

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ – ФАРМАЦЕУТСКОГ ФАКУЛТЕТА**

КОМИСИЈИ ЗА ПОСЛЕДИПЛОМСКУ НАСТАВУ – ДОКТОРСКЕ СТУДИЈЕ

Београд, 18.11.2022.

На седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду – Фармацеутског факултета, одржаној 20.10.2022. године, донета је Одлука број 2481/2 којом су именовани чланови Комисије за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата магистра фармације Јелисавете Игњатовић, под насловом:

„Развој формулације и *in vitro/in silico* карактеризација прашкова за инхалацију са модификованим ослобађањем лековитих супстанци различитих биофармацеутских својстава“

Ментори:

др сц. Сандра Цвијић, редовни професор, Универзитет у Београду - Фармацеутски факултет

др сц. Јелена Ђуриш, редовни професор, Универзитет у Београду - Фармацеутски факултет

Комисија у саставу:

1. Др сц. Светлана Ибрић, редовни професор, Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет

2. Др сц. Ненад Филиповић, редовни професор, Универзитет у Крагујевцу – Факултет инжењерских наука

3. Др сц. Владимир Добричић, ванредни професор, Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет

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

ИЗВЕШТАЈ

1. ПРИКАЗ САДРЖАЈА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

Докторска дисертација под називом „Развој формулације и *in vitro/in silico* карактеризација прашкова за инхалацију са модификованим ослобађањем лековитих супстанци различитих биофармацеутских својстава“ садржи 7 поглавља: 1. Увод, 2. Циљеви истраживања, 3. Експериментални део, 4. Резултати и дискусија, 5. Закључак, 6. Литература и 7. Прилози. На самом почетку докторске дисертације приложени су сажети на српском и енглеском језику, садржај и листа скраћеница коришћених у дисертацији, а на крају се налазе одговарајући прилози докторској дисертацији: списак публикованих и саопштених радова који чине део докторске дисертације, кратка биографија кандидата и потписане изјаве кандидата о ауторству, истоветности штампане и електронске дисертације и коришћењу докторске дисертације.

Дисертација је написана на 229 страна (почевши од увода закључно са пописом литературних референци), јасним и прегледним стилем и садржи 124 графичка приказа и 62 табеле. Попис литературе садржи 356 навода.

Увод садржи 8 поглавља (са одређеним потпоглављима) у којима су јасно наведене информације релевантне за предмет проучавања докторске дисертације. У првом делу увода описане су физиолошке карактеристике респираторног тракта које је потребно размотрити приликом развоја лекова за инхалацију. У другом делу наведене су карактеристике и истакнуте предности инхалационог пута примене лекова. У трећем делу увода дат је осврт на прашкове за инхалацију као фармацеутски облик, уз детаљније разматрање липидних микрочестица као напредних носача за инхалациону примену лекова. Четврти део објашњава савремени приступ развоја прашкова за инхалацију заснован на принципима концепта дизајнирања квалитета (*QbD* принципи). Пети и шести део увода описују постојеће *in vitro* методе карактеризације прашкова за инхалацију, као и методе за биофармацеутску карактеризацију лековитих супстанци и фармацеутских препарата за инхалациони пут примене. Седми део описује савремене *in silico* методе карактеризације прашкова за инхалацију, укључујући *in silico* моделе за предвиђање депозиције честица инхалираног аеросола и физиолошки засноване фармакокинетичке (*PBPK*) моделе за предвиђање апсорпције и расподеле инхалационо примењених лековитих супстанци код експерименталних животиња, као и код људи. У осмом делу увода размотрене су карактеристике модел лековитих супстанци: високо растворљивог салбутамол-сулфата и ниско растворљивог будесонида. Литературни наводи у уводном делу потврђују актуелност теме ове докторске дисертације.

Циљеви истраживања су јасно и прецизно дефинисани. Свеукупни циљ истраживања ове докторске дисертације је развој формулације липидних микрочестица у облику прашкова

за инхалацију, одговарајућих аеродинамичких карактеристика и са модификованим ослобађањем лековите супстанце (салбутамол-сулфата), као и *in vitro/in silico* карактеризација прашкова за инхалацију са модификованим ослобађањем лековитих супстанци различитих биофармацеутских својстава (салбутамол-сулфат и будесонид). Појединачни циљеви односе се на различите сегменте рада. Циљ који се односи на први сегмент представља успешна формулација и карактеризација прашкова липидних микрочестица добијених методом емулговања на повишеној температури и сушењем у уређајима за сушење распршивањем или сушење смрзавањем. Циљ везан за други сегмент односи се на детаљније испитивање утицаја параметара процеса емулговања, у комбинацији са сушењем распршивањем, на фармацеутско-технолошке и функционалне карактеристике прашкова за инхалацију у облику липидних микрочестица. Циљ трећег сегмента рада је одређивање аеродинамичких карактеристика одабраних формулација и компаративна анализа података добијених помоћу *in vitro* (двофазни стаклени импинџер, импактор нове генерације, импактор за брзу анализу) и *in silico* метода (рачунска динамика флуида у комбинацији са моделом дискретних фаза, *CFD-DPM*). Развој модела за предвиђање депозиције, апсорпције и расподеле лековитих супстанци различитих биофармацеутских својстава (салбутамола примењеног у облику сулфата и будесонида), након примене прашкова за инхалацију са модификованим ослобађањем представља циљ четвртог сегмента рада. Активности усмерене ка остваривању наведених циљева су организоване у четири фазе експерименталног рада.

Експериментални рад наводи и описује материјале и методе који су коришћени у изради докторске дисертације. Опис метода прати структуру претходно описана четири сегмента дисертације. Тако први сегмент метода обухвата опис израде прашкова липидних микрочестица, одређивање расподеле величине, као и стварне, насипне и тапкане густине липидних микрочестица. Такође, описано је одређивање проточности прашкова и морфологије липидних микрочестица. Приказане су методе за *in vitro* одређивање аеродинамичких својстава и начин на који је конципиран експериментални дизајн. Детаљно је описана аналитичка метода за одређивање концентрације салбутамол-сулфата (течна хроматографија у комбинацији са масеном спектрометријом) која је развијена за потребе одређивања удела салбутамол-сулфата у прашковима липидних микрочестица, растворљивости салбутамол-сулфата и *in vitro* брзине растварања салбутамол-сулфата из прашкова липидних микрочестица. У другом сегменту метода разрађен је концепт дизајнирања квалитета у развоју наведених формулација, као и метода за њихову израду која подразумева емулговање на повишеној температури у комбинацији са сушењем распршивањем. Додатно су описане методе које нису биле примењене у првом сегменту рада, попут карактеризације чврстог стања лековите супстанце, ексципијенаса и израђених формулација; аеродинамичка карактеризација применом различитих уређаја, као и метода мултиваријантне анализе података. У трећем методолошком сегменту описано је испитивање аеродинамичких својстава у двофазном стакленом импинџеру, које је поређено

са *CFD-DPM* симулацијама. Такође су упоређени резултати одређивања аеродинамичких карактеристика (емитована фракција, фракција ситних честица, медијана расподеле масе честица у односу на аеродинамички пречник и геометријска стандардна девијација) у импактору нове генерације и импактору за брзу анализу са претходно описаним поступцима. У четвртом методолошком сегменту детаљно су описани развој и валидација будесонид-специфичног модела и салбутамол-специфичног модела за предвиђање биоперформанси наведених лекова код пацова и човека. У оквиру овог дела описани су и приступи за скалирање фармакокинетичких параметара са модела пацова на модел човека, као и методе за процену утицаја потенцијалних варијација у особинама лековите супстанце, формулације или физиолошких услова на очекивану депозицију и апсорпцију инхалационо примењених модел лековитих супстанци.

Резултати и дискусија су структурирани тако да прате описане сегменте експерименталног рада. Овај део обухвата 108 страна докторске дисертације, 108 графичка приказа и 38 табела. Резултати су представљени прегледно и систематично, а кроз дискусију су добијени резултати упоређени са релевантним литературним подацима, дата су одговарајућа објашњења и изнета сопствена тумачења кандидата.

У поглављу **Закључак** наведени су најзначајнији закључци који произилазе из резултата истраживања и који су у складу са постављеним циљевима рада.

У поглављу **Литература** наведено је 356 референци цитираних Харвардским стилем.

2. ОПИС ПОСТИГНУТИХ РЕЗУЛТАТА

У складу са експерименталним планом и постављеним циљевима, резултати ове докторске дисертације и пратећа тумачења подељени су у четири целине.

У првој фази експерименталног рада развијене су одговарајуће методе за израду прашкова за инхалацију типа липидних микрочестица са салбутамол-сулфатом. Најпре је разматран оптималан поступак сушења дисперзија микрочестица добијених емулговањем на повишеној температури. Као липидни ексципијенси коришћени су глицерилдибехенат или стеарилалкохол, полксамер 188 је имао улогу сурфактанта, а трехалоза криопротектанта. Варирано је време трајања хомогенизације израђене емулзије на ротор-статор хомогенизатору. Пре сушења су одређене формулације микрочестице подвргнуте прању како би се уклонио вишак салбутамол-сулфата. Поређено је сушење дисперзија поступком лиофилизације и сушења распршивањем. Добијени резултати су показали да метода сушења има значајан утицај на пречник липидних микрочестица (изражен као медијана пречника запреминске расподеле, d_{v50}), при чему су микрочестице мањег пречника, са ужом

располом величине честица и мањом густином добијене процесом сушења распршивањем, због чега је та метода одабрана за следеће фазе истраживања. Скенирајућа електронска микроскопија је потврдила да су микрочестице добијене поступком сушења распршивањем знатно ситније, правилнијег и углавном сферног облика. *Carr*-ов индекс мањи од 25% добијен је за већину формулација што указује на њихова добра проточна својства, узимајући у обзир да се ради о микронизираним честицама. Вредности за емитовану фракцију свих испитиваних формулација су биле задовољавајуће, док је фракција ситних честица за узорке добијене сушењем распршивањем била већа од 10%. На веће вредности фракције ситних честица позитивно су утицали и глицерилдибехенат као липидни матрикс и дуже време хомогенизације. Прелиминарни резултати испитивања брзине растварања су указали на спорије растварање салбутамол-сулфата из свих формулација у односу на прахак чисте лековите супстанце. Уочена је такође и значајна разлика у брзини растварања салбутамол-сулфата у зависности од липидног ексципијенса који је коришћен за формирање микрочестичног матрикса, као и утицај величине микрочестица на брзину растварања лековите супстанце. Како би се обезбедило адекватно квашење липидних микрочестица у састав медијума за испитивање брзине растварања укључен је и полисорбат 80.

У другој фази експерименталног рада идентификоване су и оптимизоване потенцијалне критичне карактеристике материјала и процесни параметри (за процесе емулговања на повишеној температури и сушења распршивањем) тако да се добије прахак за инхалацију у облику липидних микрочестица чије карактеристике одговарају задатом циљном профилу квалитета (треба да поседује одговарајуће аеродинамичке карактеристике, уз истовремену модификацију брзине растварања салбутамол-сулфата из липидних микрочестица). На основу резултата приказаних у првој фази експерименталног рада као липидни ексципијенс је одабран глицерилдибехенат, коришћено је 1,5% полоксамера 188 у формулацији, време хомогенизације је износило 2 минута, а брзине хомогенизације 13400 обртаја по минути, док су параметри процеса сушења распршивањем варирану у одређеним опсезима. Процењиван је и утицај ефекта “прања“ суспензије микрочестица и додатка трехалозе. У овој фази су формулације детаљно окарактерисане одређивањем расподеле величине и стварне густине липидних микрочестица. Показано је да су формулације липидних микрочестица које су подвргнуте прању имале мању величину честица. Такође, повећање брзине ваздуха за распршивање довело је до формирања ситнијих честица. Потврђено је да додатак сурфактанта утиче позитивно на смањење величине и сужавање расподеле величине микрочестица. У овој фази истраживања добијене су микрочестице одговарајуће величине (d_{v50} у распону $3,94 \pm 0,03 - 7,09 \pm 0,05 \mu\text{m}$) и густине око 1 g/cm^3 , што је потврђено и одређивањем удела фракције ситних честица импактором за брзу анализу (око 20-40%). Како би се сагледао комплексан утицај формулационих фактора и процесних параметара на емитовану фракцију и фракцију ситних честица, примењена је анализа главних компонената, као мултифакторска метода анализе. Значајно је истаћи да је ова метода

потврдила значајан утицај додатка трехалозе на аеродинамичке карактеристике липидних микрочестица. За одређивање медијане расподеле масе честица у односу на аеродинамички пречник (*MMAD*), уз геометријску стандардну девијацију (*GSD*) одабраних узорака формулација са глицерилдибехенатом, коришћен је импактор нове генерације, при чему су добијене *MMAD* вредности мање од 5 μm за све тестиране формулације. Диференцијалном скенирајућом калориметријом и дифракцијом X-зрака показано је да у испитиваним формулацијама не долази до интеракција између лековите супстанце и ексципијенаса, уз одређену модификацију пика салбутамол-сулфата на термограму која је у складу са литературним подацима. Важно је истаћи да је потврђено да поступак израде, који подразумева загревање приликом емулговања на повишеној температури и сушење распршивањем, не доводи до деградације салбутамол-сулфата. Такође, уочено је да није дошло до полиморфних прелаза, нити структурних модификација липидног ексципијенса (глицерилдибехената). На основу дифрактограма одабране формулације може се закључити да приликом сушења распршивањем долази до делимичног преласка салбутамол-сулфата из кристалног у аморфни облик. Испитивањем брзине растварања салбутамол-сулфата потврђени су прелиминарни резултати прве фазе да је глицерилдибехенат као липидни матриксни материјал значајно ефикаснији у успоравању растварања у односу на стеарилалкохол. Како би се додатно окарактерисала брзина растварања салбутамол-сулфата из одабраних формулација коришћене су и Францове дифузионе ћелије, уз детаљно разматрање утицаја запремине медијума, врсте мембране, удела сурфактанта итд. на резултате испитивања. Додатно, профили брзине растварања су анализирани различитим математичким моделима како би се сагледали кинетика и механизам ослобађања салбутамол-сулфата.

У трећој фази експерименталног рада извршена је компаративна анализа аеродинамичких карактеристика одабраних формулација одређених *in vitro* и *in silico* методама. За потребе *in silico CFD-DPM* симулација конструисан је 3Д модел инхалатора и дефинисане су граничне вредности параметара неопходних за симулације. Рачунарско моделовање перформанси одабраног инхалатора (RS01[®]) укључило је моделовање протока ваздуха, распршивање прашка за инхалацију и депозицију честица у инхалатору. Симулације су разматрале и механизме лепљења, односно одвајања залепљених честица од зидова инхалатора. *CFD-DPM* симулацијама било је могуће предвидети проценат честица испитиваних формулација које остају депоноване у инхалатору, као и они које напуштају инхалатор, те је било могуће израчунати удео ситне фракције и параметре као што су *MMAD* и *GSD*. Предвиђени резултати упоређени су са *in vitro* резултатима добијеним помоћу двофазног стакленог импинцера, импактора нове генерације и импактора за брзу анализу. Депоноване фракције липидних микрочестица предвиђене *CFD-DPM* моделом биле су најсличније резултатима добијеним применом импактора за брзу анализу. Примећена су одређена одступања предвиђања *CFD-DPM* модела у случају формулација са трехалозом, због потенцијалног стварања агломерата које модел не предвиђа. У погледу вредности за

емитоване фракције, *CFD-DPM* предвиђене вредности су упоредиве са вредностима добијеним применом све три различите *in vitro* методе. Вредности *MMAD* и *GSD* се експериментално одређују само импактором нове генерације, те су оне упоређене са вредностима предвиђеним *CFD-DPM* моделом. *CFD-DPM* модел је предвидео значајно веће *MMAD*, а ниже *GSD* вредности у односу на оне које су експериментално одређене. Између вредности за удео фракције ситних честица одређених експерименталним методама и *in silico* путем није било могуће успоставити корелацију. У овој фази рада, упоређени су и резултати испитивања аеродинамичких карактеристика испитиваних формулација добијени различитим *in vitro* методама и показано је да они нису увек упоредиви. Највећи степен корелације успостављен је између резултата испитивања фракције ситних честица помоћу стакленог импинцера и импактора новије генерације, при чему је показано да се стаклени импинцер може користити за релативно једноставно и поуздано испитивање аеродинамичких карактеристика прашкова за инхалацију у фази скрининга, приликом развоја нових формулација.

У четвртој фази експерименталног рада спроведена је анализа података који описују биофармацеутска својства салбутамола (примењеног у облику сулфата) и будесонида, и развијени су *PBPK in silico* модели за предвиђање биоперформанси датих лековитих супстанци након инхалационе примене код експерименталних животиња (пацова), као и код човека. За развој модела коришћени су литературни подаци о депозицији аеросола након интратрахеалне примене различитих формулација са салбутамол-сулфатом и будесонидом (добијени у *in vivo* студијама), као и подаци предвиђени применом *in silico* *MPPD* и *ICRP66* модела. Улазни параметри неопходни за развој модела за предвиђање биоперформанси салбутамола код човека, који нису доступни у литератури, успешно су скалирани са модела који описује примену инхалационих препарата са овом лековитом супстанцом код пацова. Развијени модели за обе лековите супстанце валидирани су поређењем резултата симулација са подацима из *in vivo* студија објављеним у литератури. На овај начин потврђена је поузданост предвиђања модела. Модели су затим коришћени за предвиђање очекиване депозиције, апсорпције и расподеле модел супстанци након примене различитих формулација препарата за инхалацију, са различитим профилима брзине ослобађања лековитих супстанци. Резултати симулација помоћу изграђеног модела за будесонид указали су на то да се биоперформансе релативно једноставних формулација инхалационих лекова могу успешно предвидети на основу *in vitro* података о аеродинамичким карактеристикама аеросола, у комбинацији са *in silico* предвиђеном депозицијом. Додатно, показана је значајна предност *in silico* моделовања за процену разлика у профилима апсорпције лековите супстанце по регионима плућа у зависности од аеродинамичким својстава прашкова за инхалацију, јер ове податке није могуће добити *in vivo* и *in vitro* студијама. Такође, показано је да се инхалационом применом мукоадхезивних формулација прашкова за инхалацију може постићи успорено растварање и продужена апсорпција ниско растворљивих лековитих супстанци, као што је будесонид. Као основни

недостатак *in silico* PBPK моделовања препозната је немогућност поузданог предвиђања апсорпције лековите супстанце након примене мукоадхезивних формулација лекова за инхалацију, због немогућности да се прецизно одреди константа брзине апсорпције лековите супстанце у плућима. Овај недостатак је могуће делимично превазићи оптимизацијом поменуте вредности, но само у каснијим фазама развоја препарата, када су доступни *in vivo* подаци за валидацију резултата предвиђања. Помоћу модела за предвиђање биоперформанси салбутамола након инхалационе примене код човека показано је да *in silico* ICRP66 модел генерално предвиђа нижу укупну депозицију инхалираног аеросола у плућима у односу на очекивану, но ипак даје корисне податке о расподели депонованих фракција лека по регионима плућа у зависности од аеродинамичких карактеристика честица, те може да укаже на очекиване разлике у депозицији и апсорпцији лека између различитих формулација. Резултати симулација за експерименталне формулације прашкова липидних микрочестица са салбутамол-сулфатом указали су на потенцијалне предности инхалационе примене оваквих формулација у односу на комерцијални препарат са тренутним ослобађањем салбутамол-сулфата. Наиме, показано је да инхалационом применом прашкова липидних микрочестица може да се продужи апсорпција салбутамола у плућима и тиме омогући ређа примена препарата. Додатно, на овај начин могуће је постићи комплетнију депозицију и апсорпцију лека у плућима, уз нижи обим апсорпције из гастроинтестиналног тракта, у односу на комерцијални препарат, те се жељени терапијски ефекат може постићи са нижим дозама лековите супстанце. На овај начин могу се смањити и потенцијални нежељени ефекти салбутамола.

3. УПОРЕДНА АНАЛИЗА РЕЗУЛТАТА ДИСЕРТАЦИЈЕ СА ПОДАЦИМА ИЗ ЛИТЕРАТУРЕ

Последњих година се спровode интензивна истраживања у области развоја напредних носача за инхалациону примену лекова (*Eedara et al. 2021; Javadzadeh & Yaqoubi, 2017; Yıldız-Peköz & Ehrhardt, 2020*). Посебан изазов представља развој комплексних носача, попут липидних микрочестица, код којих постоје бројни потенцијални критични атрибути материјала и процесни параметри, односно подједнако су захтевне формулације инхалационих препарата на бази оваквих носача, као и производни поступак (*Buttini et al., 2018; Jaspert et al., 2005; Scalia et al., 2015; Wang et al., 2022*). *Scalia* и сарадници (2012) су за прашкове липидних микрочестица салбутамола, израђене методом емулговања на повишеној температури у комбинацији са лиофилизацијом, добили фракцију ситних честица од 17,3%, док су *Mezzena* и сарадници (2009) постигли 21,1% удела фракције ситних честица за прашкове липидних честица са будесонидом. У овој докторској дисертацији је већ у прелиминарним фазама истраживања показано да је могуће добити веће вредности за наведени параметар (28,2% удела фракције ситних честица), уз сушење распршивањем дисперзије микрочестица, а додатном оптимизацијом формулације и процеса израде

добијена је вредност од чак 38,04% фракције ситних честица. У оквиру процеса оптимизације, запажено је да параметри процеса попут скраћења времена хомогенизације и повећање брзине ваздуха за распршивање (код сушења распршивањем) доводе до формирања липидних микрочестица мањег пречника, са ужом расподелом величине, што је пожељно код прашкова за инхалацију и у складу је са подацима из литературе (*Sanna et al., 2004; Lechanteur & Evrard, 2020*). Такође, показано је да се оптимална величина липидних микрочестица може постићи и при нижим брзинама хомогенизације, што је такође у сагласности са литературним подацима (*Jaspart et al., 2007*). У овој дисертацији процењен је и ефекат “прања” суспензија липидних микрочестица на карактеристике добијеног прашка, што до сада није описано у литератури. Наиме, резултати су показали да формулације липидних микрочестица подвргнуте прању показују мању величину честица у односу на формулације израђене без прања. Показано је и да додатак трехалозе, као криопротектанта, у формулацију побољшава аеродинамичке карактеристике прашкова липидних микрочестица. Ово запажање није до сада забележено у литератури, међутим има података да други угљени хидрати као што су трехалоза и лактоза могу имати сличан ефекат (*Bosquillon et al., 2001*). *Daman* и сарадници (2014) развили су липидне микрочестице применом поступка сушења распршивањем, уз коришћење органских растварача. Наиме, брже испаравање органских растварача може да обезбеди већи порозитет, односно мању густину осушених микрочестица, што је пожељно са аспекта постизања одговарајућих аеродинамичких карактеристика честица. У овој докторској дисертацији показано је да је могуће добити липидне микрочестице сличних карактеристика, пре свега упоредиве стварне густине, када се суши водена дисперзија, што је значајно са аспекта одрживости у контексту развоја производног процеса. Удео лековите супстанце који је постигнут у формулацијама развијеним у овој дисертацији (до 13,99%) упоредив је са подацима из литературе, односно и већи од вредности (4,2%) која је добијена у студији у којој је коришћен хидрофобни облик лековите супстанце (салбутамол база (*Scalia et al., 2012*) у односу на хидрофилну со салбутамол-сулфат коришћену у овом раду). *Jaspart* и сарадници (2007) су такође постигли висок удео лековите супстанце у прашковима липидних микрочестица (4,36-18%), али и у овој студији је коришћен хидрофобни дериват салбутамола (салбутамол-ацетонид).

У оквиру ове дисертације развијена је и валидирана нова аналитичка метода течне хроматографије високих перформанси за одређивање салбутамол-сулфата. Поменута метода базирана је на методи описаној у литератури (*Daman et al., 2014*), али је унапређена у смислу замене трокомпонентне мобилне фазе двокомпонентном која је стабилнија и једноставнија за припрему. Такође, унапређена метода је једноставнија за извођење, јер не подразумева примену интерног стандарда који је коришћен у методи описаној у литератури (*Daman et al., 2014*).

Као један од алата подршке *QbD* приступа развоју формулација у овој дисертацији примењена је анализа главних компонената (*PCA*), што представља први описан пример примене ове методе у развоју липидних микрочестица за инхалациону примену. У литератури се наводи неколико примера примене *PCA* анализе у развоју прашкова за инхалацију (нпр. *Buttini et al., 2016; Muddle et al., 2017; Sun et al., 2020*), али су у питању друге врсте формулације, те су анализом обухваћени другачији сетови података у односу на анализу примењену у овом раду.

Иако постоји значајан интерес за развој одговарајућих метода за испитивање брзине растварања лековите супстанце из прашкова за инхалацију (*Davies & Feddah, 2003; Radivojevic et al., 2019; Velaga et al. 2018*) и даље не постоје званичне смернице (нпр. фармакопејске или препоруке регулаторних тела) на ову тему. Стога избор апаратуре, медијума и осталих услова за спровођење датог испитивања, који су описани и предложени у овој докторској дисертације, представљају значајан допринос, нарочито у смислу тумачења утицаја експерименталних услова испитивања на добијене резултате. Резултати добијени моделовањем профила брзине растварања лековите супстанце указали су на комбиноване механизме ослобађања салбутамол-сулфата из липидних микрочестица (комбинација дифузије и ерозије), и у складу су са до сада описаним подацима у литератури (*Bhoyar et al., 2011; Rao et al., 2014*).

Методе и уређаји који се користе за одређивање аеродинамичких карактеристика прашкова за инхалацију такође нису усаглашени, што отежава поређење и процену резултата, и већ је препознато као проблем који се наводи у литератури (*De Boer et al., 2002*). Са друге стране, показано је да *in silico* методе засноване на рачунској динамици флуида (*CFPD* модели) могу успешно да се користе у развоју формулација прашкова за инхалацију, чак и за предвиђање параметара и дефинисање механизма аеросолизације који се не могу одредити рутинским *in vitro* тестовима као што су нпр. симулације кретања аеросола кроз и из инхалатора (*Donovan et al., 2012; Longest et al., 2019a; Milenkovic et al., 2017; Zheng et al., 2021* итд.) и предвиђање депозиције лекова за инхалацију код специфичних популација пацијената, укључујући педијатријску популацију и пацијенте са респираторним обољењима (*De Backer et al., 2008; DeBoer et al., 2021; Xi et al., 2014*). Иако су у литератури публиковане студије у којима је показан изванредан ниво корелације између *in vitro* и *in silico CFPD* резултата (*Milenkovic et al., 2014; Longest et al., 2019; Nguyen et al., 2018*), наводи се неопходност спровођења додатних студија у којима ће подаци добијени *CFPD* симулацијама бити упоређени са експерименталним *in vitro* резултатима (*Zheng et al., 2021*). Ова докторска дисертација даје значајан допринос у смислу критичког поређења три различите, а често коришћене *in vitro* методе (двофазни стаклени импинџер, импактор нове генерације, импактор за брзу анализу) као и *in silico CFPD* методе (конкретно *CFD-DPM*) за предвиђање аеродинамичких карактеристика прашкова за инхалацију. Препозната је и истакнута потреба да се *CFD-DPM* модели користе у комбинацији са *in vitro* методама ради

поуздане и свеобухватне карактеризације прашкова за инхалацију. У практичном смислу је веома значајан и висок степен уочене корелације ($R^2 = 0,9440$) између вредности удела фракције ситних честица одређених двофазним стакленим импинџером и импактором нове генерације, који указује на то да су подаци добијени на основу ове две методе међусобно упоредиви. Додатно, поменути резултат указује на значај мерења у двофазном стакленом импинџеру, као релативно једноставној методи која може да се користи у почетној фази развоја нових формулација прашкова за инхалацију иако нови трендови и регулаторни прописи дају предност анализама у импакторима.

Примена *in silico* *PBPK* моделовања за предвиђање депозиције, апсорпције и расподеле инхалационо примењених лекова је до сада описана у свега неколико радова (нпр. *Salar-Bezadi et al., 2017; Vulović et al., 2018; Pinto et al., 2021; Radivojević et al., 2021; Miller et al., 2022*), при чему се сви поменути модели односе на препарате са тренутним ослобађањем лековите супстанце. Такође, треба нагласити да су развој и примена оваквих модела нарочито захтевни, због потребе познавања великог броја улазних параметара, као и разматрања бројних фактора и интеракција који утичу на биоперформансе инхалационо примењених лекова. У оквиру ове дисертације први пут је описана примена *PBPK* моделовања за предвиђање биоперформанси прашкова за инхалацију са модификованим ослобађањем лековитих супстанци, те стога представља велики допринос даљим истраживањима на овом пољу. Примењени приступ развоја модела најпре за експерименталне животиње (у овом случају за пацова), а затим скалирање на модел човека је већ описан у литератури (*De Buck et al., 2007; Jones et al. 2006; Miller et al., 2019*), но све поменуте студије односе се на фармацеутске препарате за перорални пут примене. У овој дисертацији је поменути приступ први пут примењен на фармацеутске препарате за инхалациону примену. Због иновативне природе истраживања и примењених приступа, већину резултата није могуће упоредити са подацима из литературе. Од података који се могу поредити, значајно је истаћи да се улазни подаци о фармакокинетичким карактеристикама испитиваних модел супстанци, добијени помоћу *in silico* *PKPlus*[™] модула у оквиру *GastroPlus*[™] програмског пакета, слажу са подацима из литературе за будесонид (*Boobis et al., 1998; Edsbäcker et al., 2002; Ryrfeldt et al., 1982*) и салбутамол (*Jiang et al., 2016; Jones & Harrison, 2012; Wu et al., 2011*). Додатно, потреба за оптимизацијом одређених улазних параметара приликом изградње модела, оправдана подацима који се наводе у литератури, указала је на кључне механизме који утичу на апсорпцију инхалационих лекова. На пример, у овој студији је показано да растворљивост будесонида примењеног инхалационим путем у облику наносуспензије није ограничавајући фактор за његову апсорпцију, иако је у питању лековита супстанца која се генерално сматра ниско растворљивом. На сличан закључак упућују и подаци из литературе (*Yang et al., 2008*). Примењени приступ моделовања продужене брзине ослобађања и апсорпције лековитих супстанци оптимизацијом вредности константе брзине апсорпције у плућима је такође потврђен на примеру сличне студије која је описана у литератури (*Bhagwat et al., 2017*).

Даље, помоћу салбутамол-специфичног *PBPK* модела предвиђена је релативна расположивост салбутамола након инхалационе примене од око 64% (у односу на пероралну примену у облику раствора), што се слаже са подацима из литературе (*Du et al., 2002*). Сагласност између предвиђених и *in vivo* одређених параметара утврђена је и за фракцију салбутамола која се депонује (*Pinto et al., 2021*) и апсорбује у плућима (*Lipworth, 1996; Jones & Harrison, 2012*).

Наведена запажања и коментари указују на то да су истраживања у оквиру ове докторске дисертације базирана на поставкама експеримената и резултатима који се наводе у литератури, али су значајно унапређена како би се превазишли уочени недостаци постојећих метода и приступа у развоју формулација прашкова за инхалацију. Већина спроведених испитивања, а последично и добијени резултати, иновативног су карактера, те су од великог значаја за даљи развој и карактеризацију прашкова за инхалацију. Остатак резултат је углавном у сагласности или се може описати одговарајућим подацима из литературе.

ЛИТЕРАТУРА

Bhagwat, S., Schilling, U., Chen, M.J., Wei, X., Delvadia, R., Absar, M., Saluja, B., Hochhaus, G., 2017. Predicting pulmonary pharmacokinetics from in vitro properties of dry powder inhalers. *Pharm. Res.* 34, 2541-2556.

Bosquillon, C., Lombry, C., Preat, V., Vanbever, R., 2001. Influence of formulation excipients and physical characteristics of inhalation dry powders on their aerosolization performance. *J. Control. Release.* 70, 329-339.

Buttini, F., Pasquali, I., Brambilla, G., Copelli, D., Alberi, M.D., Balducci, A.G., Bettini, R., Sisti, V., 2016. Multivariate analysis of effects of asthmatic patient respiratory profiles on the in vitro performance of a reservoir multidose and a capsule-based dry powder inhaler. *Pharm. Res.* 33, 701-715.

Buttini, F., Rozou, S., Rossi, A., Zoumpliou, V., Rekkas, D.M., 2018. The application of quality by design framework in the pharmaceutical development of dry powder inhalers. *Eur. J. Pharm. Sci.* 113, 64-76.

Bhoyar, P.K., Morani, D.O., Biyani, D.M., Umekar, M.J., Mahure, J.G., Amgaonkar, Y.M., 2011. Encapsulation of naproxen in lipid-based matrix microspheres: characterization and release kinetics. *J. Young Pharm.* 3, 105-111.

Boobis, A.R., 1998. Comparative physicochemical and pharmacokinetic profiles of inhaled beclomethasone dipropionate and budesonide. *Respir. Med.* 92, 2-6.

- Daman, Z., Gilani, K., Rouholamini Najafabadi, A., Eftekhari, H.R., Barghi, M.A., 2014. Formulation of inhalable lipid-based salbutamol sulfate microparticles by spray drying technique. *DARU J. Pharm. Sci.* 22, 1-9.
- Davies, N.M., Feddah, M.R., 2003. A novel method for assessing dissolution of aerosol inhaler products. *Int. J. Pharm.* 255, 175-187.
- De Backer, J.W., Vos, W.G., Devolder, A., Verhulst, S.L., Germonpré, P., Wuyts, F.L., Parizel, P.M., De Backer, W., 2008. Computational fluid dynamics can detect changes in airway resistance in asthmatics after acute bronchodilation. *J. Biomech.* 41, 106-113.
- De Boer, A.H., Gjaltema, D., Hagedoorn, P., Frijlink, H.W., 2002. Characterization of inhalation aerosols: a critical evaluation of cascade impactor analysis and laser diffraction technique. *Int. J. Pharm.* 249, 219-231.
- De Boer, E.M., Kimbell, J.S., Pickett, K., Hatch, J.E., Akers, K., Brinton, J., Hall, G.L., King, L., Ramanauskas, F., Rosenow, T., Stick, S.M., 2021. Lung inflammation and simulated airway resistance in infants with cystic fibrosis. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 293, 103722.
- De Buck, S.S., Sinha, V.K., Fenu, L.A., Nijssen, M.J., Mackie, C.E., Gilissen, R.A., 2007. Prediction of human pharmacokinetics using physiologically based modeling: a retrospective analysis of 26 clinically tested drugs. *Drug Metab. Dispos.* 35, 1766-1780.
- Donovan, M.J., Kim, S.H., Raman, V., Smyth, H.D., 2012. Dry powder inhaler device influence on carrier particle performance. *J. Pharm. Sci.* 101, 1097-1107.
- Eedara, B.B., Alabsi, W., Encinas-Basurto, D., Polt, R., Hayes, D., Black, S.M., Mansour, H.M., 2021. Pulmonary Drug Delivery. In: *Organelle and Molecular Targeting* (pp. 227-278), CRC Press.
- Edsbäcker, S., Larsson, P., Wollmer, P., 2002. Gut delivery of budesonide, a locally active corticosteroid, from plain and controlled-release capsules. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 14, 1357-1362.
- Jaspart, S., Piel, G., Delattre, L., Evrard, B., 2005. Solid lipid microparticles: formulation, preparation, characterisation, drug release and applications. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2, 75-87.
- Jaspart, S., Bertholet, P., Piel, G., Dogné, J.M., Delattre, L., Evrard, B., 2007. Solid lipid microparticles as a sustained release system for pulmonary drug delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 65, 47-56.
- Javadzadeh, Y., Yaqoubi, S., 2017. Therapeutic nanostructures for pulmonary drug delivery. In: E. Andronescu, AM. Grumezescu (eds.), *Nanostructures for Drug Delivery* (pp. 619-638), Elsevier.
- Jiang, B., Ruan, Z., Chen, J., Lou, H., Shao, R., Jin, F., Shen, H., 2016. Pharmacokinetic properties and bioequivalence of orally inhaled salbutamol in healthy Chinese volunteers. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 42, 1476-1481.
- Jones, R.M., Harrison, A., 2012. A new methodology for predicting human pharmacokinetics for inhaled drugs from orotracheal pharmacokinetic data in rats. *Xenobiotica.* 42, 75-85.

Jones, H.M., Parrott, N., Jorga, K., Lavé, T., 2006. A novel strategy for physiologically based predictions of human pharmacokinetics. *Clin. Pharmacokinet.* 45, 511-542.

Lechanteur, A., Evrard, B., 2020. Influence of composition and spray-drying process parameters on carrier-free DPI properties and behaviors in the lung: a review. *Pharmaceutics.* 12, 55.

Lipworth, B.J., 1996. Pharmacokinetics of inhaled drugs. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 42, 697-705.

Longest, P.W., Bass, K., Dutta, R., Rani, V., Thomas, M.L., El-Achwah, A., Hindle, M., 2019a. Use of computational fluid dynamics deposition modeling in respiratory drug delivery. *Expert Opin. Drug Deliv.* 16, 7-26.

Longest, W., Farkas, D., Bass, K., Hindle, M., 2019. Use of computational fluid dynamics (CFD) dispersion parameters in the development of a new DPI actuated with low air volumes. *Pharm. Res.* 36, 1-17.

Mezzena, M., Scalia, S., Young, P.M., Traini, D., 2009. Solid lipid budesonide microparticles for controlled release inhalation therapy. *AAPS J.* 11, 771-778.

Milenkovic, J., Alexopoulos, A.H., Kiparissides, C., 2014. Deposition and fine particle production during dynamic flow in a dry powder inhaler: A CFD approach. *Int. J. Pharm.* 461, 129-136.

Milenkovic, J., Alexopoulos, A.H., Kiparissides, C., 2017. Optimization of a DPI inhaler: a computational approach. *J. Pharm. Sci.* 106, 850-858.

Miller, N.A., Reddy, M.B., Heikkinen, A.T., Lukacova, V., Parrott, N., 2019. Physiologically based pharmacokinetic modelling for first-in-human predictions: an updated model building strategy illustrated with challenging industry case studies. *Clin. Pharmacokinet.* 58, 727-746.

Miller, N.A., Graves, R.H., Edwards, C.D., Amour, A., Taylor, E., Robb, O., O'Brien, B., Patel, A., Harrell, A.W., Hessel, E.M., 2022. Physiologically based pharmacokinetic modelling of inhaled nemiralisib: mechanistic components for pulmonary absorption, systemic distribution, and oral absorption. *Clin. Pharmacokinet.* 61, 281-293.

Muddle, J., Kirton, S.B., Parisini, I., Muddle, A., Murnane, D., Ali, J., Brown, M., Page, C., Forbes, B., 2017. Predicting the fine particle fraction of dry powder inhalers using artificial neural networks. *J. Pharm. Sci.* 106, 313-321.

Nguyen, D., Remmelgas, J., Björn, I.N., van Wachem, B., Thalberg, K., 2018. Towards quantitative prediction of the performance of dry powder inhalers by multi-scale simulations and experiments. *Int. J. Pharm.* 547, 31-43.

Pinto, J.T., Cachola, I., F. Pinto, J., Paudel, A., 2021. Understanding carrier performance in low-dose dry powder inhalation: an in vitro–in silico approach. *Pharmaceutics.* 13, 297.

Radivojev, S., Zellnitz, S., Paudel, A., Froehlich, E., 2019. Searching for physiologically relevant in vitro dissolution techniques for orally inhaled drugs. *Int. J. Pharm.* 556, 45-56.

Radivojev, S., Luschin-Ebengreuth, G., Pinto, J.T., Laggner, P., Cavecchi, A., Cesari, N., Cella, M., Melli, F., Paudel, A., Fröhlich, E., 2021. Impact of simulated lung fluid components on the solubility of inhaled drugs and predicted in vivo performance. *Int. J. Pharm.* 606, 120893.

- Rao, M.P., Manjunath, K., Bhagawati, S.T., Thippeswamy, B.S., 2014. Bixin loaded solid lipid nanoparticles for enhanced hepatoprotection—preparation, characterization and in vivo evaluation. *Int. J. Pharm.* 473, 485-492.
- Ryrfeldt, Å., Andersson, P., Edsbäcker, S., Tönnesson, M., Davies, D., Pauwels, R., 1982. Pharmacokinetics and metabolism of budesonide, a selective glucocorticoid. *Eur. J. Respir. Dis. Suppl.* 122, 86-95.
- Salar-Behzadi, S., Wu, S., Mercuri, A., Meindl, C., Stranzinger, S., Fröhlich, E., 2017. Effect of the pulmonary deposition and in vitro permeability on the prediction of plasma levels of inhaled budesonide formulation. *Int. J. Pharm.* 532, 337-344.
- Sanna, V., Kirschvink, N., Gustin, P., Gavini, E., Roland, I., Delattre, L., Evrard, B., 2004. Preparation and in vivo toxicity study of solid lipid microparticles as carrier for pulmonary administration. *AAPS PharmSciTech.* 5, 17-23.
- Scalia, S., Salama, R., Young, P., Traini, D., 2012. Preparation and in vitro evaluation of salbutamol-loaded lipid microparticles for sustained release pulmonary therapy. *J Microencapsul.* 29, 225-233.
- Scalia, S., Young, P.M., Traini, D., 2015. Solid lipid microparticles as an approach to drug delivery. *Expert Opin. Drug. Deliv.* 12, 583-599.
- Sun, Y., Qin, L., Liu, C., Su, J., Zhang, X., Yu, D., Guo, C., Lu, H., Li, L., Xiong, W., Mao, S., 2020. Exploring the influence of drug content on DPI powder properties and potential prediction of pulmonary drug deposition. *Int. J. Pharm.* 575, 119000.
- Velaga, S.P., Djuris, J., Cvijic, S., Rozou, S., Russo, P., Colombo, G., Rossi, A., 2018. Dry powder inhalers: an overview of the in vitro dissolution methodologies and their correlation with the biopharmaceutical aspects of the drug products. *Eur. J. Pharm. Sci.* 113, 18-28.
- Vulović, A., Šušteršič, T., Cvijić, S., Ibrić, S., Filipović, N., 2018. Coupled in silico platform: computational fluid dynamics (CFD) and physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) modelling. *Eur. J. Pharm. Sci.* 113, 171-184.
- Wang, H., Ordoubadi, M., Connaughton, P., Lachacz, K., Carrigy, N., Tavernini, S., Martin, A.R., Finlay, W.H., Lechuga-Ballesteros, D., Vehring, R., 2022. Spray dried rugose lipid particle platform for respiratory drug delivery. *Pharm. Res.* 39, 805-823.
- Wu, J., Ding, C., Ge, Q., Li, Z., Zhou, Z., Zhi, X., 2011. Simultaneous determination of ipratropium and salbutamol in rat plasma by LC–MS/MS and its application to a pharmacokinetic study. *J. Chromatogr. B.* 879, 3475-3483.
- Xi, J., Si, X., Zhou, Y., Kim, J., Berlinski, A., 2014. Growth of nasal and laryngeal airways in children: implications in breathing and inhaled aerosol dynamics. *Respir. Care.* 59, 263-273.
- Yang, J.Z., Young, A.L., Chiang, P.C., Thurston, A., Pretzer, D.K., 2008. Fluticasone and budesonide nanosuspensions for pulmonary delivery: preparation, characterization, and pharmacokinetic studies. *J. Pharm. Sci.* 97, 4869-4878.

Yıldız-Peköz, A., Ehrhardt, C., 2020. Advances in pulmonary drug delivery. *Pharmaceutics*. 12(10), 911.

Zheng, Z., Leung, S.S.Y., Gupta, R., 2021. Flow and particle modelling of dry powder inhalers: methodologies, recent development and emerging applications. *Pharmaceutics*. 13, 189.

4. ОБЈАВЉЕНИ И САОПШТЕНИ РЕЗУЛТАТИ КОЈИ ЧИНЕ ДЕО ДИСЕРТАЦИЈЕ

Рад објављен у међународном часопису изузетних вредности (M21a)

1. Shi, C., Ignjatović, J., Liu, T., Han, M., Cun, D., Đuriš, J., Yang, M., Cvijić, S., 2021. In vitro-in vivo-in silico approach in the development of inhaled drug products: nanocrystal-based formulations with budesonide as a model drug. *Asian J Pharm Sci*. 16, 350-362. (IF 2021: 9,289; 19/279; област: *Pharmacology & Pharmacy*)

Радови објављени у врхунским међународним часописима (M21)

1. Ignjatović, J., Šušteršič, T., Bodić, A., Cvijić, S., Đuriš, J., Rossi, A., Dobričić, V., Ibrić, S., Filipović, N., 2021. Comparative assessment of in vitro and in silico methods for aerodynamic characterization of powders for inhalation. *Pharmaceutics*. 13, 1831. (IF 2021: 6,525; 39/279; област: *Pharmacology & Pharmacy*)
2. Ignjatović, J., Đuriš, J., Cvijić, S., Dobričić, V., Montepietra, A., Lombardi, C., Ibrić, S., Rossi, A., 2021. Development of solid lipid microparticles by melt-emulsification/spray-drying processes as carriers for pulmonary drug delivery. *Eur J Pharm Sci*. 156, 105588. (IF 2021: 5,112; 74/279; област: *Pharmacology & Pharmacy*)

Саопштења са међународних скупова штампана у целини (M33)

1. Ignjatović, J., Šušteršič, T., Cvijić, S., Bodić, A., Đuriš, J., Ibrić, S., Filipović, N., 2021. Comparative assessment of computational vs. in vitro methods for the estimation of dry powders for inhalation emitted fraction. 21st IEEE International Conference on BioInformatics and BioEngineering. 25-27. oktobar 2021, Kragujevac, Srbija.
2. Ignjatović, J., Šušteršič, T., Cvijić, S., Bodić, A., Đuriš, J., Ibrić, S., Filipović, N., 2021. Computational vs. in vitro approach to predict aerodynamic performance of dry powders for inhalation. 1st International Conference on Chemo and BioInformatics ICCBIKG 2021. 26-27. oktobar 2021, Kragujevac, Srbija.

Саопштења са међународних скупова штампана у изводу (M34)

1. Ignjatovic, J., Han, M., Cun, D., Yang, M., Djuris, J., Ibric, S., Nikolic, I., Cvijic, S., 2017. In silico modelling of salbutamol deposition and absorption following intravenous and inhalation administration in rats. 7th BBBB International Conference on Pharmaceutical Sciences. 5-7. oktobar 2017, Balaton, Mađarska. Acta Pharm. Hung. 87, 158.
2. Ignjatovic, J., Cvijic, S., Goracinova, K., Dobricic, V., Djuris, J., 2018. QbD approach to development of solid lipid microparticles as dry powders for inhalation. 12th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology. 20-22. septembar 2018, Segedin, Mađarska. Acta Pharm. Hung. 88, 132.
3. Ignjatović, J., Djuriš, J., Ibrić, S., Parojčić, J., Cvijić, S., 2018. Mechanistic interpretation of budesonide deposition and absorption in rats using in silico tools. 12th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology. 20-22. septembar 2018, Segedin, Mađarska. Acta Pharm. Hung. 88, 186-187.
4. Ignjatović, J., Cvijić, S., Đuriš, J., 2020. Spray vs freeze-dried solid lipid microparticles: Challenges in development. II. Symposium of Young Researchers on Pharmaceutical Technology, Biotechnology and Regulatory Science. 23-24. januar 2020, Segedin, Mađarska. Book of Abstracts, 7.
5. Ignjatović, J., Shi, C., Cun, D., Đuriš, J., Yang, M., Cvijić, S., 2021. In vitro-in silico approach in the assessment of drug deposition and absorption following intratracheal insufflation of an ordered mixture in rats. 12th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology (PBP). 11-14. maj 2021. Online (virtual event).

Саопштења са скупа националног значаја штампана у изводу (M64)

1. Ignjatović, J., Han, M., Cun, D., Yang, M., Đuriš, J., Parojčić, J., Cvijić, S., 2018. In vitro/in silico pristup za procenu depozicije i apsorpcije inhalaciono primenjenih lekova kod pacova: studija slučaja. VII Kongres farmaceuta Srbije sa međunarodnim učešćem. 10-14. oktobar, 2018, Beograd, Srbija. Arh. farm. 68, 606-607.
2. Ignjatović, J., Cvijić, S., Dobričić, V., Ibrić, S., Đuriš, J., 2018. Aerodinamičko određivanje frakcije sitnih čestica praškova za inhalaciju formulisanih u obliku lipidnih mikročestica. VII Serbian Congress of Pharmacy with international participation. 10-14. oktobar 2018, Beograd, Srbija. Arh. farm. 68, 608-609.

5. ЗАКЉУЧАК – ОБРАЗЛОЖЕЊЕ НАУЧНОГ ДОПРИНОСА ДИСЕРТАЦИЈЕ

Кандидат, магистар фармације Јелисавета Игњатовић је резултатима приказаним у оквиру своје докторске дисертације дала значајан допринос развоју лекова за инхалациони пут

примене, као и проширивању сазнања везаних за примену различитих метода за *in vitro* и *in silico* карактеризацију специфичних типова носача (микрочестице формулисане у облику прашкова за инхалацију). Иако је инхалациона примена лекова већ препозната као корисна и заступљена у пракси, могућност развоја прашкова за инхалацију са модификованим ослобађањем лековите супстанце и даље представља непознаницу, а терапијски потенцијал је изузетно значајан.

Имајући у виду строге и специфичне захтеве који се односе на развој формулација прашкова за инхалацију, изазов истраживања у оквиру ове докторске дисертације представљала је потреба да се обезбеде, са једне стране, неопходне аеродинамичке карактеристике формулација и, са друге стране, модификовано ослобађање лековите супстанце. Поред тога, методе за *in vitro* карактеризацију аеродинамичких карактеристика нису усаглашене у различитим регулаторним и литературним изворима, те су у оквиру експерименталног рада упоређени, како резултати *in vitro* испитивања различитим методама, тако и резултати ових метода са вредностима предвиђеним помоћу *in silico* симулација. Један од најзначајнијих резултата ове дисертације представља критички осврт на фармакопејске методе и препознавање могућности успостављања корелације између релативно једноставног мерења у двофазном стакленом импинцеру и знатно комплекснијем импактору нове генерације.

Примењени приступ *PBPK* моделовања депозиције, апсорпције и расподеле инхалационо примењених лековитих супстанци представља пионирски подухват са различитих аспеката. Наиме, у овој дисертацији је први пут описан приступ моделовања биоперформанси инхалационих лекова са модификованим ослобађањем лековитих супстанци, као и поступак скалирања, односно, комбиноване примене *PBPK* модела за експерименталну животињу и за човека како би се процениле биоперформансе лекова за инхалацију и утврдили кључни механизми који утичу на процесе којима инхалирани лек подлеже у организму. При томе је показано да поменути механизми зависе и од биофармацеутских својстава лековитих супстанци (нпр. растворљивост), као и од карактеристика формулације (аеродинамичке карактеристике честица, адхезивна својства итд). Нарочито су значајни резултати *PBPK* моделовања који указују на то да се инхалационом применом прашкова липидних микрочестица са салбутамол-сулфатом могу постићи извесне предности у терапији у односу на инхалациону примену препарата са тренутним ослобађањем лековите супстанце, и то: продужено растварање и апсорпција лековите супстанце из плућа, што указује на могућност ређе дозирања препарата, па тиме и повећање комплијансе пацијената; комплетнија депозиција лека у плућима и мањи обим апсорпције преко гастроинтестиналног тракта, што омогућава примену нижих доза лековите супстанце и, последично, смањење потенцијалних нежељених дејстава.

Изузетан научни допринос ове дисертације огледа се у свеобухватном приступу развоју комплексног носача за специфичан пут примене лекова, који је подржан елементима *QbD* приступа и напредних *in silico* метода, и као такав представља огледни пример за развој будућих сличних производа у фармацеутској индустрији.

6. ПРОВЕРА ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Коришћењем програма *iThenticate* у Универзитетској библиотеци Светозар Марковић извршена је провера оригиналности ове докторске дисертације. Добијена вредност за *similarity index* износи 9%, и последица је навођења личних имена, цитата, конструкција коришћених у опису методологије и фраза које се уобичајено користе у описивању и тумачењу резултата истраживања, као и претходно публикованих резултата истраживања кандидата који су проистекли из ове докторске дисертације, што је све у складу са чланом 9 Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду. На основу наведеног, може се закључити да приложена докторска дисертација кандидата маг. фарм. Јелисавете Игњатовић представља оригинално научно дело.

7. ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ ЗА ОЦЕНУ ЗАВРШЕНЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

На основу изложеног, Комисија закључује да докторска дисертација кандидата магистра фармације Јелисавете Игњатовић, чија је израда одобрена на седници Већа научних области медицинских наука Универзитета у Београду (Одлука бр. 61206-3761/2-20 од 08.12.2020. године), задовољава се критеријуме оригиналног и адекватно написаног научног дела. Кандидаткиња је успешно реализовала постављене циљеве истраживања, а резултати приказани у овој докторској дисертацији представљају значајан научни допринос у области фармацеутске технологије.

Резултати докторске дисертације су публиковани у три рада у међународним часописима, од којих један у међународном часопису изузетних вредности (M21a) и два у врхунском међународном часопису (M21), затим два саопштења са међународних скупова штампана у целини (M33), пет саопштења са међународних скупова штампана у изводу (M34) и два саопштења са скупа националног значаја штампана у изводу (M64).

Комисија у наведеном саставу позитивно оцењује докторску дисертацију магистра фармације Јелисавете Игњатовић под називом **„Развој формулације и *in vitro/in silico* карактеризација прашкова за инхалацију са модификованим ослобађањем лековитих супстанци различитих биофармацеутских својстава“** и предлаже Наставно-научном већу Фармацеутског факултета Универзитета у Београду да прихвати овај извештај о завршеној докторској дисертацији и упути га Већу научних области медицинских наука, ради добијања сагласности за јавну одбрану докторске дисертације.

Чланови Комисије:

Др сц Светлана Ибрић, редовни професор,
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет

Др сц Ненад Филиповић, редовни професор,
Универзитет у Крагујевцу – Факултет инжењерских наука

Др сц Владимир Добричић, ванредни професор,
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет