

Predmet: Referat o urađenoj doktorskoj disertaciji kandidata Jelene Spasojević

Odlukom br. 35/280 od 26. 05. 2016 godine, imenovani smo za članove Komisije za pregled, ocenu i odbranu doktorske disertacije kandidata Jelene Spasojević pod naslovom „*Radijaciono-hemijska sinteza termo- i pH-oseljivih antibakterijskih srebro/poli(N-izopropilakrilamid-ko-itakonska kiselina) nanokompozita*“. Posle pregleda dostavljene Disertacije i drugih pratećih materijala i razgovora sa Kandidatom, Komisija je sačinila sledeći

REFERAT

1. UVOD

1.1. Hronologija odobravanja i izrade disertacije

Školske 2010/2011 - Kandidat Jelena Spasojević, dipl. inž. tehnologije, upisala je doktorske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu u Beogradu, smer hemijsko inženjerstvo, pod mentorstvom prof. dr Meline Kalagasidis Krušić.

22.05.2015. - Kandidat Jelena Spasojević je prijavila temu za izradu doktorske disertacije na Tehnološko-metalurškom fakultetu, Univerziteta u Beogradu, pod nazivom „Radijaciono-hemijska sinteza termo- i pH-oseljivih antibakterijskih srebro/poli(N-izopropilakrilamid-ko-itakonska kiselina) nanokompozita“.

04.06.2015. - Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta, imenovani su članovi Komisije za ocenu podobnosti teme i kandidata Jelene Spasojević, dipl.inž. tehnologije, za izradu doktorske disertacije i naučne zasnovanosti teme „Radijaciono-hemijska sinteza termo- i pH-oseljivih antibakterijskih srebro/poli(N-izopropilakrilamid-ko-itakonska kiselina) nanokompozita“. Za mentore su predložene dr Melina Kalagasidis Krušić, vanredni profesor Univerziteta u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet i dr Aleksandra Radosavljević, viši naučni saradnik Univerziteta u Beogradu, Institut za nuklearne nauke Vinča (Odluka br. 35/217).

17.09. 2015. - Nastavno-naučno veće Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu donelo je odluku o prihvatanju Referata Komisije za ocenu podobnosti teme i kandidata za izradu doktorske disertacije, Jelene Spasojević, dipl.inž. tehnologije, pod nazivom „Radijaciono-hemijska sinteza termo- i pH-oseljivih antibakterijskih srebro/poli(N-izopropilakrilamid-ko-itakonska

kiselina) nanokompozita“, Za mentore su određene dr Melina Kalagasidis Krušić, vanredni profesor Univerziteta u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet i dr Aleksandra Radosavljević, viši naučni saradnik Univerziteta u Beogradu, Institut za nuklearne nauke Vinča (Odluka br. 35/384).

19.10.2015. - Veće naučnih oblasti tehničkih nauka Univerziteta u Beogradu donelo je odluku o davanju saglasnosti na predlog teme doktorske disertacije kandidata Jelene Spasojević, pod nazivom „Radijaciono-hemijska sinteza termo- i pH-osetljivih antibakterijskih srebro/poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-itakonska kiselina) nanokompozita“, (Odluka br. 61206-4487/2-15).

26.05. 2016. - Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu, imenovana je Komisija za pregled, ocenu i odbranu doktorske disertacije kandidata Jelene Spasojević, pod nazivom „Radijaciono-hemijska sinteza termo- i pH-osetljivih antibakterijskih srebro/poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-itakonska kiselina) nanokompozita“ u sastavu: dr Melina Kalagasidis Krušić (vanredni profesor, Tehnološko-metalurški fakultet), dr Aleksandra Radosavljević (viši naučni saradnik, Institut za nuklearne nauke "Vinča"), dr Marija Nikolić (vanredni profesor, Tehnološko-metalurški fakultet), dr Zorica Kačarević-Popović (naučni savetnik, Institut za nuklearne nauke "Vinča") i dr Nedeljko Milosavljević (naučni saradnik, Univerzitet u Beogradu) (Odluka br. 35/280).

1.2. Naučna oblast disertacije

Istraživanja u okviru ove doktorske disertacije pripadaju naučnoj oblasti Tehnološko inženjerstvo, uža naučna oblast Hemijsko inženjerstvo, za koju je matična ustanova Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu. Za mentore su određene dr Melina Kalagasidis Krušić, vanredni profesor Univerziteta u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet i dr Aleksandra Radosavljević, viši naučni saradnik Univerziteta u Beogradu, Institut za nuklearne nauke Vinča koje su na osnovu oblasti istraživanja, objavljenih publikacija i iskustva kompetentne da rukovode izradom ove doktorske disertacije.

1.3. Biografski podaci o kandidatu

Jelena Spasojević rođena je 06.08.1981. godine u Kruševcu, gde je završila osnovnu i srednju školu. Studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu, smer Organska hemijska tehnologija i polimerno inženjerstvo, upisala je školske 2000/01. godine, a završila u martu 2007. godine sa prosečnom ocenom 8,35 i ocenom 10 na diplomskom radu sa temom „Imobilizacija lipaze iz *Candida Rugosa* u hidrogelove *N*-izopropilakrilamida i itakonske kiseline“.

U periodu od novembra 2007. do decembra 2010. godine bila je zaposlena u Fresenius Medical Care Srbija, Vršac, na poziciji viši stručni saradnik u proizvodnji.

Od februara 2011. godine zaposlena je u Institutu za nuklearne nauke Vinča, Laboratorija za radijacionu hemiju i fiziku "Gama" (lab. 030), na naučno-istraživačkom projektu Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije pod nazivom „Funkcionalni, funkcionalizovani i usavršeni nano materijali“ br. III 45005 (rukovodilac projekta dr Zlatko Rakočević), sa periodom trajanja od 2011-2016. Školske 2010/2011. godine upisala je doktorske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu, studijski program Hemijsko inženjerstvo. Ispite predviđene planom i programom doktorskih studija položila je sa prosečnom

ocenom 10. Završni ispit na doktorskim studijama pod nazivom „Termo- i pH- osetljivi srebro/poli(N-izopropilakrilamid-co-itakonska kiselina) hidrogel nanokompoziti dobijeni radijaciono-hemijskom metodom“ položila je u septembru 2012. godine.

U periodu od 2011.-2015. bila je angažovana na dva međunarodna projekta:

- „*Nanoscale Radiation Engeneering of Advanced Materials for Potential Biomedical applications*“, (IAEA- Coordinated Research Projects F23028); ugovor br. 15384 - Radiolytically Synthesized Hybrid Nanosystems for Bio-Nano-Technology, (rukovodilac za Srbiju dr Zorica Kačarević-Popović) period trajanja od 12.01.2009. do 12.01.2013.

- „*Radiation Curing of Composites for Enhancing their Feature and Utiility in Healthcare and Industry*“, (IAEA- Coordinated Research Projects F22051); ugovor br. 16733 - Radiolytic Synthesis of Nanocomposites Based on Noble Metal Nanoparticles and Natural Polymer, and Their Application as Biomaterial, (rukovodilac za Srbiju dr Aleksandra Radosavljević) period trajanja od 14.03.2011. do 14.03.2015.

Naučno-istraživački rad Jelene Spasojević se odvija pod rukovodstvom dr Aleksandre Radosavljević, višeg naučnog saradnika Instituta za nuklearne nauke „Vinča“, i dr Meline Kalagasidis Krušić, vanrednog profesora Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.

2. OPIS DISERTACIJE

2.1. Sadržaj disertacije

Doktorska disertacija kandidata Jelene Spasojević, dipl. inž. tehnologije, sadrži 192 strana (od kojih je 166 numerisano) u okviru kojih se nalaze 4 poglavlja, sa ukupno 57 slika, 17 tabela i 227 literaturna navoda. Doktorska disertacija sadrži: Uvod i teorijski deo, Eksperimentalni deo, Rezultate i diskusiju, Zaključak, Literaturu i Prilog. Na početku disertacije dati su izvodi na srpskom i engleskom jeziku. Kandidatkinja je uz tekst disertacije priložila biografiju, bibliografiju i dodatke propisane pravilima Univerziteta o podnošenju doktorskih teza na odobravanje. Po svojoj formi i sadržaju, podneti rad zadovoljava sve standarde Univerziteta u Beogradu za doktorsku disertaciju.

2.2. Kratak prikaz pojedinačnih poglavlja

U **Uvodu** su obrazloženi predmet i ciljevi istraživanja koji su obuhvaćeni ovom doktorskom disertacijom. Istaknut je značaj kreiranja novih nanokompozita na bazi termo- i pH- osetljivih hidrogelova i nanočestica srebra, radi dobijanja efikasnih antibakterijskih materijala koji se mogu upotrebiti kao terapijski agensi u tretmanu zarastanja rana.

Teorijski deo se sastoji od 5 podpoglavlja: *Kompozitni materijali, Hidrogelovi, Nanočestice metala, Radijaciono hemijski aspekti sinteze nanokompozitnih materijala i Mogućnosti primene Ag/hidrogel nanokompozita*, u okviru kojih su detaljno opisana osnovna svojstva, fizičko-hemijske karakteristike, mogućnosti sinteze, kao i potencijalna primena nanokompozitnih sistema na bazi hidrogelova kao nosača i nanočestica metala kao punioca.

U delu *Kompozitni materijali* definisani su kompozitni materijali, nanokompozitni materijali i polimerni nanokompoziti, njihove osnovne karakteristike kroz prednosti koje poseduju u odnosu na ostale vrste materijala, kao i mogućnosti njihove primene. U delu *Hidrogelovi* data je definicija, podela i načini sinteze hidrogelova. Kroz pregled literature, objašnjene su osnovne strukturne i fizičko-hemijske karakteristike umreženih polimernih matrica (hidrogelova), sa posebnim osvrtom na sisteme osetljive na spoljašnje stimulanse, a koji se koriste kao sistemi za kontrolisanu dostavu aktivnih supstanci u fiziološkim uslovima. Detaljno su opisani termo- i pH-osetljivi hidrogelovi, mogućnost njihove sinteze i podešavanja osnovnih svojstava promenom udela komonomernih komponenti. Deo *Nanočestice metala* prikazuje opšte karakteristike nanočestica metala, kao i metode sinteze opisane kroz mehanizme formiranja i stabilizacije ovih nanočestica. Imajući u vidu da su nanokompoziti, proučavani u ovoj disertaciji, namenjeni za biomedicinsku primenu, posebna pažnja je posvećena analizi antimikrobnog potencijala nanočestica srebra, i to kroz primenu srebra u medicini kroz istoriju, procenu citotoksičnosti nanočestica srebra, i na kraju mogućnostima primene u kliničkoj praksi baziranim na kliničkim studijama koje su do sada objavljene. Deo *Radijaciono hemijski aspekti sinteze nanokompozitnih materijala* pruža uvid u osnove radijacione hemije. Objasnjeni su osnovni pojmovi i vrste izvora zračenja visoke energije koji se koriste u radijacionoj hemiji. Detaljno su opisani mehanizmi delovanja gama zračenja na materiju, sa akcentom na procese koji se dešavaju u vodenim rastvorima polimera u cilju dobijanja umreženih polimernih matrica (hidrogelova) i procesima redukcije jona srebra pri sintezi nanočestica srebra. Na kraju su prikazane i obrazložene prednosti radiolitičke metode sinteze gama zračenjem, koja je izabrana za sintezu Ag/hidrogel nanokompozita, u odnosu na klasične hemijske metode sinteze. U poslednjem podpoglavlju u teorijskom delu, *Mogućnosti primene Ag/hidrogel nanokompozita*, navedena je potencijalna primena Ag/hidrogel nanokompozita kao antibakterijskih materijala i razlozi koji su motivisali kandidata Jelenu Spasojević da se posveti istraživanjima i kreiranju novih rešenja koja bi se mogla primeniti u sprečavanju razvoja bakterijskih infekcija.

U **Eksperimentalnom delu** dati su osnovni podaci o upotrebljenim reaktantima, kao i detaljan opis radijaciono-hemijske metode sinteze hidrogelova *N*-izopropilakrilamida (NiPAAm) i itakonske kiseline (IK) i *in situ* sinteze nanočestica srebra. Prikazane su eksperimentalne metode i tehnike koje su korišćene za karakterizaciju sintetisanih umreženih polimernih matrica (hidrogelova), nanočestica srebra i nanokompozita. Kako bi se ispitala mogućnost primene nanokompozita u *in vivo* uslovima, kroz eksperimente otpuštanja jona srebra i testove antimikrobnog potencijala i citotoksičnosti, koji su izvedeni u *in vitro* uslovima, ispitan je biomedicinski potencijal sintetisanih nanokompozita.

Poglavlje **Rezultati i diskusija** sastoji se iz 6 podpoglavlja: *Procena efikasnosti izabrane radijaciono-hemijske metode sinteze, Optička svojstva sintetisanih sistema, Fizičko-hemijska svojstva hidrogelova i nanokompozita, Morfologija polimernih matrica i strukturna svojstva nanokompozita, Mehanička svojstva hidrogelova i nanokompozita i Biomedicinski potencijal Ag/P(NiPAAm/IK) nanokompozita.*

U prvom delu je prikazana i diskutovana *efikasnost izabrane radijaciono-hemijske metode sinteze* umreženih polimernih matrica i nanokompozita. Dobijenim rezultatima pokazano je da su polimerne matrice uspešno sintetisane, kao i da je izabrana metoda sinteze dejstvom gama zračenja odgovarajuća jer daje visoke prinose pri željenom odnosu komonomernih komponenti bez neproreagovanih materija. U drugom delu su prikazani rezultati ispitivanja *optičkih svojstava* nanokompozita na osnovu kojih je utvrđeno da su sintetisane nanočestice srebra u obliku sfera, poluprečnika između 3,4 nm i 8,1 nm. Pokazano je da se na veličinu nanočestica može uticati

promenom strukturnih svojstava polimernih matrica koje služe kao nosači. *Fizičko-hemijska svojstva hidrogelova i nanokompozita* su ispitana kroz eksperimente bubrenja u različitim medijumima i pri različitim uslovima (pH vrednost i temperatura). Uzimajući u obzir rezultate ispitivanja kapaciteta bubrenja sintetisanih homo- i kopolimernih hidrogelova, kao i nanokompozita, zaključeno je da sistemi poseduju značajnu termo- i pH-osetljivost koja se može podešavati promenom udela komonomera i inkorporacijom nanočestica srebra. Ovakvo ponašanje čini ove sisteme pogodnim za upotrebu u biološkim sistemima u širokom opsegu fiziološki relevantnih parametara. Rezultati ispitivanja *Morfologije polimernih matrica i strukturnih svojstava nanokompozita* prikazani su u četvrtom delu ovog poglavlja. Miskroskopskim analizama i metodom mikro kompjuteriozovane topografije je pokazano da svi ispitivani sistemi predstavljaju pogodne nosače za inkorporaciju nanočestica srebra, zahvaljujući stabilnoj poroznoj strukturi, kao i da se na veličinu pora i stepen poroznosti može uticati promenom udela komonomernih komponenti. Utvrđeno je da sa porastom udela hidrofilne komponente (IK) dolazi do povećanja stepena poroznosti i veličine pora, dok istovremeno opada procenat polimerne mreže, što uzrokuje slabiju stabilizaciju i lošiju kontrolu veličine inkorporiranih nanočestica. Isti trend je dobijen i proračunom osnovnih parametara mreže primenom teorijskih modela kojima se proces bubrenja opisuje. Inkorporirane nanočestice su u polimernoj matrici stabilisane zahvaljujući transferu elektrona koji se odigrava između nanočestica srebra i atoma azota i kiseonika na polimernim lancima nosača, što je pokazano XPS analizom. Mogućnost stabilizacije i kontrole veličine nanočestica zavisi od strukturnih karakteristika polimerne mreže, pa je tako utvrđeno da homopolimerne matrice (PNiPAAm) u većim koncentracijama bolje stabilišu nanočestice i ograničavaju rast kristala, dajući čestice manjeg prečnika, što je pokazano difrakcijom X-zraka (XRD). S druge strane, kopolimerni uzorci sa većim udelom hidrofilne komponente su lošiji stabilizatori nanočestica usled većeg slobodnog prostora između polimernih lanaca (veličina pora) i manjeg procenta polimerne mreže, pa se u njima dobijaju čestice nešto većih dimenzija. Istovremeno, veća koncentracija polimerne mreže i veća količina nanočestica dovode do pojave nesavršenosti u kristalima, pa je za maksimalno iskorišćenje svojstava nanokompozita potrebno naći optimalan odnos ovih parametara. Pokazano je da sintetisani nanokompoziti predstavljaju sisteme kod kojih je, promenom udela komonomernih komponentata i osnovnih strukturnih parametara, moguće postići maksimalno iskorišćenje željenih svojstava. Mikroskopskim analizama (SEM i TEM) potvrđen je sferni oblik nanočestica srebra, prečnika oko 16 nm, što je u saglasnosti sa rezultatima optičke i mikrostrukturne karakterizacije. Potpoglavlje *Mehanička svojstva hidrogelova i nanokompozita* prikazuje rezultate dobijene mehaničkom analizom u statičkom i dinamičkom režimu rada, na osnovu kojih je zaključeno da na mehanička svojstva utiču koncentracija polimerne matrice, udeo hidrofilne komponente, kao i da inkorporacija nanočestica dovodi do značajnog poboljšanja mehaničkih svojstava. Pokazano je da je moguće postići optimalan odnos između elastičnosti Ag/hidrogel nanokompozita, mekoće i odsustva mehaničke iritacije po okolno tkivo što je zahtev koji ovi nanokompoziti moraju ispuniti da bi se koristili u *in vivo* uslovima za sprečavanje bakterijskih infekcija. *Biomedicinski potencijal Ag/P(NiPAAm/IK) nanokompozita*, ispitan je kroz eksperimente otpuštanja jona srebra u fiziološkim uslovima (pH=7,4 i t=37 °C), testove antimikrobnog potencijala na Gram-pozitivne (*Staphylococcus aureus*) i Gram-negativne (*Escherichia coli*) bakterije kao i testom citotoksičnosti (ćelijska linija zdravih humanih keratinocita-*HaCaT*). Pokazano je da sintetisani nanokompoziti predstavljaju efikasan antimikrobni materijal u okviru terapijski dozvoljenih doza koje se kreću između 0,78-12,5 ppm, kao i da nemaju štetno dejstvo po okolno tkivo.

U poglavlju **Zaključak**, sumirani su rezultati proizašli iz ove doktorske disertacije, koji su u potpunosti saglasni sa postavljenim ciljevima. Na kraju rada dat je spisak korišćene literature.

3. OCENA DISERTACIJE

3.1. Savremenost i originalnost

Doktorska disertacija kandidata Jelene Spasojević za predmet ima savremenu temu istraživanja koja privlači veliku pažnju istraživača i pripada veoma aktuelnoj oblasti nanonauke i nanotehnologije. Istraživanja u doktorskoj disertaciji su obuhvatila radijaciono-hemijsku sintezu i karakterizaciju novih nanokompozita na bazi nanočestica srebra i umreženih polimernih matrica *N*-izopropilakrilamida (NiPAAm) i itakonske kiseline (IK).

U svetlu trenutnih poteškoća u sprečavanju i lečenju kliničkih infekcija, a zbog sve češće pojave rezistencije pojedinih patogenih vrsta na najčešće primenjivane antibiotike, razvoj efikasnih baktericidnih sistema predstavlja izazov u istraživačkom radu. Porast učestalosti bakterijskih infekcija na globalnom nivou, posebno u hroničnim ranama, predstavlja problem koji zahteva unapređenje postojećih terapija. Jedna od grupa koja se naročito izdvaja po stalnom porastu broja hroničnih rana, koje se teško tretiraju u kliničkim uslovima, jesu ulceracije dijabetesnih stopala (*eng. diabetic foot ulcer - DFU*). Prema podacima svetske zdravstvene organizacije, globalna prevalenca *Dijabetes Mellitus-a* je u stalnom porastu, te je utvrđeno da se procenat obolelih među starijima od 18 godina povećao skoro dva puta za period od 30 godina (sa 5% 1980. godine na 9% 2014. godine). Ljudska i ekonomska cena ove epidemije je ogromna, te je stoga potraga za novim baktericidnim agensima koji bi bili efikasni u primeni tretmana pacijenata koji boluju od *Dijabetes Mellitus-a* u žiži interesovanja svetskih naučnih krugova.

U ovom radu ispitani su Ag/P(NiPAAm/IK) nanokompoziti koji poseduju antimikrobna svojstva i imaju potencijalnu primenu u tretiranju bakterijskih infekcija. Izbor nanočestica srebra kao baktericidnog agensa naučno je jako dobro utemeljen na bazi velikog broja naučnih radova i kliničkih studija. Nanočestice srebra su se pokazale kao vrlo korisno terapijsko sredstvo za prevenciju rasta mikroorganizama i razvoj infekcija, zahvaljujući činjenici da pokazuju baktericidno dejstvo za širok spektar Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija, kao i inhibitorno dejstvo na veliki broj virusa. Hidrogelovi, s druge strane, predstavljaju pogodne nosače za inkorporaciju aktivnih agenasa (npr. nanočestica srebra), obezbeđujući njihovu stabilnost i kontrolisano otpuštanje. Mehanizam i kinetika otpuštanja aktivne supstance može se podešavati promenom strukturnih parametara polimerne mreže hidrogelova, što je od velikog značaja u određivanju i kontrolisanju terapije. Izborom biokompatibilnih termo- i pH-oseljivih hidrogelova proširena je mogućnost primene jer su temperatura i pH vrednost dva parametra koja se u fiziološkim uslovima najčešće menjaju.

Iako je u dosadašnjim istraživanjima razvijeno više metoda za sintezu nanokompozitnih sistema, u ovom radu je odabrana radijaciono-hemijska metoda pod dejstvom gama zračenja. Ovakav način sinteze se zasniva na biološki neškodljivim i biokompatibilnim radiolitičkim proizvodima vode i reagensima neškodljivim po okolinu. Pored toga, to je jednostavan i brz način sinteze čije je izvođenje lako kontrolisati, a kao jednu od najznačajnih prednosti treba izdvojiti mogućnost sinteze i sterilizacije proizvoda u jednom tehnološkom koraku, što je izuzetno važno za biomedicinsku primenu. O posebnom značaju ove tematike svedoči učešće kandidata Jelene Spasojević na dva

međunarodna projekta iz ove oblasti u organizaciji Međunarodne agencije za atomsku energiju (MAAE).

3.2. Osvrt na referentnu i korišćenu literaturu

Tokom izrade i pisanja doktorske disertacije, kandidat Jelena Spasojević je detaljno pretražila postojeću literaturu iz oblasti nanokompozita na bazi hidrogelova i nanočestica plemenitih metala. Doktorska disertacija sadrži 227 literaturnih navoda, od kojih je 199 časopisa, 22 knjige, 1 monografija i 5 doktorskih disertacija. Najveći broj radova čine radovi iz međunarodnih časopisa, usko povezani sa tematikom značajnom za izradu doktorske disertacije, a istraživanja objavljena u njima su opisana, analizirana i diskutovana, na osnovu čega su izvedeni zaključci koji su pružili značajne smernice u istraživačkom radu i doprineli sagledavanju potencijala nanokompozitnih sistema koji su bili predmet proučavanja. Na osnovu spiska navedene literature može se zaključiti da kandidat prati aktuelnosti u svetu i poznaje rezultate objavljene u oblastima koje pokriva ova doktorska disertacija. Od 227 navedenih literaturnih radova, 176 je objavljeno posle 2000, a 58 posle 2010. godine, što potvrđuje aktuelnost korišćene literature, kao i da tema doktorske disertacije pripada vrlo aktuelnoj oblasti nanonauke i nanotehnologije.

3.3. Opis i adekvatnost primenjenih naučnih metoda

Svi rezultati u okviru ove disertacije su dokazani odgovarajućim eksperimentima i savremenim naučnim metodama u skladu sa originalnim ili modifikovanim metodama iz literature. Doktorska disertacija obuhvata sintezu i karakterizaciju Ag/poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-itakonska kiselina) (Ag/P(NiPAAm/IK)) nanokompozita kao sistema za kontrolisano otpuštanje terapijski aktivnih jona srebra u cilju dobijanja efikasnih antibakterijskih materijala. Sinteza umreženih polimernih matrica (hidrogelova) i *in situ* inkorporacija nanočestica srebra je izvedena radijaciono-hemijskom metodom pod dejstvom gama zračenja na kobaltnom izvoru ⁶⁰Co. U cilju procene efikasnosti primenjene metode sinteze, gravimetrijski je određen sadržaj neproreagovanih materija i udeo gel faze u polimernim matricama. Udeo hidrofilne komponente u kopolimernim matricama određen je elementarnom analizom koja je izvedena na uređaju *LECO Elemental Analyzer CHNS-628*. Strukturna analiza, izvedena korišćenjem infracrvene spektroskopije sa Furijeovom transformacijom (*FTIR*), pokazala je da su polimerne matrice uspešno sintetisane. Optička svojstva nanokompozita su ispitana metodom spektroskopije u ultraljubičastoj i vidljivoj oblasti spektra (*UV-Vis*), dok je procena veličine nanočestica izvedena teorijskim modelovanjem primenom MiePlot 3.4 programskog paketa čiji je algoritam zasnovan na Mie-ovoj teoriji. Kapacitet i kinetika bubrenja hidrogelova i nanokompozita su praćeni u destilovanoj vodi i simuliranoj telesnoj tečnosti (SBF), na temperaturama od 25 °C i 37 °C. Temperaturna osetljivost sintetisanih sistema uslovljena prisustvom *N*-izopropilakrilamida, ispitana je na tri načina: praćenjem procesa bubrenja, procesa kontrakcije i određivanjem temperature faznog prelaza, za sve sintetisane uzorke hidrogelova i nanokompozita. U cilju ispitivanja osetljivosti sintetisanih sistema na promenu pH vrednosti okolnog medijuma, određen je stepen bubrenja hidrogelova i nanokompozita na tri pH vrednosti (2,20; 4,50 i 6,80) i dve temperature (25 °C i 37 °C). Morfologija polimernih matrica je ispitana primenom skenirajuće elektronske mikroskopije (*SEM*) i mikro kompjuterizovane topografije (mikro-CT). Strukturna karakterizacija nanočestica srebra izvedena je primenom metode difrakcije

rendgenskog zračenja (*XRD*), dok su morfološka ispitivanja izvršena mikroskopskim metodama (*SEM* i *TEM*). Nanočestice su unutar polimerne matrice stabilisane isključivo fizičkim interakcijama, što je pokazano metodom infracrvene spektroskopije sa Fourier-ovom transformacijom (*FTIR*) i fotoelektronskom spektroskopijom rendgenskih zraka (*XPS*). Mehaničke karakteristike sintetisanih sistema su ispitane na termo-mehaničkom analizatoru *TMA Q400EM* (u statičkim uslovima) i *DMA Rheometrics 605* analizatoru (u dinamičkim uslovima). Takođe, ispitana je mogućnost primene nanokompozitnih sistema za kontrolisano otpuštanje jona srebra praćenjem kinetike oslobađanja u puferu pH=7,4 na temperaturi od 37 °C, a zatim i modelovanjem dobijenih rezultata primenom različitih farmakokinetičkih modela (Higuchi, Hixson-Crowel, Kopcha i Makoid-Banakar model). Ispitivanje antibakterijskog potencijala Ag/P(NiPAAm/IK) nanokompozita je izvedeno difuzionom test metodom i metodom merenja optičke gustine na Gram-negativne (*Escherichia coli* - *E.C.*) i Gram-pozitivne bakterije (*Staphylococcus aureus* – *S.A.*). S obzirom da je osnovni uslov primene sintetisanih sistema odsustvo toksičnosti po okolno tkivo, citotoksičnost sintetisanih Ag/P(NiPAAm/IK) nanokompozita je ispitana dejstvom na HaCaT ćelijsku liniju (zdravi humani keratinociti).

3.4. Primenljivost ostvarenih rezultata

Nanokompozitni sistemi na bazi nanočestica srebra i umreženih polimernih matrica (hidrogelova), sintetisani u ovom radu, poseduju izuzetan potencijal kao antibakterijski materijali. Rezultati i zaključci izneti u disertaciji pokazuju da je ostvaren značajan naučni doprinos u razvoju novih antibakterijskih Ag/poli(*N*-izopropilakrilamida-*ko*-itakonska kiselina) nanokompozita. Sintetisani sistemi poseduju široku mogućnost primene, naročito za površinsku dostavu aktivnih supstanci (jona srebra). Rezultatima ostvarenim u okviru ove doktorske disertacije je pokazano da sintetisani nanokompoziti pokazuju izuzetnu baktericidnu efikasnost te da se mogu uspešno primenjivati kao antibakterijske obloge u lečenju hroničnih infekcija, naročito kod pacijenata koji boluju od Diabetes Mellitus-a. Imajući u vidu da ispitani sistemi do sada nisu bili predmet istraživanja, očekuje se da će rezultati do kojih se došlo u okviru ove doktorske disertacije doprineti proširenju znanja i daljem razvoju sintetisanih sistema, sa ciljem da se ubrza put od laboratorijskih i kliničkih istraživanja, pa do primene u konkretnoj kliničkoj praksi. Verifikacija ostvarenih eksperimentalnih rezultata u okviru ove disertacije postignuta je objavljivanjem radova u međunarodnim naučnim časopisima iz ove oblasti, kao i prezentovanjem dobijenih rezultata na međunarodnim i nacionalnim konferencijama.

3.5. Ocena dostignutih sposobnosti kandidata za samostalni naučni rad

U svom dosadašnjem istraživačkom radu, kandidat Jelena Spasojević, dipl. inž. tehnologije, pokazala je stručnost, samostalnost i sistematičnost u pretraživanju i korišćenju naučne literature, planiranju i realizaciji eksperimenata, obradi i analizi rezultata, kao i u njihovoj diskusiji i publikovanju. Na osnovu dosadašnjeg rada i postignutih rezultata Komisija smatra da Kandidat poseduje sve kvalitete koji su neophodni za samostalni naučni rad.

4. OSTVARENI NAUČNI DOPRINOS

4.1. Prikaz ostvarenih naučnih doprinosa

U okviru ove doktorske disertacije ostvaren je značajan doprinos u razvoju novih antibakterijskih nanokompozita za primenu u tretmanu zarastanja rana i sprečavanju razvoja kliničkih infekcija.

Naučni doprinosi rezultata istraživanja ostvarenih u okviru ove doktorske disertacije se ogledaju u:

- Primeni i optimizaciji radijaciono-hemijske metode pod dejstvom gama zračenja za sintezu novih Ag/P(NiPAAm/IK) hidrogel nanokompozita koji pokazuju antibakterijska svojstva.
- Proširenju znanja i razvoju Ag/P(NiPAAm/IK) hidrogel nanokompozita sintetisanih metodom gama zračenja koji do sada nisu bili predmet proučavanja, čime će biti omogućeno dalje usavršavanje ispitivanih sistema.
- Boljem razumevanju uticaja sastava kopolimera na svojstva Ag/P(NiPAAm/IK) nanokompozita, što omogućava podešavanje polimerne matrice za dobijanje nanokompozita željenih karakteristika.
- Sagledavanju uticaja koncentracije nanočestica srebra na svojstva polimerne matrice i nanokompozita u cilju efikasnog korišćenja nanočestica srebra kao sredstva za kontrolu bakterijskih infekcija u okviru sigurnih terapijskih koncentracija.
- Dobijanju informacija o antibakterijskim i citotoksičnim svojstvima Ag/P(NiPAAm/IK) nanokompozita i potencijalne primene u tretmanu zarastanja različitih vrsta rana.
- Proširenju znanja i daljem razvoju sintetisanih sistema, sa ciljem da se ubrza put od laboratorijskih i kliničkih istraživanja, pa do primene u konkretnoj kliničkoj praksi.

4.2. Kritička analiza rezultata istraživanja

Istraživanja u okviru ove disertacije su koncipirana nakon detaljne analize literaturnih podataka iz oblasti nanokompozitnih sistema za primenu u biomedicinske svrhe. U tezi su primenjene savremene metode istraživanja i karakterizacije i po prvi put su sintetisani i karakterisani Ag/P(NiPAAm/IK) nanokompoziti. Uvidom u dostupnu literaturu iz ove oblasti istraživanja i rezultate istraživanja, dobijene u okviru ove doktorske disertacije, uočeno je da dobijeni rezultati predstavljaju značajan korak za dalji razvoj i potencijalnu primenu ispitivanih sistema. Rezultati proistekli iz ove disertacije su u saglasnosti, ali i dopunjuju postojeće rezultate u oblasti sinteze, karakterizacije i primene polimer/metal nanokompozita kao antimikrobnih materijala, naročito u tretmanima sprečavanja bakterijskih infekcija u kliničkim uslovima i kod pacijenata koji boluju od Diabetes Mellitus-a. Upoređujući postavljene ciljeve sa postignutim rezultatima može se konstatovati da ostvarena istraživanja u potpunosti zadovoljavaju kriterijume doktorske disertacije. Takođe, na osnovu primenjenih odgovarajućih savremenih metoda istraživanja i analize, može se zaključiti da su rezultati, proistekli iz ove disertacije, značajni ne samo sa naučnog, već i sa praktičnog aspekta.

4.3. Verifikacija naučnih doprinosa

Kandidat Jelena Spasojević je rezultate svog istraživanja tokom izrade ove disertacije potvrdila objavljivanjem radova u časopisima međunarodnog značaja i saopštavanjem radova na međunarodnim i nacionalnim skupovima. Rezultati dosadašnjeg naučno-istraživačkog rada kandidata u ovoj oblasti prikazani su u 2 (dva) rada objavljena u naučnim časopisima međunarodnog značaja kategorije M21, 1 (jednog) poglavlja u monografiji međunarodnog značaja (M14) i 9 (devet) radova objavljenih u zbornicima međunarodnih i nacionalnih skupova (M33-2, M34-5 radova, M63-1 i M64-1 rad).

Kategorija M14:

1. Radosavljević, A., Krstić, J., **Spasojević, J.**, Kačarević-Popović, Z.: Radiolytic synthesis of nanocomposites based on noble metal nanoparticles and natural polymer, and their application as biomaterial, in "Radiation Curing of Composites for Enhancing Their Features and Utility in Health Care and Industry", Chapter 11, pp. 167-184, 2015. (IAEA-TECDOC-1764, ISBN 978-92-0-103815-9)

Kategorija M21:

1. **Spasojević, J.**, Radosavljević, A., Krstić, J., Jovanović, D., Spasojević, V., Kalagasidis-Krušić, M., Kačarević-Popović, Z.: Dual responsive antibacterial Ag-poly(N-isopropylacrylamide/itaconic acid) hydrogel nanocomposites synthesized by gamma irradiation, - *European Polymer Journal*, vol 69, pp. 168-185, 2015 (IF=3,242) (ISSN 0014-3057).
2. **Spasojević, J.**, Radosavljević, A., Krstić, J., Mitrić, M., Popović, M., Rakočević, Z., Kalagasidis-Krušić, M., Kačarević-Popović, Z.: Structural characteristics and bonding environment of Ag nanoparticles synthesized by gamma irradiation within thermo-responsive poly(N-isopropylacrylamide) hydrogel, - *Polymer Composites*, 2015 (IF=1,632) (ISSN 1548-0569). doi:10.1002/pc.23665 (<http://onlinelibrary.wiley.com/enhanced/doi/10.1002/pc.23665>)

Kategorija M33:

1. **Spasojević, J.**, Krstić, J., Radosavljević, A., Kalagasidis Krušić, M., Kačarević-Popović, Z.: "Poly(NiPAAm-co-IA) hydrogels synthesized by γ -irradiation: swelling behavior in water," - *Proceedings of the 11th International Conference of Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry 2012*, Belgrade, Serbia, 2012., pp.550-552.
2. **Spasojević, J.**, Radosavljević, A., Krstić, J., Mitrić, M., Kalagasidis Krušić, M., Kačarević-Popović, Z.: "Structural characteristics of Ag nanoparticles synthesized in situ within PNiPAAm hydrogel by γ -irradiation," - *Proceedings of the 12th International Conference of Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry 2014*, Belgrade, Serbia, 2014., pp. 703-706.

Kategorija M34:

1. **Spasojević, J.**, Krstić, J., Radosavljević, A., Kalagasidis Krušić, M., Kačarević-Popović, Z.: “Thermoresponsive silver/poly(N-isopropylacrylamide) hydrogel nanocomposites synthesized by gamma irradiation,” – *Program and the Book of Abstracts XI/2 of the 10th Young Researchers' Conference - Materials Science and Engineering 2011*, Belgrade, Serbia, 2011, pp.44.
2. **Spasojević, J.**, Radosavljević, A., Krstić, J., Kalagasidis Krušić, M., Kačarević-Popović, Z.: “Thermosensitive Ag/poly(NiPAAM-co-IA) hydrogel nanocomposites synthesized by gamma irradiation,” – *Book of Abstracts PP17 of the 10th Meeting of the Ionizing Radiation and Polymers Symposium IRaP 2012*, Cracow, Poland, 2012, pp. 157.
3. **Spasojević, J.**, Krstić, J., Radosavljević, A., Kalagasidis Krušić, M., Kačarević-Popović, Z.: “Swelling studies of thermo- and pH-sensitive Ag-poly(HiPAAM/IA) hydrogel nanocomposites synthesized by gamma irradiation,” – *Program and the Book of Abstracts, Y20, of the 11th Young Researchers Conference - Materials Science and Engineering 2012 & 1st European Early Stage Researchers Conference on Hydrogen Storage*, Belgrade, Serbia, 2012, pp.108.
4. **Spasojević, J.**, Krstić, J., Radosavljević, A., Kalagasidis Krušić, M., Kačarević-Popović, Z.: “Tailoring of thermosensitivity of nano Ag-poly(HiPAAM-co-IA) hydrogel nanocomposites obtained by gamma irradiation technique,” – *Book of abstracts, P47, of the 1st International Symposium on Nanoparticles/Nanomaterials and Applications, ISN2A*, Caparica, Portugal, 2014, pp. 363-364.
5. **Spasojević, J.**, Radosavljević, A., Krstić, J., Popović, M., Mitrić, M., Kalagasidis Krušić, M., Kačarević-Popović, Z.: “Structural characteristics of Ag nanoparticles embedded into PHiPAAM and P(HiPAAM/IA) hydrogels synthesized by gamma-irradiation,” – *Abstracts Book (online version) of the Fourth International Conference on Multifunctional, Hybrid and Nanomaterials*, Sitges, Spain, 2015, P2.330.

Kategorija M63:

1. **Spasojević, J.P.**, Krstić, J.I., Radosavljević, A.N., Kalagasidis Krušić, M.T., Kačarević-Popović, Z.M.: “Radijaciono-hemijska sinteza termoosetljivih srebro/poli(N-izopropilakrilamid) hidrogel nanokompozita,” – *Knjiga radova (CD izdanje) na 50. Jubilarnom savetovanju Srpskog hemijskog društva*, Beograd, Srbija, 2012, pp. 86-89.

Kategorija M64:

1. **Spasojević, J.P.**, Krstić, J.I., Radosavljević, A.N., Kalagasidis Krušić, M.T., Kačarević-Popović, Z.M.: “Radijaciono-hemijska sinteza termoosetljivih srebro/poli(N-izopropilakrilamid) hidrogel nanokompozita,” – *Program i kratki izvodi radova, MAT O2 na 50. Jubilarnom savetovanju Srpskog hemijskog društva*, Beograd, Srbija, 2012, p. 54.

5. ZAKLJUČAK I PREDLOG

Na osnovu svega navedenog Komisija smatra da rezultati istraživanja u okviru ove doktorske disertacije daju veliki doprinos povećanju nivoa znanja u oblasti antibakterijskih nanokompozitnih sistema na bazi umreženih polimernih matrica i nanočestica plemenitih metala. Predmet i ciljevi koji su postavljeni su jasno navedeni i u potpunosti ostvareni. Kandidat, Jelena Spasojević, je pokazala stručnost, samostalnost i sistematičnost u toku izrade doktorske disertacije. Imajući u vidu kvalitet, obim i naučni doprinos postignutih i prikazanih rezultata, Komisija predlaže Nastavno-naučnom veću Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati ovaj Referat, pruži na uvid javnosti podnetu doktorsku disertaciju pod nazivom „*Radijaciono-hemijska sinteza termo- i pH-oseljivih antibakterijskih srebro/poli(N-izopropilakrilamid-ko-itakonska kiselina) nanokompozita*“ kandidata Jelene Spasojević, dipl. inž. tehnologije, u zakonom predviđenom roku, kao i da Referat uputi Veću naučnih oblasti tehničkih nauka Univerziteta u Beogradu i da nakon završetka procedure pozove kandidata na usmenu odbranu disertacije pred Komisijom u istom sastavu.

U Beogradu 30.08.2016. godine

ČLANOVI KOMISIJE

dr Melina Kalagasidis Krušić, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški
fakultet

dr Aleksandra Radosavljević, viši naučni saradnik
Univerzitet u Beogradu, Institut za nuklearne nauke
"Vinča"

dr Marija Nikolić, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški
fakultet

dr Zorica Kačarević-Popović, naučni savetnik
Univerzitet u Beogradu, Institut za nuklearne nauke
"Vinča"

dr Nedeljko Milosavljević, naučni saradnik
Univerzitet u Beogradu

