju na stvaranje kompleksa ibuprofena sa jonima aluminijuma na površini modifikovanog dijatomita, a postoje podaci da kompleksi nesteroidnih antiinflamatornih lekova sa metalnim jonima pokazuju uporedivu ili veću antiinflamatornu aktivnost u odnosu na čiste supstance (Andrade i sar., 2000), pretpostavlja se da kompleks ibuprofena sa aluminijumom može dovesti do potencijacije analgetičkog dejstva lekovite supstance. Dužine trajanja dejstva ibuprofena, kompozita i fizičke smeše ibuprofena sa modifikovanim dijatomitom upoređivane su posredstvom nagiba krivih odnosa maksimalnog antihiperlgezijskog (%AH)/antiedematoznog (%AE) efekta i Δ PIK, koji je merilo dužine trajanja dejstva lekova (Tomić i sar., 2010). Pokazano je da ne postoji statistički značajna razlika u dužinu trajanja antihiperlgezijskog i antiedematoznog dejstva između svih ispitivanih tretmana.

Literatura:

- Aivalioti M, Vamvasakis I, Gidarakos E, 2010. BTEX and MTBE adsorption onto raw and thermally modified diatomite. J. Hazard. Mater. 178, 136-143.
- Al-Ghouti M, Khraisheh MAM, Ahmad MNM, Allen S, 2005. Thermodynamic behavior and the effect of temperature on the removal of dyes from aqueous solution using modified diatomite: a kinetic study. J. Colloid Interf. Sci. 287, 6-13.
- Al-Qodah Z, Lafi WK, Al-Anber Z, Al-Shannag M, Harahsheh A, 2007. Adsorption of methylene blue by acid and heat treated diatomaceous silica. Desalination 217, 212-224.
- Andini S, Bolognese A, Formisano D, Manfra M, Montagnaro F, Santoro L, 2012. Mechanochemistry of ibuprofen pharmaceutical. Chemosphere 88, 548-553.
- Andrade A, Namora SF, Woisky RG, Wiesel G, Najjar R, Sertié JAA, de Oliveira Silva D, 2000. Synthesis and characterization of a diruthenium-ibuprofenato complex Comparing its anti-inflammatory activity with that of a copper(II)-ibuprofenato complex. J. Inorg. Biochem. 81, 23-27.

- Aw MS, Simovic S, Addai-Mensah J, Losic D, 2011. Silica microcapsules from diatoms as new carrier for delivery of therapeutics. *Nanomedicine* 6, 1159-1173.
- Aw MS, Simovic S, Yu Y, Addai-Mensah J, Losic D, 2012. Porous silica microshells from diatoms as biocarrier for drug delivery applications. *Powder Technol.* 223, 52-58.
- Baena Aristizábal Y, Manzo RH, Ponce d'Leon Quiroga LF, 2011. Preparation and physicochemical characterization of some polyelectrolyte-diclofenac complexes. *Vitae* 18, 305-311.
- Bannach G, Arcaro R, Ferroni DC, Siqueira AB, Treu-Filho O, Ionashiro M, Schnitzler E, 2010. Thermoanalytical study of some anti-inflammatory analgesic agents. *J. Therm. Anal. Calorim.* 102,163-170.
- Bariana M, Aw MS, Kurkuri M, Losic D, 2013. Tuning drug loading and release properties of diatom silica microparticles by surface modifications. *Int. J. Pharm.* 443, 230-241.
- Bhattacharya IN, Gochhayat PK, Mukherjee PS, Paulb S, Mitra PK, 2004. Thermal decomposition of precipitated low bulk density basic aluminium sulfate. *Mater. Chem. Phys.* 88, 32-40.
- Chao Y, Zhu W, Chen F, Wang P, Da Z, Wu X, Ji H, Yan S, Li H, 2014. Commercial Diatomite for Adsorption of Tetracycline Antibiotic from Aqueous Solution. *Separ. Sci. Technol.* 49, 2221-2227.
- Costa P, Lobo JMS, 2001. Modeling and comparison of dissolution profiles. *Eur. J. Pharm. Sci.* 13, 123-133.
- Del Nero M, Galindo C, Barillon R, Halter E, Madé B, 2010. Surface reactivity of α -Al₂O₃ and mechanisms of phosphate sorption: In situ ATR-FTIR spectroscopy and ζ potential studies. *J. Colloid Interf. Sci.* 342, 437-444.
- El-Megharbel SM, Hamza RZ, Refat MS, 2015. Synthesis, spectroscopic and thermal studies of Mg(II), Ca(II), Sr(II) and Ba(II) diclofenac sodium complexes as anti-inflammatory drug and their protective effects on renal functions impairment and oxidative stress. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 135, 915-928.
- Földvári M, 2011. Handbook of thermogravimetric system of minerals and its use in geological practice. Geological Institute of Hungary, Budapest.
- Foo KY, Hameed BH, 2010. Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. *Chem. Eng. J.* 156, 2-10.
- Gálico DA, Holanda BBC, Guerra RB, Legendre AO, Rinaldo D, Treu-Filho O, Bannach G, 2014. Thermal and spectroscopic studies on solid ibuprofen complexes of lighter trivalent lanthanides. *Thermochim. Acta* 575, 226-232.
- Garcia-Gonzales MT, Vizcayno C, Cortabitarte J, 2000. Effect of kaolinite and sulfate on the formation of hydroxy-aluminum compounds. *Clay Clay Miner.* 48, 85-94.

- Giordano F, Rossi A, Pasquali I, Bettini R, Frigo E, Gazzaniga A, Sangalli ME, Mileo V, Cattinella S, 2003. Thermal degradation and melting point determination of diclofenac. *J. Therm. Anal. Calorim.* 73, 509-518.
- Grochowicz M, Kierys A, 2015. Thermal characterization of polymer-silica composites loaded with ibuprofen sodium salt. *J. Anal. Appl. Pyrol.* 114, 91-99.
- Guan XH, Shang C, Chen GH, 2006. Competitive adsorption of organic matter with phosphate on aluminum hydroxide. *J. Colloid Interf. Sci.* 296, 51-58.
- Gulturk E, Guden M, 2011. Thermal and acid treatment of diatom frustules. *J. Achiev. Mater. Manuf. Eng.* 46, 196-203.
- Ilia IK, Stamatakis MG, Perraki TS, 2009. Mineralogy and technical properties of clayey diatomites from north and central Greece. *Cent. Eur. J. Geosci.* 1, 393-403.
- Janićijević J, Krajišnik D, Čalija B, Dobričić V, Daković A, Krstić J, Marković M, Milić J, 2014. Inorganically modified diatomite as a potential prolonged-release drug carrier. *Mater. Sci. Eng. C* 42, 412-420.
- Janićijević J, Krajišnik D, Čalija B, Nedić Vasiljević B, Dobričić V, Daković A, Antonijević MD, Milić J, 2015. Modified local diatomite as potential functional drug carrier—A model study for diclofenac sodium. *Int. J. Pharm.* 496, 466-474.
- Jiang T, Li G, Qiu G, Fan X, Huang Z, 2008. Thermal activation and alkali dissolution of silicon from illite. *Appl. Clay Sci.* 40, 81-89.
- Jiménez-Becerril J, García-Sosa I, Rivero IA, 2011. Synthesis of basic aluminum sulfate assisted by microwave heating. *Ceram. Int.* 37, 3627-3630.
- Kaur M, Datta M, 2014. Diclofenac Sodium Adsorption onto Montmorillonite: Adsorption Equilibrium Studies and Drug Release Kinetics. *Adsorpt. Sci. Technol.* 32, 365-387.
- Krajišnik D, Stepanović-Petrović R, Tomić M, Micov A, Ibrić S, Milić J, 2014. Application of artificial neural networks in prediction of diclofenac sodium release from drug-modified zeolites physical mixtures and antiedematous activity assessment. *J. Pharm. Sci.* 103, 1085-1094.
- Li G, Feng Y, Zhu W, Zhang X, 2015. Enhanced adsorptive performance of tetracycline antibiotics on lanthanum modified diatomite. *Korean J. Chem. Eng.* 32, 2109-2115.
- Llinàs A, Burley JC, Box KJ, Glen RC, Goodman JM, 2007. Diclofenac Solubility: Independent Determination of the Intrinsic Solubility of Three Crystal Forms. *J. Med. Chem.* 50, 979-983.
- Losic D, Yu Y, Aw MS, Simovic S, Thierry B, Addai-Mensah J, 2010. Surface functionalisation of diatoms with dopamine modified iron-oxide nanoparticles: toward magnetically guided drug microcarriers with biologically derived morphologies. *Chem. Commun.* 46, 6323-6325.
- Lu X, Meng L, Li H, Du N, Zhang R, Hou W, 2013. Facile fabrication of ibuprofen-LDH nanohybrids via a delamination/reassembling process. *Mater. Res. Bull.* 48, 1512-1517.

Madejova J, Komadel P, 2001. Baseline studies of the clay minerals society source clays: Infrared methods. *Clay Clay Miner.* 49, 410-432.

Mallick S, Pattnaik S, Swain K, 2008. Physicochemical Characterization of Interaction of Ibuprofen by Solid-State Milling with Aluminum Hydroxide. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 34,726-734.

Nguyen TH, Tan A, Santos L, Ngo D, Edwards GA, Porter CJ, Prestidge CA, Boyd BJ, 2013. Silica-lipid hybrid (SLH) formulations enhance the oral bioavailability and efficacy of celecoxib: An in vivo evaluation. *J. Control. Release.* 167,85-91.

Oumabady Alias Cannane N, Rajendran M, Selvaraju R, 2013. FT-IR spectral studies on polluted soils from industrial area at Karaikal, Puducherry State, South India. *Spectrochim. Acta A* 110, 46-54.

Palacios-Hernández TJ, Vásquez-Arciga H, Pérez-Benítez A, Bernès S, Höpfl H, González-Vergara E, Méndez-Rojas MA, 2013. Hemidirected one-dimensional lead(II) coordination polymers containing NSAIDs as ligands: Spectroscopic and structural characterization of $[\text{Pb}(\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_4)_2(\text{H}_2\text{O})]_n$, $[\text{Pb}(\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{O}_2)_2(\text{H}_2\text{O})]_n$ and $[\text{Pb}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{NO})_2]_n$. *Polyhedron* 52, 848-855.

Palomo ME, Ballesteros MP, Frutos P, 1999. Analysis of diclofenac sodium and derivatives. *J. Pharmaceut. Biomed.* 21, 83-94.

Park JH, Shin HJ, Kim MH, Kim JS, Kang N, Lee JY, Kim KT, Lee JI, Kim DD, 2016. Application of montmorillonite in bentonite as a pharmaceutical excipient in drug delivery systems. *J. Pharm. Investig.* 46, 363-375.

Scheffe CR, Kappen P, Zuin L, Pigram PJ, Christensen C, 2009. Addition of carboxylic acids modifies phosphate sorption on soil and boehmite surfaces: A solution chemistry and XANES spectroscopy study. *J. Colloid Interf. Sci.* 330, 51-59.

Shah MH, Biradar SV, Paradkar AR, 2006. Spray dried glyceryl monooleate-magnesium trisilicate dry powder as cubic phase precursor. *Int. J. Pharm.* 323, 18-26.

Silva IMP, Profirio DM, de Paiva REF, Lancellotti M, Formiga ALB, Corbi PP, 2013. A silver complex with ibuprofen: Synthesis, solid state characterization, DFT calculations and antibacterial assays. *J. Mol. Struct.* 1049, 1-6.

Službeni glasnik Republike Srbije broj 63/2013. JP „Službeni glasnik“, Beograd.

Tabrizi L, Chiniforoshan H, McArdle P, 2015. Synthesis, crystal structure and spectroscopy of bioactive Cd(II) polymeric complex of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac sodium: Antiproliferative and biological activity. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 136, 429-436.

Tita B, Jurca T, Rusu G, Bandur G, Tita D, 2013. Thermal Behaviour of Active Substance Versus Pharmaceutical Compounds for Ibuprofen. *Rev. Chim.* 64, 1089-1095.

Tomić MA, Vučković SM, Stepanović-Petrović RM, Ugrešić ND, Prostran MS, Bošković B, 2010. Synergistic interactions between paracetamol and oxcarbazepine in somatic and visceral pain models in rodents. *Anesth. Analg.* 110, 1198-1205.

Zhang H, Shahbazi MA, Mäkilä EM, da Silva TH, Reis RL, Salonen JJ, Hirvonen JT, Santos HA, 2013. Diatom silica microparticles for sustained release and permeation enhancement following oral delivery of prednisone and mesalamine. *Biomaterials* 34, 9210-9219.

Zhang Y, Zhang C, Zhang Y, Zhang G, Liu S, Xu Z, 2011. Development of Al₂O₃ film on diatomite for treating wastewater containing anionic polyacrylamide. *Chem. Eng. Technol.* 34, 2016-2021.

D. OBJAVLJENI I SAOPŠTENI REZULTATI KOJI ČINE DEO DOKTORSKE DISERTACIJE

Radovi objavljeni u međunarodnom časopisu

Rad objavljen u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21):

Janićijević J, Krajišnik D, Čalija B, Nedić Vasiljević B, Dobričić V, Daković A, Antonijević MD, Milić J, 2015. Modified local diatomite as potential functional drug carrier—A model study for diclofenac sodium. *Int. J. Pharm.* 496, 466-474.

Rad objavljen u istaknutom međunarodnom časopisu (M22):

Janićijević J, Krajišnik D, Čalija B, Dobričić V, Daković A, Krstić J, Marković M, Milić J, 2014. Inorganically modified diatomite as a potential prolonged-release drug carrier. *Mater. Sci. Eng. C* 42, 412-420.

Saopštenja sa međunarodnih skupova

Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u celini (M33):

Janićijević J, Krajišnik D, Čalija B, Dobričić V, Milić J. Inorganic modification of diatomite as an approach for functionality improvement of a potential pharmaceutical excipient. 10th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology, Portorož, 2014; *Farmaceutski Vestnik* 65, 129-130.

Janićijević J, Krajišnik D, Čalija B, Dobričić V, Milić J. An investigation of interaction between ibuprofen and modified diatomite: potential drug carrier. 1st European Conference on Pharmaceutics Drug Delivery, Reims, France, 2015; Abstract book USB.

Janićijević J, Krajišnik D, Čalija B, Dobričić V, Todosijević M, Milić J. Modified food grade diatomite as potential functional pharmaceutical excipient for nonsteroidal antiinflammatory drugs. 10th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Glasgow, Scotland, 2016; USB.

Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u izvodu (M34):

Janićijević J, Krajišnik D, Čalija B, Rajić M, Milić J. An investigation of natural and modified diatomite as potential carriers for diclofenac sodium. FIP Centennial Congress of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Amsterdam, the Netherlands, 2012; CD ROM Abstract book.

Janićijević J, Krajišnik D, Čalija B, Dobričić V, Ristić S, Milić J. Modified diatomaceous earth as a potential carrier for prolonged release of diclofenac sodium. Advanced Materials World Congress, Izmir, Turkey, 2013; Peer reviewed book pp. 135-136.

Janićijević J, Krajišnik D, Čalija B, Dobričić V, Milić J. An investigation of inorganically-modified diatomaceous earth as potential pharmaceutical excipient. 3rd Conference on Innovation in Drug Delivery, Pisa, Italy, 2013; Program and Abstracts, p. 118.

Janićijević J, Krajišnik D, Čalija B, Milić J. An investigation of surfactant modified diatomaceous earth and natural zeolite as potential pharmaceutical excipients. II Congress of Pharmacists of Montenegro with the International Participation, Budva, Crna Gora, 2015; Abstract book pp. 221-222.

Saopštenja sa nacionalnih skupova

Saopštenja sa skupova nacionalnog značaja štampana u izvodu (M64):

Krajišnik D, Daković A, **Janićijević J**, Milić J. Ispitivanje prirodnih i modifikovanih alumosilikata kao potencijalnih farmaceutskih ekscipijenasa. 50. jubilarno savetovanje Srpskog hemijskog društva, Beograd, Srbija, 2012; Program i kratki izvodi radova, MAT P7.

Janićijević J, Krajišnik D, Čalija B, Dobričić V, Milić J. Neorganski modifikovani diatomit kao mogući nosač za isporuku ibuprofena. VI Kongres farmaceuta Srbije sa međunarodnim učešćem, Beograd, Srbija, 2014; Zbornik sažetaka, pp. 385-387.

E. ZAKLJUČAK - OBRAZLOŽENJE NAUČNOG DOPRINOSA DISERTACIJE

Predmet proučavanja doktorske disertacije bili su porozni silikatni materijali dijatomit, sa stanovišta farmaceutske primene. Zahvaljujući biokompatibilnosti, visokom porozitetu i adsorpcionom kapacitetu, velikoj specifičnoj površini, inertnosti, ali i mogućnosti modifikacije površine, dijatomit je prepoznat kao potencijalni farmaceutski ekscipijens za modifikovano oslobađanje lekovitih supstanci.

Kao polazni materijali korišćeni su komercijalno dostupan peruanski dijatomit stepena čistoće za prehrambenu upotrebu i prečišćeni dijatomit iz lokalnog nalazišta (kolubarski dijatomit, poreklo - rudno jalovište kolubarskog basena uglja) koji do sada nisu opisivani u literaturi sa stanovišta farmaceutske primene. U cilju dobijanja materijala odgovarajućih funkcionalnosti/poboljšanih fizičko-hemijskih osobina ispitivana je i mogućnost modifikacije dijatomita neorganskim jedinjenjem (delimično neutralisani aluminijum-sulfat).

Rezultati karakterizacije uzoraka polaznih materijala ukazali su na međusobne razlike u: morfologiji, raspodeli veličina i specifičnoj površini čestica. Određivanjem i analizom adsorpcionih izoterma procenjena je interakcija polaznih materijala sa model lekovitim supstancama diklofenak-natrijumom i ibuprofenom. Pokazano je da je adsorpcija ibuprofena i diklofenak-natrijuma na ispitivane materijale, bila zanemarljiva. Postupak modifikacije polaznih materijala sproveden je taloženjem proizvoda delimične neutralizacije aluminijum-sulfata u suspenziji dijatomita. Procena uticaja modifikacije na svojstva polaznih materijala izvršena je na osnovu rezultata fizičko-hemijske karakterizacije modifikovanih dijatomita. Dobijeni rezultati su ukazali da je modifikacija dijatomita dovela do: značajnog povećanja zapreminskog srednjeg prečnika čestica (usled ukрупnjavanja), značajne promene zeta potencijala čestica usled površinskih promena, smanjenja specifične površine, povećanja nasipne i tapkane gustine i poboljšanja protočnosti. Ispitivanjem stabilnosti ispitivanih dijatomita na oslobađanje/spiranje aluminijumovog jona u medijumima različite pH vrednosti (0,1 M HCl i fosfatnim puferima pH 6,8 i 7,4) utvrđeno je da je spiranje bilo neznatno (do 2% ukupnog aluminijuma u fosfatnim puferima), odnosno do 15% u kiselj sredini i da su navedene količine oslobođenog aluminijuma bile manje od literaturno navedenih vrednosti za nivo izloženosti aluminijumu najmanjeg rizika po zdravlje ljudi.

Adsorpcija diklofenak-natrijuma, kao i ibuprofena, na modifikovane dijatomite procenjena je određivanjem adsorpcionih izoterma. Pokazano je da neorganska modifikacija dijatomita značajno povećava kapacitet adsorpcije ovih materijala za model supstance, što omogućava primenu adsorpcije kao postupka vezivanja lekovite supstance na ove potencijalne funkcionalne nosače. Ispitivanjima brzine rastvaranja model lekovitih supstanci iz komprimata kompozita (koji sadrže model supstancu adsorbovanu na modifikovani dijatomit) i komprimata fizičke smeše istog sadržaja model supstance i modifikovanog dijatomita, pokazano je da nezavisno od pH vrednosti medijuma za ispitivanje (fosfatni pufer pH 6,8 i pH 7,5), kao i vrste dijatomita koji je korišćen za pripremu nosača (peruanski ili kolubarski), komprimati koji sadrže diklofenak-natrijuma adsorbovan na nosač ili njihovu fizičku smešu produženo oslobađaju lekovitu supstancu u toku 8 sati. Oslobađanje ibuprofena iz ispitivanih nosača (medijum: fosfatni pufer pH 7,2) bilo je takođe produženo u toku 12 sati.

Ispitivanje neškodljivosti pokazalo je da se ne javljaju toksične reakcije niti uginuća životinja nakon peroralne primene polaznih i modifikovanih dijatomita, što pruža osnov za dalje

istraživanja navedenih materijala kao potencijalnih nosača lekovitih supstanci u farmaceutskim oblicima. Rezultati ispitivanja analgetičke/antiedematozne aktivnosti kompozita i fizičkih smeša lekovita supstanca (ibuprofen)-modifikovani diјatomit u modelu inflamatornog bola u pacova, pokazali su statistički znajano i dozno-zavisno antihiperalgezijsko i antiedematozno dejstvo. Kompozit i fizička smeša ostvarili su veću efikasnost u odnosu na ekvivalentne doze čistog ibuprofena u suprimiranju bola kao manifestacije zapaljenja u pacova, uz uočenu značajnu razliku između kompozita i fizičke smeše u zavisnosti od primenjene doze leka. Pokazano je da je antiedematozno dejstvo bilo poredbeno efektima ibuprofena u slučaju oba ispitivana uzorka (kompozit i fizička smeša). Dobijeni rezultati *in vivo* farmakoloških ispitivanja uz prethodno pokazano produženo oslobađanje lekovite supstance *in vitro*, pružaju osnov za dalje ispitivanje prirodnih i modifikovanih diјatomita kao potencijalnih funkcionalnih materijala/ekscipijenasa za farmaceutsku primenu i mogućnost njihove primene u okviru unapređenja terapije inflamatornog bola.

F. PREDLOG KOMISIJE ZA OCENU ZAVRŠENE DOKTORSKE DISERTACIJE

Uvidom u rezultate završene disertacije, može se konstatovati da je kandidat uspešno ostvario postavljene ciljeve, što je potkrepljeno objavljivanjem rezultata disertacije u dva rada u relevantnim međunarodnim časopisima (*International Journal of Pharmaceutics* i *Materials Science and Engineering: C*).

Na osnovu svega izloženog može se zaključiti da je kandidat ispunio ciljeve postavljene u okviru doktorske disertacije pod nazivom „**Karakterizacija prirodnih i modifikovanih dijatomita kao potencijalnih funkcionalnih materijala/ekscipijenasa za farmaceutsku primenu**”, te predlažemo Nastavno-naučnom veću Farmaceutskog fakulteta da prihvati Izveštaj i omogući kandidatu dipl. farm. Jeleni Janićijević da pristupi odbrani doktorske disertacije.

Beograd, 04.11.2016.

Članovi Komisije

Dr Jela Milić, redovni profesor, mentor, predsednik komisije
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet

Dr Danina Krajišnik, docent, mentor
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

Dr Aleksandra Daković, naučni savetnik
Institut za tehnologiju nuklearnih
i drugih mineralnih sirovina

Dr Radica Stepanović-Petrović, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

Dr Bojan Čalija, docent
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet