

**NASTAVNO NAUČNOM VEĆU
TEHNOLOŠKO-METALURŠKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Predmet: Referat o urađenoj doktorskoj disertaciji kandidata Ivane Dinić, master inženjera tehnologije

Odlukom br. 35/362 od 20.09.2018. godine, imenovani smo za članove Komisije za pregled, ocenu i odbranu doktorske disertacije kandidata Ivane Dinić, master inženjera tehnologije pod naslovom

„Sinteza i karakterizacija biokompatibilnih optički aktivnih fluorida retkih zemalja“

Posle pregleda dostavljene Disertacije Komisija je sačinila sledeći

REFERAT

1. UVOD

1.1. Hronologija odobravanja i izrade disertacije

Školske 2012/13 godine kandidat Ivana Dinić, master inženjer tehnologije upisala je Doktorske akademske studije na Univerzitetu u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet, smer Biohemijско inženjerstvo i biotehnologija .

29.03.2016 kandidat Ivana Dinić, master inženjer tehnologije je prijavila temu doktorske disertacije pod nazivom: **„Sinteza i karakterizacija biokompatibilnih optički aktivnih fluorida retkih zemalja“**

14.04.2016. na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerziteta u Beogradu doneta je odluka (br. 35/164 od 14.04.2016) o imenovanju članova Komisije za ocenu podobnosti teme doktorske disertacije pod nazivom: **„Sinteza i karakterizacija biokompatibilnih optički aktivnih fluorida retkih zemalja“**

23.06.2016. na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerziteta u Beogradu doneta je odluka (br. 35/327 od 23.06.2016) o prihvatanju teme doktorske disertacije pod naslovom **„Sinteza i karakterizacija biokompatibilnih optički aktivnih fluorida retkih zemalja“**, a za mentore su imenovane dr Ljiljana Mojović, red. prof. i dr Lidija Mančić, naučni savetnik.

4.07.2016. Veće naučnih oblasti tehničkih nauka donosi odluku (br. 61206-3393/2-16) po kojoj daje saglasnost na predlog teme **„Sinteza i karakterizacija biokompatibilnih optički aktivnih fluorida retkih zemalja“** Ivana Dinić, master inženjera tehnologije.

20. 09.2018. Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta doneta je odluka (br. 35/362 od 20.09.2018) o imenovanju članova Komisije za ocenu i odbranu doktorske disertacije Ivane Dinić, master inženjera tehnologije pod nazivom: **„Sinteza i karakterizacija biokompatibilnih optički aktivnih fluorida retkih zemalja“**.

1.2. Naučna oblast disertacije

Istraživanja u okviru ove doktorske disertacije pripadaju naučnoj oblasti Tehnološko inženjerstvo i užoj naučnoj oblasti Biohemijско inženjerstvo i biotehnologija za koju je matičan Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu. Mentor dr Ljiljana Mojović, redovni profesor TMF-a, uža nučna oblast Biohemijско inženjerstvo i biotehnologija, je na osnovu zajedničkih radova sa kandidatom i radnog iskustva kompetentna da rukovodi izradom ove doktorske disertacije. Mentor dr Lidija Mančić, naučni savetnik Instituta tehničkih nauka SANU je na osnovu dosadašnjih radova u oblasti optički aktivnih nanomaterijala i zajedničkih radova iz oblasti biokompatibilnih nanomaterijala sa kandidatom kompetentna da ko-rukovodi izradom ove doktorske disertacije.

1.3 Biografski podaci o kandidatu

Kandidat Ivana (Zoran) Dinić je rođena 6.4.1987. godine u Zaječaru. Osnovnu i srednju medicinsku školu završila je u Zaječaru. Godine 2006. upisala je studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu, studijski program Hemijška tehnologija, studijsko područje Farmaceutско inženjerstvo. Diplomirala je 12.9.2011. sa završnim radom na temu „Uticaj jona bakra na difuziona svojstva bakar/poli(2-hidroksietil akrilat/itakonska kiselina) hibridnih hidrogelova“. Master akademske studije upisala je 2011. godine na studijskom programu Biohemijско inženjerstvo i biotehnologija, Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Odranom master rada sa temom „Optimizacija enzimske sinteze floridzil-oleata metodom odzivnih površina“ završila je master akademske studije 25.9.2012. sa prosečnom ocenom 8,88. Doktorske akademske studije upisala je školske 2012/2013 na istom fakultetu, smer Biohemijско inženjerstvo i biotehnologija. Završni ispit pod nazivom „Sinteza optički aktivnih čestica fluorida koje imaju potencijalnu primenu u biomedicini“ odbranila je u septembru 2014. godine sa ocenom 10, pred komisijom u sastavu: dr Ljiljana Mojović, red. prof., dr Đorđe Janačković, red.prof. i dr Radoslav Aleksić, red. prof. Kandidat Ivana Dinić je 19.04.2017. stekla zvanje istraživač saradnik u Institutu tehničkih nauka SANU, a od jula 2017. godine je zaposlena u Inovacionom centru Hemijškog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Angažovana je na projektu OI172035 (Racionalni dizajn i sinteza biološki aktivnih i koordinacionih jedinjenja i funkcionalnih materijala) Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja RS, u okviru kojeg je i uradjena ova doktorska disertacija u Institutu tehničkih nauka SANU. Član je Srpskog keramičkog društva i član organizacionog odbora međunarodne konferencije Advanced Ceramic and Application, koja se ove godine po sedmi put održava u Beogradu.

2. OPIS DISERTACIJE

2.1. Opis disertacije

Doktorska disertacija kandidata Ivane Dinić, master inženjera tehnologije pisana je na srpskom jeziku i sadrži 120 strana A4 formata, 83 slika, 12 tabela i 132 literaturnih navoda. Doktorska disertacija sadrži sledeća poglavlja: *Rezime* (na srpskom i engleskom jeziku), *Uvod*, *Teorijski deo* (Luminiscencija, Luminescentni centri, Materijali domaćini i pojam domaćina, Joni dopanti, Sinteza biokompatibilnih NaYF₄:Yb³⁺/Er³⁺ nanočestica, Biomarkeri), *Eksperimentalni deo* (Materijali i metode, Hemikalije koje su korišćene prilikom sinteze, Metode korišćene za karakterizaciju sintetisanog materijala), *Rezultati i diskusija*, *Zaključak*, *Publikacije proizašle iz doktorske disertacije*, *Literatura*, *Biografija* i *Prilozi*. Prilozi sadrže

izjavu o autorstvu, izjavu o istovetnosti štampane i elektronske verzije rada i izjavu o korišćenju.

2.2. Kratak prikaz pojedinačnih poglavlja

Uvodni deo sadrži kratak opis optički aktivnih nanočestica fluorida elemenata retkih zemalja, s posebnim osvrtom na „up“ i „down“ konvertore, kao i aktuelnost istraživanja biokompatibilnih „up“- konvertorskih nanočestica. U okviru ovog poglavlja definisani su predmet, ciljevi i značaj razvijanja/optimizacije *in situ* sinteze optički aktivnih fluorida na bazi elemenata retkih zemalja sa kontrolisanim morfološko-strukturnim svojstvima i biokompatibilnom površinom koji bi se mogli koristiti kao biomarkeri kancerskih ćelija. Kako je sinteza biomarkera veće osetljivosti uglavnom bazirana na selektivnoj funkcionalizaciji „up“- konvertorskih nanočestica višestepenim metodama koje uključuju i toksične reagense (cikloheksan, hloroform, trifluoroacetati), razvoj metoda koje bi koristile nove biokompatibilne agense (EDTA, PVP, PEG, PAA, hitozan ili PLGA) u procesu hidro/solvo-termalne sinteze omogućio bi nastajanje hidrofилnih i potencijalno netoksičnih „up“- konvertorskih nanočestica u jednom koraku.

U Teorijskom delu su u prvom poglavlju date definicije luminescencije (fluorescencije i fosforescencije), pregled savremenih luminescentnih materijala i mehanizama koji dovde do emisije svetlosti. U slučaju „down“-konvertora to su kaskadni mehanizam i kvantno sečenje, a u slučaju „up“- konvertora apsorpcija ekscitovanog stanja, prenos energije i lavina fotona. U drugom poglavlju Teorijskog dela pobrojani su luminescentni centri, prikazane su elektronske konfiguracije jona retkih zemalja sa dozvoljenim i nedozvoljenim elektronskim prelazima, dok su u trećem poglavlju opisani materijali domaćini, kao i strukturne karakteristike kubne i heksagonalne NaYF₄ faze. Pravilan izbor i koncentracija dopanata, u ovom slučaju aktivatora i senzitera, kao i karakteristike jednog od najefikasnijeg „up“- konvertorskog para, Yb³⁺/Er³⁺, date su u četvrtom poglavlju Teorijskog dela. U petom poglavlju je dat pregled metoda sinteze kao i morfološko-strukturne karakteristike biokompatibilnih „up“- konvertorskih (UC) NaYF₄:Yb³⁺/Er³⁺ mikro i nanočestica dobijenih metodama termičke dekompozicije organometalika, hidrotermalnom sintezom u prisustvu limunske kiseline, solvotermalnom sintezom u prisustvu oleinske kiseline, kao i hidro/solvo-termalnom sintezom iz neorganskih prekursora uz korišćenje helacionih agenasa i/ili polimera. Posebno su opisani helacioni agensi i polimeri koji su korišćeni u ovom radu, kao i njihov očekivani uticaj na kristalizaciju kubne, odnosno heksagonalne NaYF₄:Yb³⁺/Er³⁺ faze. U šestom poglavlju Teorijskog dela opisani su biomarkeri kancer ćelija koji se danas koriste, kao i njihovi nedostaci.

Eksperimentalni deo je organizovan u četiri celine. Prva i druga celina obuhvataju pregled materijala i metoda korišćenih za *in situ* sintezu biokompatibilnih optički aktivnih čestica sastava NaY_{0,8}Yb_{0,17}Er_{0,03}F₄. U trećoj je opisan hidro/solvo termalni tretman rastvora nitratnih soli elemenata retkih zemalja i NaF u prisustvu različitih agenasa za kontrolu nukleacije i rasta kristala, i to: EDTA, PEG, PVP, PAA, CS i PLGA. Izbor agenasa za kontrolu nukleacije i postizanje biokompatibilnosti izvršen je sa ciljem uvođenja određenih funkcionalnih grupa, i to: -COOH (EDTA), -NH₂ (PEG, CS), i -C=O (PVP, PLGA, PAA). Definisana je metodologija ispitivanja uticaja glavnih parametara procesiranja, vremena reakcije (τ), koncentracije prekursora (C) i tipa rastvarača na morfologiju čestica, dok je koncentracija elemenata retkih zemalja koji se dopiraju u strukturu NaYF₄ faze izabrana na osnovu literaturnih podataka. Tabelaono je data nomenklatura svih sintetisanih čestica u zavisnosti od korišćenog agenasa i procesnih parametara. U četvrtom delu su opisane metode

korišćene za karakterizaciju sintetisanih prahova, i to: difrakcija praha X-zracima (XRPD), skenirajuća elektronska mikroskopija u kombinaciji sa energetska disperzionom analizom X-zracima (SEM/EDAX), transmisiona i visokorezoluciona transmisiona elektronska mikroskopija (TEM/HRTEM), infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FTIR), dinamičko rasipanje svetlosti (DLS), merenje fotoluminescencije, vremena života i proračun hromatskih koordinata, fotoelektronska spektroskopija X-zracima (XPS), određivanje antimikrobne aktivnosti, merenje citotoksičnosti (MTT test) i vizuelizacija sintetisanih UC nanočestica u ćelijskim preparatima laser skenirajućom mikroskopijom. Vizualizacija UC čestica u ćelijskim preparatima, odnosno biomarkerska svojstva UC nanočestica ispitana su na zdravim gingivalnim ćelijama korena pulpe (eng. human gingival cell, HGC), kao i skvamoznim kancer ćelijama jezika (eng. oral squamous cell carcinoma, OSCC).

U okviru poglavlja Rezultati i diskusija prvih šest celina daju detaljan prikaz ostvarenih strukturno-morfoloških svojstva, kao i optičkih karakteristika čestica dobijeni pod uticajem prethodno navedenih agenasa za kontrolu nukleacije i rasta kristala, dok sedma celina daje njihov uporedni prikaz. Zaključeno je da kod UC-EDTA uzoraka smanjenje koncentracije prekursora i vremena sinteze, kao i primena etanola kao rastvarača, dovodi do stabilizacije kubne α - $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ faze, dok pri većim koncentracijama prekursora dolazi do kristalizacije heksagonalne β - $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ faze. Porast vremena reakcije i dodatni termički tretman poboljšava stepen kristaliničnosti sintetisanih čestica što direktno utiče na intenzitet i vreme života luminescencije. Korišćenje PVP-a i etilen glikola dovodi do stabilizacije kubne α - $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ faze u rastvorima sa nižom koncentracijom prekursora, dok uvođenje etanola ima za posledicu nastajanje polifaznih uzoraka koji izgrađuju nanočestice kubne i heksagonalne faze. Kod sistema sa PEG-om karakteristična je *in situ* nukleacija kubne faze koju prati veoma mali udeo heksagonalne faze (2%). Dodatni termički tretman nanočestica u argonu povećava udeo heksagonalne faze u česticama (48%), što ima za posledicu poboljšanje njihovog luminscentnog odziva u zelenom delu spektra, ali i neželjen porast neuniformnosti njihovog oblika i veličine (usled rasta kristala i međučestičnog sinterovanja). Kod praha dobijenog u prisustvu PAA utvrđeno je prisustvo čiste α - $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ faze u nanofolijama debljine ~ 6 nm i dužine/širine $\sim 10\mu\text{m}$ i emisija crvene svetlost nakon pobude na 970 nm. Uzorak dobijen u prisustvu hitozana karakteriše prisustvo neaglomerisanih monokristalnih sferičnih čestica α - $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ faze čija je veličina ispod 100 nm. Prisustvo amino grupa hitozana na površini čestica povećava njihovu hidrofilitnost i biokompatibilnost, a da pri tome ne smanjuje intenzitet „up“-konvertorske emisije u crvenom delu spektra. Uzorak dobijen u prisustvu PLGA predstavlja smešu kubne i heksagonalne $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ faze, pri čemu kubna faza preovlađuje u sistemu (85 wt%). Uzorak je sačinjen od sferičnih neaglomerisanih čestica veličine oko 100 nm. FTIR analizom je potvrđeno prisustvo PLGA funkcionalnih grupa na površini čestica, koje ne utiču značajno na intenzitet luminescencije, te je finalni svetlosni odziv čestica definisan (CIE 0,37 0,61) i lako ga je registrovati u zelenom delu spektra. Na osnovu svega navedenog, za dodatna ispitivanja biokompatibilnosti kao i moguću primenu sintetisanih UC nanočestica u vizuelizaciji ćelija izabrane su nanočestice sastava $\text{NaY}_{0,8}\text{Yb}_{0,17}\text{Er}_{0,03}\text{F}_4$ koje su sintetisane u prisustvu hitozana (uzorak UC-CS-5-EG) i poli(laktid-ko-glikolida), uzorak UC-PLGA-5-Ac. U osmoj celini poglavlja Rezultati i diskusija prikazano je određivanje hidrodinamičkog prečnika ovih čestica i potvrda stabilnosti njihovih koloidnih rastvora tokom vremena (do 24h), što je od velike važnosti sa stanovišta njihove biološke primene. U devetoj celini su ispitivana njihova antimikrobna svojstva prema Gram-negativnoj bakteriji *Escherichia coli*, Gram-pozitivnoj bakteriji *Staphylococcus aureus* i gljivici *Candida albicans*, koristeći disk-difuzioni metod. Ova ispitivanja su pokazala da UC nanočestice ne poseduju antimikrobnu aktivnost.

Biokompatibilnost čestica, odnosno citotoksičnost je ispitana MTT testom na zdravim HGC i kancerskim OSCC ćelijama u okviru desete celine. Nakon 24 h inkubacije pokazano je da je stepen preživljavanja HGC veći od 88% u čitavom opsegu ispitanih koncentracija nanočestica, dok s povećanjem koncentracije UC nanočestica stepen preživljavanja OSCC ćelija opada na 60%. Ovi rezultati ukazuju na moguće citostatičko delovanje sintetisanih UC nanočestica u koncentracijama većim od 50 $\mu\text{m}/\text{ml}$. Uspešna vizuelizacija OSCC i HGC ćelija obeleženih UC-CS-5-EG i UC-PLGA-5-Ac korišćenjem lasera talasne dužine 980 nm slabog intenziteta (do 9 mW) i detekcija UC nanočestica u citoplazmi ćelija data je u okviru jedanaeste celine, potvrđujući njihovu nespecifičnu internalizaciju. U cilju ispitivanja mogućnosti dodatne modifikacije UC čestica izabranim antigenom (koji bi dalje omogućio selektivnu internalizaciju ovih čestica, odnosno vizuelizaciju određenog tipa ćelija), u okviru dvanaeste celine urađena je i dodatna analiza UC-CS-5-EG nanočestica XPS analizom. Ovom analizom je pokazano da je samo polovina terminalnih amino grupa hitozana kovalentno vezana za površinu UC nanočestica dok je prostala polovina slobodna za dalju interakciju sa antigenima, što otvara mogućnost za dodatna istraživanja koja bi išla u pravcu selektivne vizuelizacije kancer ćelija radi njihove detekcije i ciljanog lečenja.

U Zaključku su ukratko sumirani svi dobijeni rezultati i iznet je njihov značaj za dalji razvoj i primenu biokompatibilnih optički aktivnih fluorida retkih zemalja.

Poglavlje Literatura obuhvata 132 navoda iz oblasti istraživanja i pokriva sve delove disertacije.

3. OCENA DISERTACIJE

3.1. Savremenost i originalnost

Poslednjih godina optički aktivne nanočestice na bazi elemenata retkih zemalja privlače veliku pažnju naučne javnosti zbog svoje uspešne primene u vizualizaciji i karakterizaciji bioloških procesa na ćelijskom i molekulskom nivou. Predmet istraživanja ove doktorske disertacije bio je razvijanje i optimizacija *in situ* sinteze biokompatibilnih $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.3}\text{F}_4$ čestica definisane morfologije i željenih optičkih karakteristika radi prevazilaženja problema citotoksičnosti nanočestica dobijenih višestepenim metodama koje uključuju sintezu iz trifluoroacetata i oleinske kiseline, a zatim interkalaciju i/ili naknadnu funkcionalizaciju površine čestica u cilju postizanja hidrofилnosti i biokompatibilnosti. Uticaj biokompatibilnih polimera EDTA, PVP, PEG, PAA, hitozana i PLGA na proces nukleacije i prostornu orijentisanost $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.3}\text{F}_4$ faze tokom procesa sinteze UC nanočestica hidro/solvotermalnom metodom, kao i antimikrobna i citotoksična svojstva ovih nanočestica do sada nije referisan u literaturi. Takođe, po prvi put je pokazana i mogućnost *in vitro* vizuelizacije zdravih gingivalnih ćelija korena pulpe i skvamoznih ćelija kancera jezika korišćenjem UC nanočestica dobijenih u prisustvu hitozana i PLGA.

3.2. Osvrt na referentnu i korišćenu literaturu

U ovoj doktorskoj disertaciji je citirano 132 literaturnih navoda koji se odnose na istraživanja vezana za problematiku sinteze, karakterizacije i primene optički aktivnih nanočestica, uglavnom fluorida. Literatura je obuhvatila i veliki broj preglednih naučnih radova koji pokrivaju biomarkere različitog sastava, uključujući i UC nanočestice hibridne strukture. U okviru disertacije dat je potpun kritički literaturni pregled u skladu sa

fenomenima koji su istraživani kao i poređenja dobijenih rezultata sa sličnim publikovanim rezultatima.

3.3. Opis i adekvatnost primenjenih naučnih metoda

U istraživanjima u okviru ove doktorske disertacije korišćene su savremene tehnike karakterizacije materijala u svim fazama eksperimentalnih istraživanja. Karakterizacija nanočestica je obuhvatila ne samo određivanje njihovog faznog sastava X-ray difrakcijom praha (XRPD) već i definisanje mikrostrukturnih parametara dobijenih kristalnih struktura (Rietveld metodom). Morfologija čestica je ispitivana primenom skenirajuće, transmisiona i visokorezolucione transmisiona elektronske mikroskopije (SEM/TEM/HRTEM) u sprezi sa energetsko disperzionom analizom X-zracima (EDAX). Step funkcionalizacije površine nanočestica kao i utvrđivanje načina vezivanja određenih liganata definisani su na bazi infracrvene spektroskopije sa Furijeovom transformacijom (FTIR) i fotoelektronskom spektroskopijom X-zracima (XPS). Hidrodinamički prečnik čestica određen je na bazi dinamičkog rasipanja svetlosti (DLS), dok je merenjem fotoluminescencije, vremena života i proračunom hromatskih koordinata definisan luminescentni odziv nanočestica. Pored ovih metoda izvršeno je i određivanje antimikrobne aktivnosti nanočestica, merenje njihove citotoksičnosti (MTT test), kao i vizuelizacija sintetsanih UC nanočestica u ćelijskim prepartima laser skenirajućom mikroskopijom u cilju dokazivanja njihovih biomarkerskih karakteristika.

3.4. Primenljivost ostvarenih rezultata

Razvoj biomarkera hibridne nanostrukturne forme koji se mogu koristiti u biološkim snimanjima kao indikatori bioloških i patogenih procesa ili pak farmakološkog odgovora pacijenata na primljenu terapiju (lek) je od velikog značaja kao za dijagnostiku tako i za terapiju velikog broja oboljenja. Standardne procedure za praćenje kancera zasnivaju se uglavnom na endoskopiji belom svetlošću, pri čemu se dijagnostikovanje vrši na osnovu vizuelne percepcije. Takav način dijagnostikovanja nije dovoljan za detekciju prekancerogenih lezija koje ne pokazuju velike promene u boji tkiva te se sve više radi na unapređenju tehnika koje detektuju fluorofore aktivne pod eksternim izvorom zračenja, kao što su "up"- konvertorske nanočestice koje se pobudjuju NIR zračenjem. Ove čestice poseduju određene prednosti u odnosu na fluorofore koje se pobudjuju UV i VIS zračenjem, jer postižu veću dubinu prodiranja unutar tkiva, ne izazivaju autofluorescenciju tkiva, ne dovode do lokalnog zagrevanja i poseduju dugotrajnost i stabilnost signala (nema slabljenja signala s vremenom).

"Up"- konvertorske nanočestice iz sistema $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.3}\text{F}_4$ sintetisane u prisustvu hitozana i PLGA poseduju sve navedene prednosti i sa uspehom su korišćene za obeležavanje, odnosno vizuelizaciju skvamoznih ćelija kancera jezika i zdravih gingivalnih ćelija orena pulpe. Pored toga utvrđeno je i njihovo potencijalno citostatičko dejstvo kada se koriste u koncentracijama većim od 50 $\mu\text{g/ml}$.

3.5. Ocena dostignutih sposobnosti kandidata za samostalni naučni rad

Kandidat je u toku izrade disertacije pokazao sposobnost analitičkog pristupa problemu, a posebno prilikom definisanja ciljeva istraživanja i optimizaciji procesa sinteze

radi ostvarivanja istih. *In situ* procesiranje biokompatibilnih „up“- konvertorskih nanočestica podrazumevalo je povezivanje laboratorijskog rada sa autoklavima i sposobnosti odabira organskih polimera koji se mogu koristiti u takvom procesu sinteze. U toku izrade disertacije kandidat se osposobio za samostalnu analizu rezultata dobijenih velikim brojem savremenih karakterizacionih tehnika, kao i za njihovo prikazivanje na srpskom i engleskom jeziku što se vidi iz spiska objavljenih radova i saopštenja. Sagledavanje ukupne aktivnosti kandidata ukazuje na to da je Ivana Dinić, master inženjer tehnologije stekla multidisciplinarna saznanja koja su je osposobila za adekvatno tumačenje ostvarenih rezultata u oblastima hemijske tehnologije, fizike i biohemije.

4. OSTVARENI NAUČNI DOPRINOS

4.1. Prikaz ostvarenih naučnih doprinosa

Rezultati dobijeni u ovoj doktorskoj disertaciji daju značajan doprinos razumevanju uticaja izabranih polimera tokom *in situ* sinteze biokompatibilnih „up“- konvertorskih nanočestica sastava $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.3}\text{F}_4$, čime je omogućena njihova primenu u vizuelizaciji ćelija pri pobudi NIR zračenjem.

Naučni doprinos istraživanja ostvarenih u okviru ove doktorske disertacije je sledeći:

- Ostvarena je *in situ* sinteza „up“-konvertorskih čestice fluorida na bazi elemenata retkih zemalja sastava $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.3}\text{F}_4$ postupkom hidro/solvo-termalne metode korišćenjem neorganskih soli elemenata retkih zemalja, natrijum fluorida i biokompatibilnih polimera (EDTA, PVP, PEG, PAA, hitozan i PLGA).

- Izvršena je optimizacija procesa hidro/solvo-termalne sinteze (variranjem pH, koncentracije prekursora, vremena, temperature i rastvarača) u cilju nukleacije čiste heksagonalne i kubne $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.3}\text{F}_4$ faze, u mikro i nanočesticam respektivno.

- Pokazano je da uvođenje navedenih polimera tokom samog procesa sinteze dovodi do generisanja biokompatibilnih „up“- konvertorskih čestica zahtevnih morfoloških (veličina, oblik, hidrofilnost), strukturnih (fazni sastav, uniformna dopiranost) i optičkih („up“-konvertorskih) karakteristika koje omogućavaju njihovu primenu u biološkim snimanjima kako zdravih gingivalnih ćelija korena pulpe, tako i skvamoznih kancer ćelija jezika.

- Za nanočestice sastava $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.3}\text{F}_4$ dobijenim u prisustvu hitozana i PLGA utvrđeno je potencijano citostatičko dejstvo primenom MTT testa na skvamoznim kancer ćelijama jezika.

- Kod nanočestica sastava $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.3}\text{F}_4$ dobijenih u prisustvu hitozana potvrđeno je postojanje slobodnih amino grupa koje se dalje mogu vezivati za određeni antigen u cilju ostvarivanja selektivnog vezivanja i detekcije određenog tipa ćelija.

4.2. Kritička analiza rezultata istraživanja

Istraživanja kojima se bavi ova doktorska disertacija su koncipirana na jasno definisanim ciljevima proizašlim iz detaljne analize literature koja se bavi sintezom i potencijalnom

primenom „up”- konvertorskih nanočestica hibridne strukture u biološkim snimanjima za praćenje višestrukih molekularnih procesa u tkivima i ranu detekciju kancera. Variranjem parametara procesa optimizovana je *in situ* sinteza „up”- konvertorskih čestica sastava $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.3}\text{F}_4$ u prisustvu EDTE, PVP, PEG i PAA, i po prvi put su definisani parametri sinteze ove faze korišćenjem hitozana i PLGA. Predloženi metod *in situ* sinteze je značajno jednostavniji u odnosu na one opisane u literaturi, a specifičnost up”- konvertorskih nanočestica dobijenih u prisustvu hitozana i PLGA jeste da su u skladu sa zahtevima primene biomarkera nove generacije, te da su sa uspehom primenjene u *in vitro* uslovima za obeležavanje gingivalnih ćelija korena pulpe i skvamoznih kancer ćelija jezika. Iako postoji dosta radova koji pokazuju vizuelizaciju ćelija „up”- konvertorskim nanočesticama, većina njih je fokusirana na testiranje kancer ćelija, dok su podaci o citotoksičnosti na normalnim ćelijam veoma retki. Citotoksično dejstvo „up”- konvertorskih nanočestica sastava $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.3}\text{F}_4$ dobijenih u prisustvu hitozana i PLGA na kancerske ćelije uz minimalnu inhibiciju zdravih ćelija ukazuje na njihovo potencijalno terapijsko dejstvo pored dijagnostičkog. Mogućnost rane detekcije skvamoznih ćelija kancera jezika koji je najčešće zastupljen tip malignih eptielnih neoplazmi glave i vratu čiji su rani stadijumi bez simptoma, predstavlja značajan naučni doprinos.

4.3. Verifikacija naučnih doprinosa

Iz ove doktorske disertacije je do sada objavljeno pet radova, i to: tri rada kategorije M21, jedan kategorije M22 i jedan kategorije M52. Pored toga objavljeno je i 15 saopštenja kategorije M34.

Kategorija **M21** – Rad u vrhunskom međunarodnom časopisu

1. **Ivana Z Dinic**, Maria Eugenia Rabanal, Kazuhiro Yamamoto, Zhenquan Tan, Satoshi Ohara, Lidija T. Mancic, Olivera B. Milosevic, *PEG and PVP assisted solvothermal synthesis of $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}/\text{Er}^{3+}$ up-conversion nanoparticles*, Advanced Powder Technology, 27 (2016) 845–853.
ISSN: 0921-8831 (**IF 2.478**)
2. **Ivana Z. Dinic**, Lidija T. Mancic, Maria Eugenia Rabanal, Kazuhiro Yamamoto, Satoshi Ohara, Sayaka Tamura, Tomita Koji, Antonio M.L.M. Costa, Bojan A. Marinkovic, Olivera B. Milosevic, *Compositional and structural dependence of up-converting rare earth fluorides obtained through EDTA assisted htdro/solvothermal synthesis*, Advanced Powder Technology, 28 (2017) 73–82.
ISSN: 0921-8831 (**IF 2.478**)
3. Lidija Mancic, Aleksandra Djukic-Vukovic, **Ivana Dinic**, Marko G. Nikolic, Mihailo D. Rabasovic, Aleksandar J. Krmpot, Antonio M.L.M. Costa, Dijana Trisic, Milos Lazarevic, Ljiljana Mojovic, Olivera Milosevic, *NIR photo-driven upconversion in $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}/\text{PLGA}$ particles for in vitro bioimaging of cancer cells*, Materials Science & Engineering C 91 (2018) 597–605.
ISSN: 0928-4931 (**IF 5.080**)

Kategorija **M22** - Rad u istaknutom međunarodnom časopisu

1. Lidija Mancic, Aleksandra Djukic-Vukovic, **Ivana Dinic**, Marko G. Nikolic, Mihailo D. Rabasovic, Aleksandar J. Krmpot, Antonio M. L. M. Costa, Bojan A. Marinkovic, Ljiljana Mojovic, Olivera Milosevic, *One-step synthesis of amino-functionalized upconverting NaYF₄:Yb,Er nanoparticles for in vitro cell imaging*, RSC Advances, 2018, 8, 27429.
ISSN: 2046-2069 (**IF 2.936**)

Kategorija **M52**- Rad u časopisu od nacionalnog značaja

1. **I. Dinic**, L.Mancic, O.Milosevic, *Hidrotermalna sinteza optički aktivnih čestica fluorida dopiranih jonima retkih zemalja u prisustvu etilendiamintetrasirćetne kiseline (EDTA)*, Tehnika 4 (2016) 513-518.
ISSN: 0040-2176

Kategorija **M34** - Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u izvodu

1. **Ivana Z. Dinic**, Ivan M. Dugandzic, Lidija T. Mancic, Maria Eugenia Rabanal, Olivera B. Milosevic, *Surfactants Assisted Hydrothermal Synthesis of NaYF₄ co-doped Yb³⁺/Er³⁺ Up-conversion Nanoparticles*, Advanced Ceramics and Applications Conference III: New Frontiers in Multifunctional Material Science and Processing, 29 september – 1 october, 2014, Belgrade, Serbia, Program and the book of abstracts, p 88; ISBN : 978-86-915627-2-4
2. **Ivana Z. Dinic**, Ivan M. Dugandzic, Lidija T. Mancic, Maria E. Rabanal, Kazuhiro Yamamoto, Zhenquan Tan, Satoshi Ohara, Olivera B. Milosevic, *PVP-assisted Solvothermal Processing of Hexagonal NaYF₄:Yb³⁺/Er³⁺ Nanoparticles*, 14th European Ceramic conference, 20-25 June 2015, Toledo, Spain, Abstract ID 1897.
3. **Ivana Z. Dinic**, Lidija Mancic, Maria Eugenia Rabanal, Olivera B. Milosevic, *PEG assisted hydrothermal synthesis of NaYF₄:Yb³⁺, Er³⁺ nanoparticles*, Serbian Ceramic Society Conference - Advanced Ceramics and Application IV: New Frontiers in Multifunctional Material Science and Processing, 21-23 September, 2015, Belgrade, Serbia, Program and the book of abstracts, p 75; ISBN: 978-86-915627-3-1
4. **I. Dinic**, L.Mancic, M.E.Rabanal, O.Milosevic, *Hydrothermal synthesis of optically active rare earth fluorides*, 11th Conference for Young Scientists in Ceramics, 21-24 October, 2015. Novi Sad, Serbia, Book of Abstracts, p 58; ISBN: 978-86-6253-049-3
5. **Ivana Z. Dinić**, Lidija Mančić, Maria Eugenia Rabanal, Olivera B. Milošević, *Hydro/solvo-thermal synthesis of surface modified NaYF₄ co-doped Yb³⁺/Er³⁺ up-conversion nanoparticles*, Fourteenth Young Researchers' Conference - Materials Science and Engineering, 9-11 december 2015, Belgrade, Serbia, Program and the Book of Abstracts, p 20; ISBN: 978-86-80321-31-8
6. **Ivana Dinic**, Lidija Mancic, Maria Eugenia Rabanal, Olivera Milošević, *Compositional and structural dependence of upconverting RE-fluorides obtained through EDTA assisted hydrothermal synthesis*, AMPT 2015, 14-17 december 2015, Madrid, Spain, Program/ Book of Abstracts, p 281.
7. **Ivana Z. Dinic**, Marko Nikolic, Maria Eugenia Rabanal, Olivera B. Milosevic, Lidija T. Mancic, *Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) assisted hydro/solvothermal*

synthesis of up-converting rare earth fluorides, Fifteenth Young Researchers' Conference – Materials Science and Engineering, 7-9 december 2016, Belgrade, Serbia, Program and the Book of Abstracts, p 39; ISBN: 978-86-80321-32-5

8. **I. Dinic**, A. Djukic-Vukovic, L. Mojovic, M.G. Nikolic, M.D. Rabasovic, A.J. Krmpot, O. Milosevic and L. Mancic, *One-step synthesis of NIR-responsive NaYF₄:Yb,Er@Chitosane nanoparticles for biomedical application*, The Sixth International School and Conference on Photonics PHOTONICA 2017, 28 August – 1 September 2017, Belgrade Serbia, p 81; ISBN: 978-86-82441-46-5
9. **Ivana Dinic**, Lidija Mancic, Marko G. Nikolic, Katarina Radulovic, Bojan A. Marinkovic, Olivera Milosevic, *Facile synthesis of hydrophilic polymer-capped upconverting NaYF₄: Yb,Er particles*, Advanced Ceramics and Applications Conference VI: New Frontiers in Multifunctional Material Science and Processing, 18-20 September, 2017, Belgrade, Serbia, Program and the book of abstracts, p 67; ISBN: 978-86-915627-5-5
10. **I. Dinic**, A. Djukic-Vukovic, Lj. Mojovic, A.M.L.M. Costa, D. Trisic, M. Lazarevic, O. Milosevic, L. Mancic, *Synthesis of biocompatible upconverting nanoparticles for non-specific cell labeling*, 12th Conference for Young Scientist in Ceramics, CYSC-2017, 18-21 October, 2017, Novi Sad, Serbia, Book of Abstracts, p 95; ISBN: 978-86-6253-082-0
11. **Ivana Dinić**, Aleksandra Đukić-Vuković, Marko Nikolić, Olivera Milošević, Lidija Mančić, *Photo-driven upconversion in NaYF₄:Yb,Er@chitosane particles for cancer cells bioimaging*, Sixteenth Young Researchers Conference – Materials Science and Engineering, December 6-8 2017, Belgrade, Serbia, Program and the Book of Abstracts, p2; ISBN: 978-86-80321-33-2
12. Marina Vuković, **Ivana Dinić**, Lidija Mančić, Marko Nikolić, Mihailo Rabasović and Olivera Milošević, *Polyacrylic Acid and Chitosan Assisted Solvothermal Synthesis of Up-converting NaYF₄: Yb,Er Particles*, First International Conference ELMINA 2018, August 27-29, 2018, Belgrade, Serbia, Program and Book of Abstracts, p 195; ISBN: 978-86-7025-785-6
13. **Ivana Dinić**, Marina Vuković, Lidija Mančić, Aleksandar Krmpot, Olivera Milošević, *One-pot synthesis of biocompatible NaYF₄:Yb,Er nanoparticles for cell labeling*, Twentieth annual conference YUCOMAT 2018, September 3-7, 2018, Herceg Novi, Montenegro, Program and the Book of Abstracts, p116. september – 1 october, 2014, Belgrade, Serbia, Program and the book of abstracts, p 88; ISBN: 978-86-919111-3-3
14. **Ivana Dinić**, Marina Vuković, Nenad Ignjatović, Zoran Stojanović, Srečo Škapin, Ljiljana Veselinović, Lidija Mančić, *Lanthanide doped hydroxyapatite for multimodal imaging*, Advanced Ceramics and Applications Conference VII: New Frontiers in Multifunctional Material Science and Processing, 17-19 September, 2018, Belgrade, Serbia, Program and the book of abstracts, p 71; ISBN: 978-86-915627-6-2
15. Marina Vuković, **Ivana Dinić**, Lidija Mančić, Predrag Vulić, Marko Nikolić, Olivera Milošević, *Effects of Gd³⁺ co-doping on NaYF₄:Yb,Er nanoparticles structure*, Advanced Ceramics and Applications Conference VII: New Frontiers in Multifunctional Material Science and Processing, 17-19 September, 2018, Belgrade, Serbia, Program and the book of abstracts, p 72; ISBN: 978-86-915627-6-2

5. ZAKLJUČAK I PREDLOG

Na osnovu svega iznetog, Komisija smatra da doktorska disertacija kandidata Ivane Z. Dinić, master inženjera tehnologije, pod nazivom „**Sinteza i karakterizacija biokompatibilnih optički aktivnih fluorida retkih zemalja**“ predstavlja originalan i značajan naučni doprinos u oblasti **Tehnološko inženjerstvo**, odnosno užoj naučnoj oblasti **Biohemijско inženjerstvo i biotehnologija** što je i potvrđeno brojem objavljenih radova u relevantnim časopisima međunarodnog značaja i saopštenjima na međunarodnim konferencijama.

Na osnovu kvaliteta, obima i naučnog doprinosa, Komisija predlaže Nastavno-naučnom veću Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu, da se doktorska disertacija kandidata Ivane Z. Dinić, master inženjera tehnologije, pod nazivom „**Sinteza i karakterizacija biokompatibilnih optički aktivnih fluorida retkih zemalja**“ prihvati, izloži na uvid javnosti i uputi na konačno usvajanje Veću naučnih oblasti tehničkih nauka Univerziteta u Beogradu.

U Beogradu, 21.09.2018.

ČLANOVI KOMISIJE

dr Ljiljana Mojović, redovni profesor
Tehnološko metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu

dr Lidija Mančić, naučni savetnik
Institut tehničkih nauka SANU

dr Olivera Milošević, naučni savetnik
Institut tehničkih nauka SANU

dr Aleksandra Djukić-Vuković, naučni saradnik
Tehnološko metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu