

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ ФАКУЛТЕТА ЗА ФИЗИЧКУ ХЕМИЈУ

Предмет: Извештај комисије за оцену и одбрану урађене докторске дисертације кандидата мастер физикохемичара Зоране Рогих Миладиновић.

Одлуком Наставно-научног већа Факултета за физичку хемију са VII редовне седнице одржане 7. априла 2022. године именовани смо за чланове Комисије за оцену и одбрану урађене докторске дисертације кандидата **мастер физикохемичара Зоране Рогих Миладиновић**, под насловом: **Испитивање температурне осетљивости радијационо синтетисаних кополимерних хидрогелова олиго(пропилен-гликол)-метакрилат**.

Израда докторске дисертације под наведеним насловом одобрена је одлуком Наставно-научног већа са IX редовне седнице од 16. јуна 2016. године. На основу те одлуке, Веће научних области природних наука Универзитета у Београду је на седници одржаној 2. фебруара 2017. године, дало сагласност да се прихвати предложена тема докторске дисертације.

На основу прегледа и анализе докторске дисертације кандидата, Комисија подноси Наставно-научном већу Факултета за физичку хемију Универзитета у Београду следећи

ИЗВЕШТАЈ

А. Приказ садржаја докторске дисертације

Докторска дисертација кандидата маст. физ.-хем. Зоране Рогих Миладиновић садржи 83 стране куцаног текста, у складу са упутством за обликовање докторске дисертације Универзитета у Београду. Састоји се из следећих поглавља: **Општи део** (23 стране), **Експериментални део** (12 страна), **Предмет и циљ рада** (1 страна), **Резултати и дискусија** (31 страна), **Закључак** (2 стране), **Референце** (12 страна са 232 литературна навода), **Биографија** (1 страна), **Библиографија** (1 страна). Поред наведеног, дисертација садржи и: **Насловну страну** на српском (1 страна) и енглеском (1 страна) језику, **Страну са менторима и члановима комисије** (1 страна), **Резиме** на српском (2 стране) и енглеском (2 стране) језику, **Захвалницу** (1 страна), **Садржај** (2 стране), **Изјаву о ауторству** (1 страна), **Изјаву о истовестности штампане и електронске верзије докторског рада** (1 страна) и **Изјаву о коришћењу** (2 стране).

Докторска дисертација садржи укупно 40 слика (од тога 7 слика је преузето и прилагођено из литературе) и 5 табела (са властитим резултатима).

У поглављу **Општи део** описани су типови биоматеријала, односно хидрогелова, радијациона синтеза као једна од метода за добијање „паметних“ хидрогелова, а који су

предмет истраживања ове докторске дисертације. Такође, кроз текст поглавља **Општи део** дат је и кратак преглед претходних истраживања која су од интереса за предмет истраживања ове докторске дисертације.

Поглавље **Експериментални део** садржи две целине. У првој целини су детаљно описани материјали коришћени за синтезу и карактеризацију хидрогелова. У другој целини су детаљно описане физичкохемијске методе које су коришћене за карактеризацију хидрогелова. Коришћене су: спектроскопске, гравиметријске, термалне и морфолошке методе, са циљем да се утврди корелација морфологије и термичких својстава хидрогелова.

Поглавље **Предмет и циљ рада** садржи у кратким цртама, идеју ове тезе, а то је да се променом удела кополимерних компоненти познатих карактеристика изврши фино подешавање температуре запреминског фазног прелаза добијеног хидрогела у оквиру физиолошких температура са крајњим циљем даље примене хидрогела у биомедицини.

Поглавље **Резултати и дискусија** је подељено на четири целине. У првој целини је представљен успешан поступак радијационе синтезе хидрогелова на бази олиго(пропилен гликол) метакрилата. Друга целина обухвата резултате добијене за прву серију хидрогелова коју чине кополимерни хидрогелови олиго(пропилен гликол) метакрилата (OPGMA) са 2-хидроксиетил метакрилатом (HEMA) и итаконском киселином (IA) која обезбеђује добар рН одзив и пораст степена бубрења. Трећа целина обухвата другу серију хидрогелова коју чине температурно осетљиви хидрогелови са олиго(пропилен гликол) и олиго(етилен гликол) висећим ланцима, синтетисаних са циљем да се испита утицај хидрофобних пропилен гликолних (PG) и хидрофилних етилен гликолних (EG) јединица везаних унутар истог висећег ланца на њихову температурну осетљивост. Четврту целину чини трећа серија хидрогелова: температурно осетљиви кополимерни хидрогелови са иницијално различитим моларним уделима мономера, олиго(пропилен гликол) метакрилата и олиго(етилен гликол) метакрилата.

Поглавље **Закључак** по ставкама сумира резултате и закључке истраживања обухваћених докторском дисертацијом.

У поглављу **Референце**, у складу са упутством за обликовање докторске дисертације, наведена је литература по редоследу појављивања у тексту.

У поглављу **Биографија** дата је кратка биографија кандидата.

Поглавље **Библиографија** даје увид у списак објављених радова кандидата који чине докторску дисертацију.

Б. Опис резултата докторске дисертације

Предмет истраживања у овој докторској дисертацији је радијациона синтеза температурно осетљивих хидрогелова на бази олиго(пропилен гликол) метакрилата (OPGMA), евалуација физичкохемијских особина добијених хидрогелова и испитивање њихове биокомпатибилности.

Целокупни резултати у оквиру ове докторске дисертације добијени су применом неколико физичкохемијских и биолошких метода. Од физичкохемијских метода коришћене су: скенирајућа електронска микроскопија (SEM), инфрацрвена

спектроскопија са Фуријеовом трансформацијом (ФТИЦ), спектроскопија у ултраљубичастој и видљивој области спектра (Уљ-Вид) и диференцијална скенирајућа калориметрија (ДСК). Тест цитотоксичности и тест хемолитичке активности су биолошке методе примењене са циљем да се испита биокомпатибилност синтетисаних хидрогелова.

Главни део истраживања у оквиру ове докторске дисертације односи се на добијање нових класа „паметних“ хидрогелова подобних за биомедицинска истраживања, радијационом кополимеризацијом молекула OPGMA, као молекула изражене хидрофобности на температурама вишим од око 15 °C, са хидрофилнијим компонентама.

У оквиру ове дисертације примењена је метода радикалне кополимеризације мономера и умрежавање мономера индуковано гама зрачењем у циљу добијања температурно осетљивих хидрогелова. Испитан је утицај промене удела кополимерних компоненти познатих карактеристика на померање температуре запреминског фазног прелаза (енг. *volume phase transition temperature*, VPTT) добијеног хидрогела ка физиолошким температурама са циљем даље примене хидрогела у биомедицини.

Синтеза хидрогелова је успешно изведена применом гама зрачења из извора ⁶⁰Co. Конверзија мономера у гел фазу током реакције умрежавања је скоро комплетна за све синтетисане хидрогелове. Добијени су високи степени гелирања (> 90%) при условима синтезе који подразумевају умрежавање хидрогелова у раствору вода/етанол при брзини зрачења од 0.5 kGy/h и укупној апсорбованој дози од 25 kGy и уз етилен гликол диметакрилат (EGDMA) као умреживач.

Кополимеризацијом хидрофобног OPGMA мономера и температурски неосетљиве и нешто хидрофилније компоненте, НЕМА, са малим уделом итаконске киселине (2 и 4 wt%) добијен је први сет кополимерних хидрогелова P(OPGMA/НЕМА/IA) за које је поред температурске осетљивости, добијен и значајан одзив на промену рН вредности средине. Осим што за рН вредности изнад константи дисоцијације итаконске киселине равнотежни степени бубрења расту са порастом удела киселине, уочено је и да P(OPGMA/НЕМА/IA) кополимерни хидрогелови имају добре морфолошке и термалне карактеристике. Такође, P(OPGMA/НЕМА/IA4) хидрогел показује температурски прелаз на 37.8 °C из анализе бубрења, односно 38.4 °C из DSC мерења, који одговара физиолошким вредностима што омогућава њихову потенцијалну примену у биомедицини.

Други сет хидрогелова чине метакрилатни хидрогелови са олиго(пропилен гликол) и олиго(етилен гликол) висећим ланцима, PPG₆EG₃МА и PPG₃EG₆МА, чијим испитивањем је утврђено да су температурски осетљиви. Иако рН неосетљиви, на температурама нижим од запреминског температурског прелаза, њихова рН осетљивост постаје уочљива приближавањем VPTT. Стога, највероватније због незнатно јачих интеракција EG и PG група са хидроксилним јонима или протонима него са водом, уочава се да рН има знатан утицај у близини VPTT. На температурама вишим од VPTT доминира хидрофобно понашање хидрогелова, па тако бубрење и рН осетљивост постају занемарљиви. Присуство етилен гликола, компоненте далеко хидрофилније од пропилен гликола, условио је појаву већег степена бубрења, као и појаву температурског прелаза неколико степени изнад физиолошких вредности температура. Поред високе ћелијске одрживости и ниске хемолитичке активности које указују на то да PPG₆EG₃МА и PPG₃EG₆МА хидрогелови задовољавају *in vitro* биокомпатибилност,

овакви хидрогелови су занимљиви са становишта њихове потенцијалне примене као носача у магнетној и/или фототермалној хипертермијској терапији за лечење рака.

Трећу серију чине кополимерни P(OPGMA/OEGMA) хидрогелови са различитим моларним уделима OPGMA и OEGMA мономера. Њиховим испитивањем уочен је тренд да са порастом удела EG висећих ланаца у иницијалној смеши, долази до линеарног пораста температуре запреминског прелаза. Оваква зависност VPTT од хемијског састава хидрогела је од изузетног значаја јер омогућава да се у складу са потенцијалном применом и захтеваним температурама прелаза, из ове зависности прочита и тачан однос мономера у саставу хидрогела који ће задовољити постављени услов. Посматрајући из угла потенцијалне примене хидрогелова као носача за отпуштање лекова и других активних супстанци, може се закључити да су од интереса управо хидрогелови са уделом OEGMA мономера од око 42 mol%. Наиме, разлика између добијених вредности за равнотежни степен бубрења на температури упијања лека за коју је степен бубрења за дати кополимер највећи, и равнотежни степен бубрења на експериментално одабраној температури отпуштања лека, указује на то да је потенцијал отпуштања лека највећи за хидрогел са уделом OEGMA мономера од 42 mol%. Уопштено, анализом је утврђено да је процес отпуштања лека условљен саставом хидрогела.

Испитивани температурно осетљиви хидрогелови PPG₆EG₃MA, PPG₃EG₆MA и P(OPGMA/OEGMA) су се показали као системи погодни за уградњу активних супстанци и за потенцијалну примену у системима за контролисано отпуштање натријум диклофенака коришћеног као модел-лек. Ови хидрогелови могу апсорбовати довољне количине лека, и у исто време, услед њихових дуготрајних профила отпуштања, обезбеђују континуално ослобађање лека дужи временски период. Анализом профила отпуштања може се закључити да је динамика отпуштања лека условљена саставом хидрогела код обе серије хидрогелова. Брзина отпуштања лека расте са уделом EG јединица у саставу хидрогела. Способност испитиваних хидрогелова да отпуштају лек контролисаном брзином, која директно зависи од избора састава хидрогела, чини их погодним носачима у системима за контролисано отпуштање лекова.

В. Упоредна анализа резултата докторске дисертације са подацима из литературе

Поли(*N*-изопропил акриламид) (PNIPAM) представља далеко најиспитиванији температурно осетљиви полимер. Иако интресантан због вредности ниже критичне температуре раствања (енг. *lower critical solution temperature*, LCST) на који не утиче промена концентрације или јонске јачине раствора, вредности која је блиска физиолошким температурама (око 32 °C) и готово тренутној промени трансмитанце са температуром, оспособљавање PNIPAM за примену у биомедицини подразумева померање вредности LCST ка вишим температурама (углавном између 38 и 42 °C), што је временом довело до напретка у истраживању кополимеризације PNIPAM са хидрофилнијим компонентама [1].

PNIPAM са друге стране, поседује озбиљне недостатке: упитну биокомпатибилност, хистерезис фазног прелаза и значајни утицај терминалне групе на температурну осетљивост. Проблем акутне токсичности PNIPAM мономера као и

хронична токсичност продуката деградације PNIPAM *in vivo* ограничавају његову клиничку примену [2]. Стога, полимери на бази олиго(алкилен гликол) метакрилата (OAGMA) представљају потенцијалну алтернативу PNIPAM за дизајнирање хидрогелова за биомедицинску примену, најпре због подесиве LCST и добре биокомпатибилности [3].

Посматрано са становишта температурно осетљивих материјала, постоји велико интересовање за ко(полимерне) структуре са кратким олиго(алкилен гликол) (OAG) бочним ланцима, тј. нелинеарним PEG/PPG аналозима [4]. Последњих неколико деценија, различити температурно осетљиви полимери су такође препоручени за примену у биомедицини, али је само поли(етилен гликол) (PEG) постигао сличан ниво популарности као PNIPAM [4]. За разлику од токсичности која се приписује биоматеријалима на бази PNIPAM, PEG структуре су не-имуногене и не-цитотоксичне. Успех њихове примене потиче од способности да смање адсорпцију протеина и ћелија, па самим тим и инфламаторне одговоре у односу на већину других тестираних материјала. Такође, хидрогелови и продукти разградње биоматеријала на бази PEG се добро толеришу *in vivo* чинећи их погодним за клиничка испитивања [5].

Поли(пропилен гликол) (PPG) је такође члан поли(алкилен гликол) (PAG) групе. Присуство додатне хидрофобне CH_3 групе, у односу на структуру PEG, има за последицу повећану хидрофобност што се одражава у значајном смањењу температуре прелаза одговарајућих PPG структура. Ипак, повећавање односа у корист хидрофилне PEG компоненте доводи до померања температуре прелаза кополимерних структура у опсег физиолошких температура. Тако су данас комерцијално доступни разнолики PEG и PPG кополимери са LCST вредностима од 20 до 85 °C под именима попут плуроника, флоксамера и тетроника [4].

Са друге стране, поли(етилен гликоли) су приметно заступљенији у научним радовима за разлику од поли(пропилен гликола) чије одсуство интересовања научне заједнице је највероватније последица њиховог слабог амфифилног карактера [6]. Стога, постоји свега неколико истраживачких радова који се баве хомополимерним и кополимерним хидрогеловима на бази OPGMA [4]. Температурно осетљив кополимер PEGMEMA-PPGMA-EGDMA је познат случај хидрогела на бази OPGMA. Показало се да има потенцијал као фотополимеризациони материјал за *in situ* инжењеринг ткива и носач за отпуштање лекова. Такође, препознат је као потенцијално ињектибилан хидрогел, чији је основни недостатак биоразградивост при физиолошким условима приписан EGDMA мономеру [7].

У претходном раду наше истраживачке групе [8], синтеза и особине хомополимерног POPGMA са OPG висећим ланцима, као нелинеарним PPGMA-аналогом, је публикован први пут. Уочена је висока сол-гел конверзија, чак и за мале дозе, што је указало на ефикасност радијационо индуковане радикалне полимеризације чинећи је пожељном, брзом и јефтиним методологијом за умрежавање хидрогелова на бази OPGMA. Такође, POPGMA хидрогел је показао задовољавајућу биокомпатибилност, али температурна осетљивост и промене у степену бубрења су уочене углавном испод собне температуре (око 15 °C), ограничавајући тако његову потенцијалну примену за биомедицинска истраживања. Дакле, да би хидрогелови на бази OPGMA могли да нађу примену у биомедицини, неопходно је померити њихове температуре прелаза ка вишим температурама кополимеризацијом са неким хидрофилнијим мономером који поседује температурну осетљивост.

У најновијем раду *Wanka и сарадника* [9] чија је тема потрага за техничким решењима који се тичу адхезије нечистоћа, зооспора, и бактерија у морској средини, поли(етилен гликол) метакрилат је препознат као добро решење због своје инертности и способности да задржи воду у форми хидрогела. Ипак, истовремено је показао и велики афинитет ка привлачењу нечистоћа, што има за последицу смањење биорепулсивних карактеристика. У истој студији, поли(пропилен гликол) метакрилат се истакао мањим степеном бубрења и скоро никаквом адхезијом нечистоћа на основу чега је предложено његово укључивање у даље испитивање амфибилних превлака које би имале особину одбијања нечистоћа са површине материјала.

1. Seo, J.W. and U.S. Shin, *Ionic thermo- responsive copolymer with multi LCST values: easy and fast LCST- change through anion exchange*. *Polymers for Advanced Technologies*, 2016. **27**(4): p. 486-493.
2. Cooperstein, M.A. and H.E. Canavan, *Assessment of cytotoxicity of (N-isopropyl acrylamide) and poly (N-isopropyl acrylamide)-coated surfaces*. *Biointerphases*, 2013. **8**(1): p. 19.
3. Smeets, N.M., et al., *Injectable poly (oligoethylene glycol methacrylate)-based hydrogels with tunable phase transition behaviours: Physicochemical and biological responses*. *Acta biomaterialia*, 2014. **10**(10): p. 4143-4155.
4. Roy, D., W.L. Brooks, and B.S. Sumerlin, *New directions in thermoresponsive polymers*. *Chemical Society Reviews*, 2013. **42**(17): p. 7214-7243.
5. Smeets, N.M., et al., *Injectable and tunable poly (ethylene glycol) analogue hydrogels based on poly (oligoethylene glycol methacrylate)*. *Chemical Communications*, 2014. **50**(25): p. 3306-3309.
6. Loh, X.J., *Poly (DMAEMA- co- PPGMA): Dual- responsive "reversible" micelles*. *Journal of applied polymer science*, 2013. **127**(2): p. 992-1000.
7. Tochwin, A., et al., *Thermoresponsive and reducible hyperbranched polymers synthesized by RAFT polymerisation*. *Polymers*, 2017. **9**(9): p. 443.
8. Suljovrujic, E. and M. Micic, *Smart poly (oligo (propylene glycol) methacrylate) hydrogel prepared by gamma radiation*. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 2015. **342**: p. 206-214.
9. Wanka, R., et al., *Synthesis and Characterization of Dendritic and Linear Glycol Methacrylates and Their Performance as Marine Antifouling Coatings*. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2021. **13**(5): p. 6659-6669.

Г. Научни радови публиковани из резултата докторске дисертације

Из резултата докторске дисертације кандидата **маст. физ.-хем. Зоране Рогич Миладиновић** објављена су **четири научна рада и једно саопштење са научних скупова: један рад** у врхунском међународном часопису (**M₂₁**) и **три рада** у истакнутим међународним часописима (**M₂₂**). **Саопштење са научних скупова** је са међународних скупова штампано у књигама радова у облику кратког извода (**M₃₄**). Кандидат је први аутор на два рада.

Радови у врхунским међународним часописима (M₂₁):

1. Micic, M., **Rogic Miladinovic, Z.**, and Suljovrujic, E., *Tuning the thermoresponsive properties of poly (oligo (propylene glycol) methacrylate) hydrogels via gradient copolymerization with 2-hydroxyethyl methacrylate*. International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials, 2016. **65**(1): p. 18-27.

<https://doi.org/10.1080/00914037.2015.1055627>

IF(2020) 2,000

Радови у истакнутим међународним часописима (M₂₂):

1. Suljovrujic, E., **Miladinovic, Z.R.**, and Krstic, M., *Swelling properties and drug release of new biocompatible POEGOPGMA hydrogels with VPTT near to the human body temperature*. Polymer Bulletin, 2021. **78**(5): p. 2405-2425.

<https://doi.org/10.1007/s00289-020-03217-0>

IF(2020) 2,870

2. **Miladinovic, Z.R.**, et al., *Smart hydrogels with ethylene glycol propylene glycol pendant chains*. Journal of Polymer Research, 2018. **25**(1): p. 1.

<https://doi.org/10.1007/s10965-017-1408-z>

IF(2020) 3,097

3. **Miladinovic, Z.R.**, Micic, M., and Suljovrujic, E., *Temperature/pH dual responsive OPGMA based copolymeric hydrogels prepared by gamma radiation: an optimisation study*. Journal of Polymer Research, 2016. **23**(4): p. 1-12.

<https://doi.org/10.1007/s10965-016-0975-8>

IF(2020) 3,097

Научна саопштења на међународним скуповима штампана у књигама радова у облику кратког извода (M₃₄):

1. Suljovrujic, E., **Miladinovic, Z.R.**, Milicevic, D., Micic, M., *Temperature responsive hydrogels with ethylene glycol propylene glycol pendant chains*, Eighteenth Annual Conference YUCOMAT, p. 74, Book of Abstracts ISBN 978-86-919111-1-9, Herceg Novi, Montenegro, September 5-10, **2016**.

Д. Провера оригиналности докторске дисертације

Оригиналност докторске дисертације је проверена на начин прописан Правилником о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду („Гласник Универзитета у Београду“ број 201/18 од 22.06.2018).

Помоћу програма *iThenticate* утврђено је да количина подударача текста износи 16%. Овај степен подударности последица је коришћења уобичајених термина и кратких фраза типичних за област у коју спада ова дисертација, затим навођења библиографских података, личних имена и претходно публикованих резултата кандидата, који су

проистекли из његове докторске дисертације, што је све у складу са чланом 9. поменутог Правилника. Мале измене унете у тезу након провере оригиналности не утичу на утврђени степен подударности.

На основу свега изнетог, Комисија сматра да извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Б. Закључак комисије

На основу изложеног, Комисија закључује да резултати кандидата Зоране Рогих Миладиновић, приказани у оквиру докторске дисертације представљају оригиналан и значајан допринос области физичке хемије. Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију кандидата Зоране Рогих Миладиновић, под насловом:

**„ Испитивање температурне осетљивости радијационо синтетисаних
кополимерних хидрогелова олиго(пропилен-гликол)-метакрилат“**

и предлаже Наставно-научном већу Факултета за физичку хемију Универзитета у Београду да докторску дисертацију прихвати и одобри њену јавну одбрану, чиме би били испуњени услови да кандидат стекне звање доктор физичкохемијских наука.

У Београду,

9. 5. 2022. године

Комисија

др Никола Цвјетићанин, редовни професор,
Факултет за физичку хемију, Универзитет у Београду

др Милош Мојовић, редовни професор,
Факултет за физичку хемију, Универзитет у Београду

др Един Суљоврујић, научни саветник,
Институт за нуклеарне науке „Винча“, Институт од националног значаја
за Републику Србију, Универзитет у Београду