

UDK 615 (497.11)

ISSN 0004-1963 (Štampano izd.)  
ISSN 2217-8767 (Online)

# ARHIV ZA FARMACIJU

Godina 69

Broj 2

Beograd, 2019.

ČASOPIS SAVEZA  
FARMACEUTSKIH  
UDRUŽENJA SRBIJE

2/2019

**SADRŽAJ – CONTENTS**

**Originalni naučni radovi – Original scientific papers**

- **Tatjana Stefanović, Srećko Bosić, Jelena Vekić,  
Vesna Spasojević-Kalimanovska, Vesna Todorović, Marina Pijanović,  
Aleksandra Zeljković, Aleksandra Stefanović, Zorana Jelić-Ivanović** 51  
**Značaj određivanja glikohemoglobina u proceni rizika od amputacija kod  
pacijenata sa sindromom dijabetesnog stopala**  
**Significance of glycosylated haemoglobin determination for the assessment of  
lower-extremity amputation risk in patients with diabetic foot**
  
- **Mirjana D. Marčetić, Dragana D. Božić, Marina T. Milenković,  
Mirjana M. Kovačević, Nada N. Kovačević** 67  
**Antifungalna aktivnost etarskog ulja *Seseli rigidum* Waldst. & Kit. (Apiaceae)  
na rast izolata *Candida albicans***  
**Antifungal activity of the essental oil of *Seseli rigidum* Waldst. & Kit.  
(Apiaceae) on the growth of isolates of *Candida albicans***
  
- **Vladimir Dobričić, Bojan Marković** 80  
**Degradation Kinetics and Characterization of Degradation Products of Losartan  
Potassium by LC-MS/MS method**  
**Kinetika Degradacije i Karakterizacija Degradacionih Proizvoda Losartan Kalijuma  
LC-MS/MS metodom**

**Stručni radovi – Professional papers**

- **Bojan Čalija, Danina Krajišnik, Jela Milić** 90  
**Voda za farmaceutsku upotrebu – značaj, vrste i zahtevi za kvalitet**  
**Water for pharmaceutical use – importance, types and quality requirements**

## **Prilozi – Contributions**

- **Spisak recenzentata radova objavljenih u Arhivu za farmaciju u 2018. godini** 116

## **Obaveštenja – Information**

- **Spisak studenata koji su završili diplomske osnovne studije na Farmaceutskom fakultetu Univerzitetu u Beogradu 2018. godine** 119
- **Spisak studenata koji su završili integrисane akademske studije na Farmaceutskom fakultetu Univerzitetu u Beogradu 2018. godine** 120
- **Spisak studenata koji su završili specijalizaciju zdravstvenih radnika i zdravstvenih saradnika na Farmaceutskom fakultetu Univerzitetu u Beogradu 2018. godine** 129
- **Spisak studenata koji su završili specijalističke akademske studije na Farmaceutskom fakultetu Univerzitetu u Beogradu 2018. godine** 133
- **Spisak odbranjenih doktorskih disertacija na Farmaceutskom fakultetu Univerzitetu u Beogradu 2018. godine** 148
- **Spisak specijalista kojima je dodeljeno zvanje primarius u 2018. godini** 152

# Značaj određivanja glikohemoglobina u proceni rizika od amputacija kod pacijenata sa sindromom dijabetesnog stopala

Tatjana Stefanović<sup>1</sup>, Srećko Bosić<sup>2</sup>, Jelena Vekić<sup>3\*</sup>,  
Vesna Spasojević-Kalimanovska<sup>3</sup>, Vesna Todorović<sup>1</sup>,  
Marina Pijanović<sup>4</sup>, Aleksandra Zeljković<sup>3</sup>, Aleksandra Stefanović<sup>3</sup>,  
Zorana Jelić-Ivanović<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Kliničko-biohemijska laboratorija, Opšta bolnica, Požarevac, Srbija

<sup>2</sup>Hirurška služba, Opšta bolnica, Požarevac, Srbija

<sup>3</sup>Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za medicinsku biohemiju,  
Beograd, Srbija

<sup>4</sup>Laboratorijska za medicinsku biohemiju Medilab, Požega, Srbija

\* Autor za korespondenciju: Jelena Vekić, Tel. + 381 11 3951 266,  
e-mail: jelena.vekic@pharmacy.bg.ac.rs

## Kratak sadržaj

Glikohemoglobin ( $\text{HbA}_{1c}$ ) je važan parametar za praćenje dugoročne metaboličke kontrole i procenu rizika za razvoj hroničnih komplikacija kod pacijenata sa dijabetesom (DM). U ovoj studiji ispitivali smo povezanost postignute metaboličke kontrole u tipu 2 DM sa rizikom za razvoj i primenjenim modalitetom lečenja sindroma dijabetesnog stopala (SDS). U istraživanju je učestvovalo 111 pacijenata (80 muškaraca i 31 žena) sa tipom 2 DM, starosti  $65,5 \pm 9,8$  godina. Kod 41 pacijenta SDS je lečen neoperativnim (konzervativnim) pristupom, hirurška intervencija manjeg obima (amputacija u predelu stopala) je izvršena kod 41, a opsežna hirurška intervencija (amputacija u predelu potkolenice) kod 29 pacijenata. Koncentracije biohemijskih parametara i  $\text{HbA}_{1c}$  su određene standardnim laboratorijskim metodama. U ispitivanoj grupi najčešćoj faktor rizika za nastanak SDS (82% pacijenata) bila je neadekvatna glikoregulacija ( $\text{HbA}_{1c} > 8\%$ ). Utvrdili smo da su pacijenti koji su lečeni hirurškim putem imali statistički značajno više vrednosti  $\text{HbA}_{1c}$  u poređenju sa pacijentima koji su lečeni neoperativnim pristupom ( $P < 0,05$ ). Ukupan broj pacijenata koji je podvrgnut hirurškom lečenju bio je značajno veći u grupi sa neadekvatnom glikoregulacijom (68,2% pacijenata sa neadekvatnom vs. 40% pacijenata sa adekvatnom glikoregulacijom;  $P < 0,05$ ). Utvrdili smo da je verovatnoća za amputaciju 3,2 puta veća ukoliko pacijent ima neadekvatnu glikoregulaciju ( $OR = 3,21$ ;  $95\%CI: 1,18-8,69$ ;  $P < 0,05$ ). Naši rezultati su pokazali da se održavanjem dobre metaboličke kontrole u tipu 2 DM smanjuje rizik za razvoj SDS, ali i stepen invazivnosti postupka lečenja SDS.

**Ključne reči:** dijabetes melitus; metabolička kontrola; hronične komplikacije;  $\text{HbA}_{1c}$ .

## Uvod

Sindrom dijabetesnog stopala (SDS) obuhvata skup promena na mekim tkivima i kostima stopala dijabetičara, koji se javlja kao posledica polineuropatije, infekcije, ishemije ili kombinacije svih ovih faktora. Tip 2 dijabetes melitus (DM) se smatra jednim od najvažnijih netraumatskih uzroka amputacija ekstremiteta u svetu (1). Patološka stanja koja dovode do promena na stopalu pacijenata sa tipom 2 DM su dijabetesna polineuropatija (DPN) i periferna arterijska okluzivna bolest (PAOB), mada su prisutne i promene u mikrocirkulaciji (2). Ove promene se najčešće dešavaju na krvnim sudovima natkolenice i potkolenice, a česte su i na krvnim sudovima stopala (2). Senzorna periferna neuropatija je povezana sa gubitkom osećaja za bol, pritisak i toplotu, usled čega traume ili oštećenja, koji najčešće prolaze nezapaženo, mogu dovesti do pojave lezija ili ulkusa. Kožne lezije olakšavaju razvoj infekcije, čije širenje vodi ka destrukciji tkiva stopala, pa čak i kosti (1). Kliničke manifestacije SDS obuhvataju: pojavu ulceracije (sa ili bez infekcije), deformitet stopala, hronični otok, ishemische promene, te pojavu nekroze i gangrene tkiva. Nastanak ulkusa na stopalu, zatim gangrene i posledične amputacije su značajni uzroci morbiditeta i invaliditeta u ovoj populaciji pacijenata (2).

Prema Nacionalnom vodiču dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje DM u faktore rizika za razvoj SDS ubrajaju se: trajanje dijabetesa duže od 10 godina, muški pol, veći indeks telesne mase (ITM), pušenje, neadekvatna glikoregulacija, kao i prisustvo drugih komplikacija DM (3). Lečenje pacijenata sa SDS zavisi od stepena težine nastalih promena na ekstremitetima i može biti konzervativno (neoperativno) i hirurško (1,2). Konzervativno lečenje je efikasno samo u ranim fazama bolesti i sastoji se od terapijske primene antibiotika i perifernih vazodilatatora, dok je u kasnim fazama bolesti neophodno hirurško lečenje. Hirurške metode lečenja SDS podrazumevaju operacije u nivou stopala, u vidu incizija, nekrektomija i amputacija prstiju ili delova stopala, i opsežne amputacije, koje obuhvataju sve hirurške procedure iznad petne kosti (potkolene i natkolene amputacije), što dovodi do gubitka ekstremiteta (2).

Održavanje optimalne metaboličke kontrole je preduslov za odlaganje razvoja mikrovaskularnih i makrovaskularnih komplikacija DM. Glikohemoglobin ( $HbA_1c$ ) odražava prosečnu vrednost glukoze u plazmi tokom prethodnih dva do tri meseca, te se na osnovu njegove vrednosti vrši praćenje dugoročne metaboličke kontrole i procena rizika za razvoj komplikacija DM (4,5). Rezultati prospektivne UKPDS studije (eng. *United Kingdom Prospective Diabetes Study*) su pokazali da je incidencija mikrovaskularnih i makrovaskularnih komplikacija DM značajno povezana sa regulacijom glikemije (6). Naime, u studiji je utvrđeno da se sa smanjenjem nivoa  $HbA_1c$  za 1% rizik za razvoj mikrovaskularnih komplikacija smanjuje za 37%, dok je incidencija akutnog infarkta miokarda u narednih 10 godina niža za 14% (6).

U ovoj studiji smo ispitivali značaj određivanja HbA<sub>1c</sub> u proceni rizika za razvoj SDS, kao i povezanost između postignute metaboličke kontrole DM sa primjenjenim modalitetom lečenja SDS.

## Materijal i metode

### *Ispitanici*

U studiji je učestvovalo 111 pacijenata sa tip 2 DM (80 muškaraca i 31 žena), starosti  $65,5 \pm 9,8$  godina, koji su bili hospitalizovani na hirurškom odeljenju Opšte bolnice u Požarevcu u periodu 2014 - 2016. godine, usled razvoja SDS. Na početku studije prikupljeni su demografski i klinički podaci o pacijentima: starost, telesna masa i visina, dužina trajanja i terapija dijabetesa, sredina u kojoj pacijent živi, te podaci o životnim navikama (konzumiranje alkohola i pušenje). Na terapiji insulinom bilo je 80 pacijenata (72%), dok je oralne antidijabetike (OAD) uzimao 31 (28%) pacijent. Oralne antidijabetike iz grupe bigvanida (metformin) je uzimalo 28 pacijenata (90% svih pacijenata koji su bili na OAD), dok je derivate sulfonil ureje uzimalo svega 3 pacijenta (glimepirid i gliklazid).

Iz podataka za telesnu masu i visinu izračunat je ITM, pri čemu su vrednosti  $>30,0 \text{ kg/m}^2$  bile kriterijum za definisanje gojaznosti. Kod 41 pacijenta (36,9%) SDS je lečen neoperativnim (konzervativnim) pristupom. Hirurška intervencija manjeg obima (amputacija u predelu stopala) je izvršena kod 41 (36,9%), a opsežna hirurška intervencija (amputacija u predelu potkoljenice) kod 29 pacijenata (26,2%). Istraživanje je planirano i izvedeno poštujući etičke principe Helsinške deklaracije i svi ispitanici su dobrovoljno prihvatali učešće u studiji.

### *Biohemijske analize*

Uzorci krvi iz prednje kubitalne vene su uzeti posle noćnog gladovanja, prilikom hospitalizacije pacijenata. Biohemski parametri su određeni u serumu, koncentracije fibrinogena u citratnoj plazmi, a HbA<sub>1c</sub> u uzorku pune krvi. Koncentracije glukoze, ukupnog, HDL-holesterola i triglicerida u serumu su određene enzimskim metodama, a LDL-holesterola primenom Friedwald-ove formule. Koncentracije ureje, kreatinina i mokraćne kiseline su određene standardnim laboratorijskim metodama, a koncentracija C-reaktivnog proteina (CRP) imunoturbidimetrijskom metodom. Sve navedene analize su urađene na analizatoru DimensionRxL Max (Siemens Health Care Diagnostics, Erlangen, Germany). Koncentracija fibrinogena je određena koagulometrijskom metodom na analizatoru Sysmex CA-660 System (Siemens Health Care Diagnostics, Erlangen, Germany). Za izračunavanje jačine glomerularne filtracije (JGF) je korišćena MDRD formula, pri čemu su vrednosti  $JGF < 60 \text{ mL/min}/1,73\text{m}^2$  ukazivale na smanjenu bubrežnu funkciju. HbA<sub>1c</sub> je određen imunoturbidimetrijskom metodom na analizatoru Innova Star (DiaSys Diagnostic Systems, GmbH, Germany). Prosečna koncentracija glukoze (eAG) je izračunata iz vrednosti HbA<sub>1c</sub> prema formuli:

$$\text{eAG (mmol/L)} = 1,59 \cdot \text{HbA}_{1c} - 2,59.$$

### ***Statistička analiza***

Kontinuirani podaci su prikazani kao aritmetičke srednje vrednosti i standardne devijacije za normalno distribuirane parametre. Promenljive koje nisu pratile normalnu raspodelu prikazane su kao medijane i interkvartilni rasponi. Razlike između grupa u slučaju normalno distribuiranih kontinuiranih podataka su analizirane Student-ovim t-testom, a za promenljive koje ne prate normalnu raspodelu korišćen je Mann-Whitney U test. Kategorički podaci su prikazani kao absolutne ili relativne frekvence, a razlike su proveravane upotrebom Chi-kvadrat i Fisher Exact testova. Uticaj glikoregulacije na rizik za amputaciju analiziran je logističkom regresionom analizom. Kao minimalni uslov za postojanje statističke značajnosti smatrana je verovatnoća  $P<0,05$ .

### **Rezultati**

U istraživanju je učestvovalo 111 pacijenata (80 muškaraca i 31 žena) sa tipom 2 DM, starosti  $65,5 \pm 9,8$  godina, čije su demografske i kliničke karakteristike prikazane u Tabeli I. Razvoj SDS nastupio je, u proseku, 14 godina nakon postavljene dijagnoze DM. Kod 3 pacijenta promene su uočene već godinu dana od kada je bolest dijagnostikovana, a ukupno 19 pacijenata je imalo potvrđenu dijagnozu dijabetesa kraće od 5 godina. Najveći broj pacijenata ( $n=65$ ) imao je DM duže od 10 godina. Većina pacijenata ( $n=80$ ) je u terapiji primenjivala insulin. Pacijenti koji su bili na terapiji OAD su kao monoterapiju većinski (preko 90%) primenjivali metformin.

**Tabela I** Demografske i kliničke karakteristike pacijenata**Table I** Demographic and clinical characteristics of the patients

Parametar	Vrednost parametra
N	111
Starost, godine	65,5 ± 9,8
Pol, muškarci/žene, %	72/28
Trajanje dijabetesa, godine	13,9 ± 8,8
Trajanje dijabetesa >10 godina, %	58,6
Terapija dijabetesa, insulin/OAD, %	72/28
Neadekvatna glikoregulacija ( $\text{HbA}_{1c} > 8\%$ ), % <sup>#</sup>	82
ITM, kg/m <sup>2</sup>	28,83 ± 4,43
Gojaznost (ITM > 30 kg/m <sup>2</sup> ), %	36
Sredina, selo/grad, %	64/36
Pušači, %	9,9
Konzumiranje alkohola, %	15,3
Glukoza, mmol/L	9,60 ± 3,47
$\text{HbA}_{1c}$ , %	10,1 ± 2,1
eAG, mmol/L	13,41 ± 3,29
Ukupan holesterol, mmol/L	4,14 ± 1,30
Trigliceridi, mmol/L <sup>#</sup>	1,30 (1,00-2,10)
LDL-holesterol, mmol/L	2,75 ± 1,13
HDL-holesterol, mmol/L	0,96 ± 0,37
Trigliceridi, mmol/L <sup>#</sup>	1,30 (1,00-2,10)
Ureja, mmol/L <sup>#</sup>	7,1 (4,9-10,0)
Kreatinin, µmol/L <sup>#</sup>	105 (76-123)
JGF, mL/min/1,73m <sup>2</sup> <sup>#</sup>	59,0 (44,0-89,2)
Mokraćna kiselina, µmol/L	307,81 ± 122,08
Fibrinogen, g/L	6,33 ± 1,89
CRP, mg/L <sup>#</sup>	63,76 (12,60-146,58)

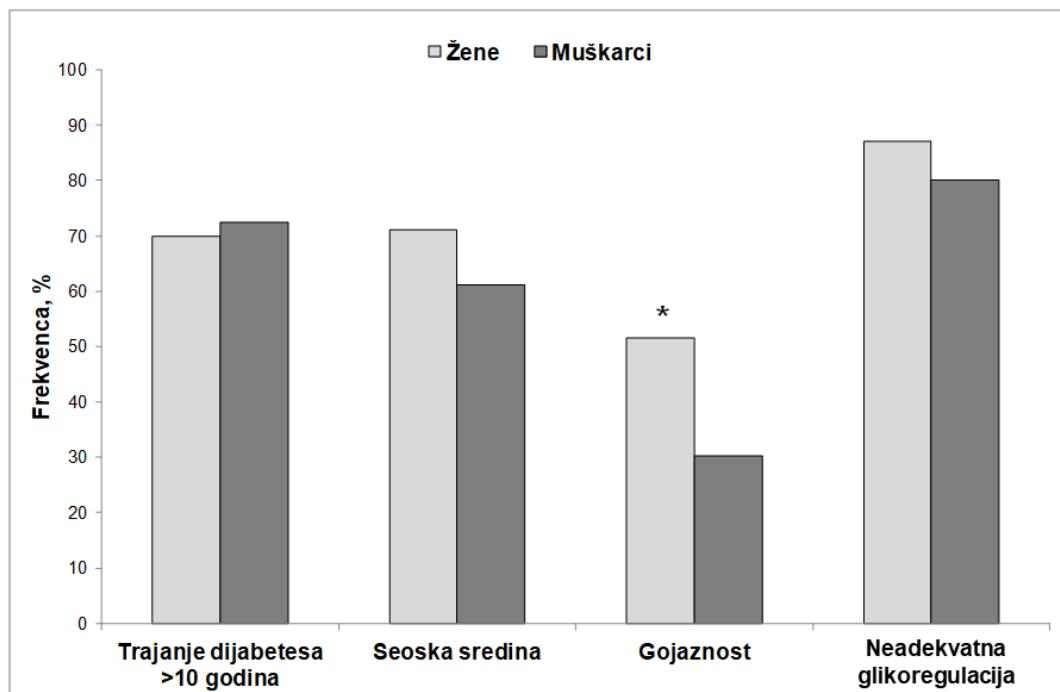
Podaci su prikazani kao srednja vrednost ± standardna devijacija, apsolutne i relativne frekvence.

<sup>#</sup> Podaci su prikazani kao medijana (interkvartilni raspon).

U ispitivanoj grupi najučestaliji faktor rizika (82%) za nastanak SDS bila je neadekvatna glikoregulacija ( $\text{HbA}_{1c} > 8\%$ ). Svega 4 pacijenta (3,6%) je imalo ciljne vrednosti  $\text{HbA}_{1c} < 7\%$ . Čak i kada je primenjena granična vrednost  $\text{HbA}_{1c}$  od 8%, što je manje striktan terapijski cilj koji važi za starije pacijente i one sa pridruženim komorbiditetima, adekvatnu glikoregulaciju imalo je tek 20 pacijenata (18%).

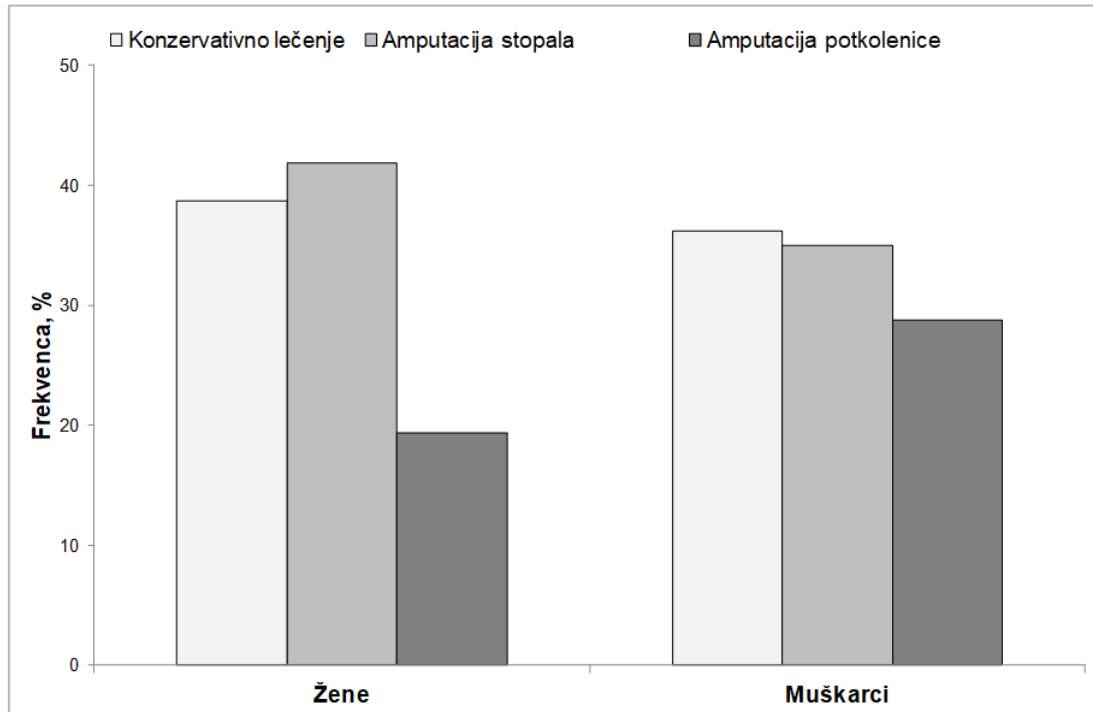
Analiza je takođe pokazala da skoro dvostruko više pacijenata (64%) potiče iz seoske sredine. U biohemiskom nalazu dominiraju povišene koncentracije inflamatornih markera, što odgovara kliničkoj slici pacijenata (infekcija, koja je praćena inflamacijom). Na osnovu vrednosti JGF utvrdili smo da 52,3% pacijenata ima smanjenu bubrežnu funkciju ( $\text{JGF} < 60 \text{ mL/min/1,73m}^2$ ).

U daljoj analizi ispitivali smo učestalost tradicionalnih faktora rizika za nastanak SDS u zavisnosti od pola, a rezultati su prikazani na Slici 1. Utvrdili smo da je frekvencija svih faktora rizika ravnomerno zastupljena kod oba pola, sa izuzetkom gojaznosti. Naime, u ispitivanoj grupi dijabetičara svaka druga žena i svaki treći muškarac su bili gojazni (51,6% žena vs. 30,3% muškaraca;  $P < 0,05$ ). Pored toga, ova analiza je pokazala da 13,8% muškaraca puši, a da 21,2% njih konzumira alkohol. Za razliku od muškaraca, žene nisu konzumirale cigarete ( $P < 0,05$ ), niti alkohol ( $P < 0,05$ ). Na Slici 2 su prikazani primenjeni modaliteti lečenja SDS u odnosu na pol. Iako se broj pacijenata po grupama nije značajno razlikovao, muškarci su češće od žena bili podvrgnuti opsežnim hirurškim intervencijama (28,8% vs. 19,4%;  $P < 0,05$ ).



Slika 1. Faktori rizika za razvoj dijabetesnog stopala u zavisnosti od pola (\* $P < 0,05$ )

Figure 1. Risk factors for diabetic foot development according to gender (\* $P < 0,05$ )



**Slika 2. Modaliteti lečenja dijabetesnog stopala u odnosu na pol pacijenta**

**Figure 2. Diabetic foot therapeutic modalities according to gender**

Uporedni prikaz kliničkih i demografskih karakteristika pacijenata, u zavisnosti od primjenjenog modaliteta lečenja SDS, dat je u Tabeli II. Ove dve grupe pacijenata se nisu značajno razlikovale po starosti i polu. Takođe, nije bilo značajne razlike u dužini trajanja dijabetesa, niti se razlikovao broj pacijenata na terapiji insulinom, odnosno OAD. U grupi pacijenata koji su podvrgnuti hirurškom lečenju bilo je više pušača i onih koji konzumiraju alkohol, ali razlika nije bila statistički značajna. Pacijenti koji su lečeni hirurškim putem su imali statistički značajno više vrednosti HbA<sub>1c</sub> od pacijenata lečenih konzervativnim pristupom. U skladu sa prethodnim, prosečna koncentracija glukoze u protekla tri meseca bila je značajno viša u grupi koja je podvrgnuta operaciji. Takođe, značajno veći broj pacijenata sa neregulisanom glikemijom nalazio se u grupi operisanih. U grupi pacijenata koja je podvrgnuta hirurškom lečenju svi markeri inflamacije su bili viši u odnosu na pacijente koji su lečeni na konzervativan način, ali razlike nisu bile statistički značajne. Parametri lipidnog statusa i markeri bubrežne funkcije se nisu značajno razlikovali između grupa (rezultati nisu prikazani).

**Tabela II** Kliničke karakteristike pacijenata u zavisnosti od modaliteta lečenja**Table II** Clinical characteristics of the patients according to therapeutic modality

Parametar	Konzervativno lečenje	Hirurško lečenje	P
N	41	70	
Starost, godine	66,2 ± 9,7	65,1 ± 9,9	0,557
Pol, muškarci/žene, %	70,7/29,3	72,9/27,1	0,829
Trajanje dijabetesa, godine	13,9 ± 8,8	13,9 ± 8,8	0,995
Trajanje dijabetesa >10 godina, %	73,2	70,8	0,828
Terapija dijabetesa, insulin/OAD, %	73,2/26,8	71,4/28,4	0,843
ITM, kg/m <sup>2</sup>	29,49 ± 4,21	28,47 ± 4,54	0,253
Gojaznost (ITM > 30 kg/m <sup>2</sup> ), %	37,7	34,2	0,721
Sredina, selo/grad, %	61/39	65,7/34,3	0,684
Pušači, %	4,9	12,9	0,112
Konzumiranje alkohola, %	9,8	18,6	0,105
Glukoza, mmol/L	9,74 ± 3,87	9,52 ± 3,25	0,755
HbA <sub>1c</sub> , %	9,5 ± 1,9	10,4 ± 2,1	<0,05
eAG, mmol/L	12,55 ± 3,01	13,92 ± 3,34	<0,05
Neadekvatna glikoregulacija, %	70,7	88,6	<0,05
Fibrinogen, g/L	6,30 ± 2,17	6,34 ± 1,75	0,931
CRP, mg/L <sup>#</sup>	51,98 (7,40-127,90)	74,77 (16,61-153,58)	0,153

Kontinuirani podaci su prikazani kao srednje vrednosti ± standardne devijacije i poređeni Studentovim t testom. Kategorički podaci su prikazani kao relativne frekvencе i poređeni Chi-kvadrat testom.

<sup>#</sup> Rezultati su prikazani kao medijana (interkvartilni raspon) i poređeni Mann-Whitney U testom.

Sa ciljem da se utvrди da li se faktori rizika za nastanak hroničnih komplikacija menjaju u zavisnosti od postignute metaboličke kontrole dijabetesa, svi pacijenti su razvrstani na osnovu vrednosti HbA<sub>1c</sub> u grupe sa adekvatnom (HbA<sub>1c</sub>≤8%) i neadekvatnom glikoregulacijom (HbA<sub>1c</sub>>8%). Rezultati prikazani u Tabeli III pokazuju da su pacijenti u grupi sa neadekvatnom glikoregulacijom bili značajno mlađi ( $P<0,05$ ). Uočili smo trend da se većina faktora rizika za nastanak SDS javlja udruženo sa neadekvatnom glikoregulacijom. Pacijenti koji dolaze iz seoske sredine i pacijenti koji imaju dijabetes duže od 10 godina bili su zastupljeniji u grupi sa neadekvatnom glikoregulacijom, a razlike su bile na granici statističke značajnosti. U istoj grupi je bilo i više pušača. Takođe, pacijenti sa neadekvatnom glikoregulacijom su češće hirurški zbrinjavani u odnosu na ispitane sa adekvatnom kontrolom glikemije.

**Tabela III** Faktori rizika za nastanak SDS i primjenjeni modaliteti lečenja u zavisnosti od glikoregulacije

**Table III** Risk factors for diabetic foot development and therapeutic modality according to glucoregulation

	Glikoregulacija		<i>P</i>
	Adekvatna	Neadekvatna	
N	20	91	
Starost, godine	$70,4 \pm 8,7$	$64,4 \pm 9,7$	<0,05
Trajanje dijabetesa >10 godina, %	57,9	74,7	0,075
Seoska sredina, %	50	67	0,073
Gojaznost (ITM $> 30 \text{ kg/m}^2$ ), %	89,5	78,4	0,146
Pušenje, %	5	11	0,272
Konzumiranje alkohola, %	20	14,3	0,203
Modalitet lečenja: konzervativni/hirurški, %	60/40	31,8/68,2	<0,05
Modalitet lečenja:			0,061
Konzervativno lečenje, %	60	31,8	
Amputacija stopala, %	25	39,6	
Amputacija potkolenice, %	15	28,6	

Podaci su prikazani kao relativne frekvence i poređeni Chi-kvadrat i Fisher-Exact testovima.

Uzimajući u obzir prethodne rezultate, analiza je nastavljena sa ciljem da se ispita da li je glikoregulacija povezana sa primjenjenim modalitetom lečenja. Rezultati jasno pokazuju da održavanje adekvatne metaboličke kontrole smanjuje učestalost invazivnog postupka u lečenju SDS. U grupi sa adekvatnom glikoregulacijom najveći procenat pacijenata lečen je konzervativnim pristupom, a najmanji opsežnjom hirurškom intervencijom. Ovakva pravilnost se ne uočava u grupi sa neadekvatnom glikoregulacijom. U analizi povezanosti glikoregulacije i primjenjenog postupka u lečenju, razlika u broju pacijenata po kategorijama bila je na granici statističke značajnosti ( $P=0,061$ ). Međutim, ukupan broj pacijenata koji je podvragnut hirurškom lečenju bio je značajno veći u grupi sa neadekvatnom glikoregulacijom (68,2% pacijenata sa neadekvatnom vs. 40% pacijenata sa adekvatnom glikoregulacijom;  $P<0,05$ ).

Naposletku, ispitali smo da li se na osnovu koncentracije HbA<sub>1c</sub> može predvideti rizik od amputacije u lečenju SDS. U ovoj analizi rizičnu grupu su činili svi pacijenti podvragnuti hirurškoj intervenciji, a referentnu grupu pacijenti lečeni konzervativnim

pristupom. Rezultati su pokazali da rizik za amputaciju raste za 54% ukoliko se koncentracija HbA<sub>1c</sub> poveća za 1% (OR = 1,543; 95%CI: 1,027-2,319;  $P<0,05$ ). Uticaj neadekvatne glikoregulacije na rizik za amputaciju analiziran je binarnom logističkom regresionom analizom, pri čemu su rizičnu grupu činili pacijenti sa HbA<sub>1c</sub>>8%, a referentnu grupu pacijenti sa HbA<sub>1c</sub>≤8% (Tabela IV). Univariatna analiza je pokazala da je verovatnoća za amputaciju 3,2 puta veća ukoliko pacijent ima neadekvatnu glikoregulaciju. Inicijalna analiza je zatim ponovljena uz korekciju za tradicionalne faktore rizika za nastanak SDS (starost, muški pol, trajanje dijabetesa >10 godina, pušenje i seosko okruženje), a rizik za amputaciju zbog neadekvatne glikoregulacije je ostao je značajan ( $P<0,05$ ) i nezavisan od prisustva drugih faktora.

**Tabela IV** Neadekvatna glikoregulacija i rizik za amputaciju

**Table IV** Poor glucoregulation and risk of amputation

	<b>OR</b>	<b>95% CI</b>	<b>P</b>
HbA <sub>1c</sub> , povećanje za 1%	1,54	1,03 – 2,32	<0,05
HbA <sub>1c</sub> > 8%	3,21	1,18 – 8,69	<0,05
HbA <sub>1c</sub> > 8% + faktori rizika za razvoj SDS <sup>#</sup>	3,44	1,11 – 10,73	<0,05

# Starost, muški pol, trajanje dijabetesa >10 godina, pušenje, seosko okruženje.

## Diskusija

Rezultati prethodnih istraživanja pokazuju da su kardiovaskularne komplikacije najčešći uzrok smrtnosti pacijenata sa SDS, pri čemu je najviša stopa mortaliteta zabeležena već u prvim godinama nakon amputacije (7). Ovi podaci ukazuju da je neophodno intenzivirati mere prevencije u cilju sprečavanja razvoja SDS, što zahteva detaljnju evaluaciju prisutnih faktora rizika, kako bi se izdvojili oni pacijenti koji zahtevaju intenzivan nadzor i lečenje. Stoga je i osnovni cilj ovog istraživanja bio da se ispita značaj određivanja HbA<sub>1c</sub> u proceni rizika za razvoj SDS, kao i povezanost između postignute metaboličke kontrole u tipu 2 DM sa primjenjenim modalitetom lečenja SDS.

Analiza faktora rizika za razvoj SDS je pokazala da je u ispitivanoj grupi pacijenata najučestaliji faktor rizika neadekvatna glikoregulacija (Tabela I). Ovi rezultati se slažu sa podacima prospективne studije, sprovedene u SAD, koja je ispitivala učestalost komplikacija kod pacijenata sa tipom 2 DM (8). Autori su klasifikovali pacijente u grupe bez komplikacija i sa komplikacijama, a zatim na osnovu vrednosti HbA<sub>1c</sub> na one koji su postigli adekvatnu (<7%), zadovoljavajuću (7-8%) i neadekvatnu

(>8%) metaboličku kontrolu. Utvrdili su da je najveći broj pacijenata sa gangrenom donjih ekstremiteta imao vrednosti HbA<sub>1c</sub>>8% (8). U našoj studiji pacijenti lečeni hirurškim putem imali su statistički značajno više vrednosti HbA<sub>1c</sub> u poređenju sa pacijentima koji su lečeni konzervativnim pristupom (Tabela II). Ovaj nalaz se u potpunosti slaže sa rezultatima koje su ranije publikovali Miyajima i saradnici (9). U dodatnoj analizi smo uočili trend da se većina faktora rizika za nastanak SDS javlja udruženo sa neadekvatnom glikoregulacijom (Tabela III). Konkretno, u grupi sa neadekvatnom glikoregulacijom bilo je više pacijenata koji dolaze iz seoske sredine i onih koji boluju od dijabetesa duže od 10 godina. Iako nije bilo razlike u dužini trajanja dijabetesa, pacijenti u grupi sa neadekvatnom glikoregulacijom su bili značajno mlađi, što se slaže sa podacima u studiji Christmana i saradnika (4). Ukupno uzevši, prikazani rezultati govore u prilog činjenici da je hronično loša metabolička kontrola DM preduslov za razvoj komplikacija koje dovode do nastanka SDS (2).

S obzirom da je poznato da učestalost faktora rizika za različita hronična stanja varira u odnosu na pol, u našoj studiji smo ispitivali i da li postoje razlike u zastupljenosti tradicionalnih faktora rizika za nastanak SDS kod muškaraca i žena (Slika 1). Naši rezultati su ukazali na viši unos alkohola i procenat pušača kod muškaraca nego kod žena, što je uobičajen nalaz i u generalnoj populaciji u Srbiji, tako da ovi rezultati mogu da se tumače u sklopu opštih demografskih karakteristika naše populacije. Osim toga, uočen je visok procenat gojaznih osoba i kod žena i kod muškaraca, pri čemu je učestalost gojaznosti bila viša kod žena, a što ponovo ukazuje na značaj preventivnih i konzervativnih mera za sprečavanje gojaznosti, kako u opštoj populaciji, tako i kod pacijenata sa DM. Kada su u pitanju primenjeni modaliteti lečenja, nije bilo značajnih razlika između žena i muškaraca (Slika 2).

Dodatnom analizom primenjene OAD terapije utvrđeno je da je većina naših pacijenata kao monoterapiju koristila metformin (90% svih pacijenata koji su bili na OAD). Metformin prema najnovijim preporukama ADA predstavlja prvi korak u lečenju DM (10). Jednom uveden u terapiju, metformin se može koristiti duže vreme (dok god se dobro podnosi i nema kontraindikacija), a preporučuje se da se drugi OAD, kao i insulin, dodaju uz metformin. S obzirom da su naši pacijenti starije životne dobi i sa dugogodišnjim DM, verovatno bi uvođenje još nekog OAD i/ili insulina pomoglo u postizanju adekvatne glikemijske kontrole. Prema najnovijim preporukama, intenziviranje terapije DM kod pacijenata kod kojih se ne postiže terapijski cilj se ne sme odlagati (10). Propisanu terapiju bi trebalo preispitati svakih 3 do 6 meseci i modifikovati do postizanja željenih vrednosti glikemijske kontrole. Kod pacijenata sa DM tip 2 koji imaju dijagnostikovanu aterosklerozu i kardiovaskularnu bolest preporuka je da se u terapiju pored metformina uvedu inhibitori natrijum-glukoza kotransportera 2 (SGLT2) ili agonisti receptora glukagonu-sličnog peptida-1 (GLP-1). Mnogobrojne studije su pokazale da su SGLT2 inhibitori veoma efikasni u snižavanju

konzentracije HbA<sub>1c</sub>, sa prosečnim sniženjem od 0,6-1,2%, u odnosu na početnu vrednost (11).

Rezultati ovog istraživanja su pokazali da metabolička kontrola DM značajno utiče na stepen invazivnosti postupka lečenja SDS. Naime, utvrdili smo da je u grupi sa adekvatnom glikoregulacijom najveći procenat pacijenata lečen konzervativnim pristupom, a najmanji opsežnijom hirurškom intervencijom (Tabela III). Takođe, treba naglasiti da je ukupan broj pacijenata koji je podvrgnut operativnom lečenju bio značajno veći u grupi sa neadekvatnom glikoregulacijom. U istraživanju koje su sproveli Paisey i saradnici je utvrđeno da neadekvatna metabolička kontrola doprinosi progresiji senzorne neuropatije, nezavisno od drugih faktora rizika (12). Takođe, u pomenutoj studiji vrednosti HbA<sub>1c</sub> su bile više kod pacijenata koji su razvili ulkus na stopalu (12), što ukazuje da je neadekvatna glikoregulacija povezana sa razvojem SDS. Pored činjenice da je neadekvatna glikemijska kontrola povezana sa razvojem neuropatije, te povećanim rizikom za razvoj SDS i amputaciju (13), novija istraživanja ukazuju da ima i nepovoljan uticaj na brzinu oporavka pacijenta. U studiji koju su izveli Christman i saradnici je utvrđeno da su vrednosti HbA<sub>1c</sub> u inverznoj korelaciji sa brzinom zarastanja rana na stopalu (4). Do danas su opisani brojni faktori koji doprinose sporijem zarastanju rana kod dijabetičara, u koje se ubrajaju: smanjena migracija i proliferacija keratinocita i fibroblasta, poremećaj funkcije citokina i faktora rasta, kao i poremećen odgovor na infekciju (14). Zajednički imenitelj za većinu ovih poremećaja je hiperglikemija (15). Ovde treba dodati i efekat hiperglikemije na razvoj oksidativnog stresa, kao i nastanak produkata glikozilacije, koji takođe otežavaju proces zarastanja rana (16).

Kao što je ranije pomenuto, rezultati UKPDS studije jasno pokazuju da je incidenca kliničkih komplikacija dijabetesa značajno povezana sa glikoregulacijom (6). Kako bi se dodatno istražio potencijalni nezavisan uticaj metaboličke kontrole DM na rizik od amputacija, uradili smo logističku regresionu analizu. Na osnovu dobijenih rezultata smo utvrdili da je verovatnoća za amputaciju bila 3,2 puta veća ukoliko je pacijent imao neadekvatnu glikoregulaciju (Tabela IV). Analizu smo zatim ponovili uz korekciju za tradicionalne faktore rizika za nastanak SDS (starost, muški pol, trajanje dijabetesa duže od 10 godina, pušenje i seosko okruženje) i utvrdili da je rizik za amputaciju zbog neadekvatne glikoregulacije ostao značajan i nezavisan od prisustva drugih faktora. U preglednom radu Zubair i saradnici navode da u slučaju povećanja HbA<sub>1c</sub> za 2% rizik za pojavu ulceracija raste 1,6 puta, a za amputaciju 1,5 puta (17), a naši rezultati se slažu sa navedenim podacima. U sedmogodišnjoj prospektivnoj studiji u Kostariki analizirana je incidenca i ishodi amputacija donjih ekstremiteta kod pacijenata sa dijabetesom (5). Rezultati su pokazali da najveći rizik za amputaciju imaju muškarci koji boluju od dijabetesa duže od deset godina i imaju vrednosti HbA<sub>1c</sub> ≥ 8%, a rizik se dodatno povećavao ukoliko je SDS bio udružen sa drugim komorbiditetima (7). U pomenutoj studiji stopa preživljavanja pacijenata u prve tri godine nakon amputacije

iznosila je 50% (7). Slični rezultati su dobijeni i u nedavno publikovanoj studiji koja je pratila razvoj komplikacija kod pacijenata sa tipom 2 DM tokom 11 meseci (8).

Naši podaci su pokazali da je neadekvatna glikoregulacija češća kod pacijenata koji žive u seoskoj sredini (Tabela III). Mnoge studije su se bavile analizom socioekonomskog statusa kod pacijenata sa SDS. Nizak socioekonomski status je često povezan sa prisustvom teških hroničnih bolesti i prihvaćen je kao faktor rizika u razvoju SDS (18). Faktori koji se posmatraju u ovakvim studijama obuhvataju profil populacije, nivo obrazovanja, finansijski status i komplijansu prema tretmanu same bolesti, pri čemu su rezultati pokazali da se SDS češće javlja kod pacijenata sa nižim stepenom obrazovanja, nižim mesečnim prihodima i neadekvatnom glikemijskom kontrolom (18, 19). Pored navedenih faktora rizika, treba pomenuti da je pacijentima koji dolaze iz seoskog okruženja zdravstvena nega manje dostupna. Seoske ambulante koje pripadaju primarnoj zaštiti su retke i teško dostupne. Veliki broj ovih pacijenata se javi izabranom lekaru kada problem sa stopalom već postoji. S druge strane, odnos hirurškog i medikamentoznog zbrinjavanja je bio sličan u obe sredine, što bi se moglo objasniti činjenicom da se definitivna dijagnostika u slučaju SDS obavlja, a odluke o terapijskom modalitetu donose u većim zdravstvenim centrima, te da mesto prebivališta nije od značaja u tom smislu. Štaviše, učestalost hirurškog lečenja bila je viša (iako bez statističke značajnosti) u grupi pacijenata koji žive u seoskoj sredini, što se može posmatrati kao logičan ishod lošije kontrole bolesti i nastanka težih manifestacija SDS u ovoj grupi.

## Zaključak

Rezultati prikazani u ovom radu ukazuju da je kod pacijenata sa tipom 2 DM neadekvatna glikoregulacija najučestaliji faktor rizika za nastanak SDS. Takođe, utvrdili smo da su pacijenti lečeni operativnim putem imali značajno više vrednosti HbA<sub>1c</sub> u poređenju sa pacijentima koji su lečeni konzervativnim pristupom. Sa porastom HbA<sub>1c</sub> rasla je verovatnoća za amputaciju, a neadekvatna glikoregulacija je bila nezavisan faktor rizika za hirurško lečenje SDS. Imajući u vidu da terapija pacijenata sa SDS predstavlja značajno finansijsko opterećenje za zdravstveni sistem, važno je identifikovati modifikujuće faktore rizika koji mogu pomoći u smanjenju broja amputacija i optimizovati negu pacijenata. U budućnosti bi pažnju trebalo usmeriti ka unapređenju prevencije kroz jaču saradnju između izabranog lekara, endokrinologa i farmaceuta - medicinskog biohemičara.

## Zahvalnica

Autori sa Katedre za medicinsku biohemiju Univerziteta u Beogradu - Farmaceutskog fakulteta su finansijski podržani sredstvima Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (Projekat br. 175035).

## Literatura

1. Christman AL, Selvin E, Margolis DJ, Lazarus GS, Garza LA. Hemoglobin A<sub>1c</sub> predicts healing rate in diabetic wounds. *J Invest Dermatol* 2011;131:2121-7.
2. Lacle A, Valero-Juan LF. Diabetes-related lower-extremity amputation incidence and risk: a prospective seven-year study in Costa Rica. *Rev Panam Salud Publica* 2012;32:192-8.
3. Republička komisija za izradu i implementaciju vodiča dobre kliničke prakse. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje diabetes mellitusa. Ministarstvo zdravlja Republike Srbije, Beograd, 2013.
4. Christman AL, Selvin E, Margolis DJ, Lazarus GS, Garza LA. Hemoglobin A<sub>1c</sub> predicts healing rate in diabetic wounds. *J Invest Dermatol* 2011;131:2121-7.
5. Bosić S, Dragašević M. Savremeno lečenje ulceracija na stopalu obolelih od dijabetesa. U: Matić M, Borović S, Vučetić ČS, urednici. Lečenje hroničnih rana. Beograd: Zavod za udžbenike; 2014. p. 241-4.
6. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ* 2000;321:405-12.
7. Boulton AJ. The diabetic foot: grand overview, epidemiology and pathogenesis. *Diabetes Metab Res Rev* 2008;24: S3-6.
8. Kulshrestha M, Seth S, Tripathi A, Seth A, Kumar A. Prevalence of complications and clinical audit of management of type 2 diabetes mellitus: a prospective hospital based study. *J Clin Diagn Res* 2015;9:25-8.
9. Miyajima S, Shirai A, Yamamoto S, Okada N, Matsushita T. Risk factors for major limb amputations in diabetic foot gangrene patients. *Diabetes Res Clin Pract* 2006;71: 272-9.
10. American Diabetes Association. 9. Pharmacologic approaches to glycemic treatment: standards of medical care in diabetes-2019. *Diabetes Care* 2019;42:S90.
11. Mikhail N. Place of sodium-glucose co-transporter type 2 inhibitors for treatment of type 2 diabetes. *World J Diabetes* 2014;5:854-9.
12. Paisey RB, Darby T, George AM, Eaterson M, Hewson P, Paisey CF, et al. Prediction of protective sensory loss, neuropathy and foot ulceration in type 2 diabetes. *BMJ Open Diabetes Res Care* 2016;4:e000163.
13. Gregg EW, Sorlie P, Paulose-Ram R, Gu Q, Eberhardt MS, Wolz M, et al. Prevalence of lower extremity disease in the US adult population  $\geq 40$  years of age with and without diabetes: 1999-2000 national health and nutrition examination survey. *Diabetes Care* 2004; 27:1591-7.
14. Brem H, Tomic-Canic M. Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. *J Clin Invest* 2007;117:1219-22.
15. Terashi H, Izumi K, Deveci M, Rhodes LM, Marcelo CL. High glucose inhibits human epidermal keratinocyte proliferation for cellular studies on diabetes mellitus, *Int Wound J* 2005;2:298-304.
16. Guo S, Dipietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res* 2010;89:219-29.
17. Zubair M, Malik A, Ahmad J. Diabetic foot ulcer: a review. *American Journal of Internal Medicine* 2015;3:28-49.

18. Nather A, FRCS (Ed), Bee CS, MRCP, et al. Socioeconomic profile of diabetic patients with and without foot problems. *Diabetic Foot Ankle* 2010; 1: 5523.
19. Dunlop S, Coyte CP, McIsaac W. Socio-economic status and the utilisation of physicians services: results from the Canadian National Population Health Survey. *Soc Sci Med* 2000; 51: 123-133.

# **Significance of glycosylated haemoglobin determination for the assessment of lower-extremity amputation risk in patients with diabetic foot**

**Tatjana Stefanović<sup>1</sup>, Srećko Bosić<sup>2</sup>, Jelena Vekić<sup>3\*</sup>,  
Vesna Spasojević-Kalimanovska<sup>3</sup>, Vesna Todorović<sup>1</sup>,  
Marina Pijanović<sup>4</sup>, Aleksandra Zeljković<sup>3</sup>, Aleksandra Stefanović<sup>3</sup>,  
Zorana Jelić-Ivanović<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Clinical Chemistry Laboratory, General Hospital, Požarevac, Serbia

<sup>2</sup>Department of Surgery, General Hospital, Požarevac, Serbia

<sup>3</sup>University of Belgrade-Faculty of Pharmacy, Department of Medical Biochemistry,  
Belgrade, Serbia

<sup>4</sup>Medical Biochemistry Laboratory Medilab, Požega, Serbia

\* Corresponding author: Jelena Vekić, Tel. + 381 11 3951 266,  
e-mail: jelena.vekic@pharmacy.bg.ac.rs

---

## **Summary**

Glycosylated hemoglobin (HbA<sub>1c</sub>) is important parameter for the assessment of long term metabolic control and risk for development of chronic complications in patients with diabetes mellitus (DM). This study investigates associations between achieved metabolic control in type 2 DM with the risk for the development of diabetic foot (DF) and its treatment modalities. The study included 111 patients (80 men and 31 women) with type 2 DM, aged 65.5±9.8 years. In 41 patients DF was treated by a conservative approach, 41 patients underwent a minor limb amputation (foot amputation) and 29 patients underwent a major limb amputation (below-knee amputation). The levels of HbA<sub>1c</sub> and serum biochemical parameters were measured by standard laboratory methods. The most frequent risk factor for DF in the examined group (82% patients) was poor glycaemic control (HbA<sub>1c</sub>>8%). The level of HbA<sub>1c</sub> was significantly higher in surgically treated patients than in the conservatively treated group ( $P<0.05$ ). The number of patients who underwent surgical treatment were significantly higher in the group with poor glycaemic control (62.8% patients with poor glycaemic control vs. 40% patients with optimal glycaemic control;  $P<0.05$ ). We found that the patients with poor glycaemic control had 3.2 times higher risk for amputation (OR=3.21; 95%CI:1.18-8.69;  $P<0.05$ ). In conclusion, our results demonstrated that optimal metabolic control in type 2 DM reduces the risk for DF development, as well as the invasiveness of DF treatment.

**Keywords:** diabetes mellitus; metabolic control; chronic complications; HbA<sub>1c</sub>.

---

## **Antifungalna aktivnost etarskog ulja *Seseli rigidum* Waldst. & Kit. (Apiaceae) na rast izolata *Candida albicans***

**Mirjana D. Marčetić<sup>1\*</sup>, Dragana D. Božić<sup>2</sup>, Marina T. Milenković<sup>2</sup>,**  
**Mirjana M. Kovačević<sup>3</sup>, Nada N. Kovačević<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za farmakognosiju,  
Vojvode Stepe 450, Beograd

<sup>2</sup> Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za mikrobiologiju i  
imunologiju, Vojvode Stepe 450, Beograd

<sup>3</sup> Poliklinika Beo-lab plus, Resavska 58-60, Beograd

\* Autor za korespondenciju: Mirjana Marčetić, Tel. +381 11 3951 358,  
e-mail: mirjana.marcetic@pharmacy.bg.ac.rs

---

### **Kratak sadržaj**

Ispitivano je delovanje etarskih ulja korena, herbe i ploda devesilja, *Seseli rigidum* iz dve prirodne populacije na 28 izolata *Candida albicans* i jedan standardni soj *C. albicans* ATCC 10259. Sojevi *C. albicans* koji su korišćeni u ovom ispitivanju izolovani su iz orofaringealnog brisa, vaginalnog i/ili cervikalnog brisa, brisa oka, brisa rane, fecesa i urina.

Ispitivani sojevi su pokazali visok stepen rezistencije prema delovanju kontrolnog antimikotika flukonazola, a u nešto manjoj meri i amfotericina B. Etarska ulja devesilja, primenjena u koncentracijama 50-200 µg/ml, uzrokovala su inhibiciju rasta ispitivanih sojeva (28,6-46,4% testiranih sojeva). Inhibitorni efekat na tri soja *C. albicans* ostvaren je sa etarskim uljem korena, sa oba lokaliteta, već pri koncentraciji od 50 µg/ml. Dominantno jedinjenje u ovim etarskim uljima je predstavljao falkarinol (57,5% i 88,8%). Slabiju aktivnost su ispoljila etarska ulje herbe i ploda devesilja, koja su u koncentraciji od 100 µg/ml inhibirala rast pojedinih ispitivanih sojeva. Kod etarskog ulja ploda uočeno je nešto izraženije delovanje etarskog ulja populacije iz Brdanske klisure, koje je sadržalo veću količinu α-pinena i β-felandrena, a manju količinu sabinena.

Dobijeni rezultati su pokazali da etarska ulja korena, herbe i ploda devesilja ispoljavaju značajnu antifungalnu aktivnost na pojedine rezistentne sojeve *C. albicans*.

**Ključne reči:** antifungalna aktivnost, *Seseli rigidum*, etarsko ulje, *Candida albicans*

---

## Uvod

Infekcije izazvane vrstama iz roda *Candida* predstavljaju značajan uzrok morbiditeta i mortaliteta širom sveta. Učestalost invazivnih infekcija izazvanih pripadnicima ovog roda je u poslednje dve decenije u stalnom porastu usled povećanja broja imunokompromitovanih osoba (1-3). Sam rod obuhvata preko 100 različitih vrsta, od kojih oboljenja ljudi najčešće izaziva *Candida albicans*, kao i nekoliko tzv. non-*albicans* vrsta: *C. glabrata*, *C. dubliniensis* *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae* i nedavno opisana *C. auris*. *Candida albicans* je široko rasprostranjena vrsta, koja predstavlja sastavni deo mikrobiote kože i sluzokože orofaringealnog i gastrointestinalnog trakta i vulvovaginalne regije. Infekcije su najčešće endogenog porekla, ali je moguć i egzogeni put širenja direktnim kontaktom sa lezijama na sluzokoži obolele osobe (najčešće seksualnim putem) ili unosom kontaminiranih lekova ili endoproteza (veštačkih srčanih valvula, intravenskih ili urinarnih katetera i sl.) (4, 5). Spektar infekcija koje izaziva *C. albicans* se kreće od blagih infekcija kože, sluzokože i noktiju, do teških infekcija kardiovaskularnog i nervnog sistema, kostiju, zglobova, oka i kandidemije, nastalih usled hematogene diseminacije. *Candida albicans* se i dalje smatra glavnim uzročnikom kandidemije, mada se poslednjih godina u različitim delovima sveta non-*albicans* vrste izoluju u više od 50 % slučajeva (6). U faktore rizika za razvoj sistemskih mikoza spadaju transplantacija koštane srži ili nekog drugog organa, neutropenijska, primena imunosupresivne terapije, maligne bolesti i AIDS, a češće se javljaju kod starijih osoba ili prevremeno rođene dece. U lečenju sistemskih infekcija se koriste samo 4 grupe antimikotika: azoli (flukonazol, itrakonazol, posakonazol i vorikonazol), polieni (amfotericin B), ehinokandini (mikafungin, anidulafungin i kasprofungin) i pirimidinski analog flucitozin.

Ograničen broj lekova koji se koriste kao prva terapijska linija, njihova velika toksičnost, kao i porast učestalosti rezistencije *Candida* spp. na antimikotike dodatno otežavaju lečenje ovih infekcija i povećavaju učestalost smrtnih ishoda (7). Rezistencija *Candida* spp. na antimikotike može biti urođena i stečena. Urođena rezistencija na flukonazol se javlja kod *C. krusei*, smanjena osetljivost na amfotericin B, ehinokandine i flukonazol kod *C. auris*, a smanjena osetljivost na ehinokandine i flukonazol kod *C. guilliermondii*. Stečena rezistencija se javlja nakon dugotrajne upotrebe antimikotika, najčešće pogađa vrste *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. kefyr* i *C. lusitaniae*, a nastaje usled mutacije gena za ciljne molekule, smanjene koncentracije leka u gljivičnim ćelijama (usled smanjenog ulaska leka ili prisustva efluksnih pumpi koje aktivno izbacuju lek iz ćelija) i smanjene intracellularne aktivacije leka (6). Kao i kod urođene rezistencije, stečenom rezistencijom je najviše pogodjena grupa azola.

Jedan od potencijalnih pristupa u borbi protiv rezistencije predstavlja upotreba biljnih proizvoda, koji samostalno ili u kombinaciji sa konvencionalnim antimikoticima postižu terapijski efekat. U odnosu na klasične antimikrobne lekove, na ovakve

kombinacije mikroorganizmi ne stiču, ili teže stiču rezistenciju, što predstavlja jednu od najznačajnijih prednosti.

Devesilje, *Seseli rigidum* Waldst. & Kit. (Apiaceae) je subendemična biljka raprostranjena na prostoru Balkanskog poluostrva, Rumunije i Ukrajine (8). *S. rigidum* je višegodišnja, zeljasta biljka sa štitasto razgranatom, uspravnom stabljikom i krutim, dvostruko perasto deljenim listovima. Cvetovi su sakupljeni u krupne štitove, a krunični listići su mali, beli ili ružičasti. Plod je šizokarpijum, jajastog oblika i orašice imaju 5 istaknutih rebara (9).

U dosadašnjim ispitivanjima u vrstama roda *Seseli* utvrđeno je prisustvo etarskih ulja, kumarina, flavonoida, lignana, seskviterpenskih laktona i poliacetilena (10-14). Vrste roda *Seseli* tradicionalno su primenjivane kod urinarnih tegoba, kašla i prehlade, tegoba sa varenjem, za pospešivanje lučenja žuči, kod reumatizma i za lečenje upala i otoka (11, 14-16). Etarsko ulje vrsta roda *Seseli* je pokazalo antibakterijsko (15, 17-19), antifungalno (16, 17, 20) i umereno citotoksično delovanje (16, 21). Etilacetatni ekstrakti herbe vrsta *S. andronakii*, *S. campestre*, *S. gummiferum* subsp. *corymbosum*, *S. petraeum*, *S. resinosum* i *S. tortuosum* i kumarini izolovani iz *S. gummiferum* subsp. *corymbosum* ispoljili su antinociceptivnu i antiinflamatornu aktivnost, bez indukcije akutne toksičnosti ili oštećenja gastrične mukoze (11, 13).

Cilj rada je bilo ispitivanje antifungalne aktivnosti etarskog ulja korena, herbe i ploda devesilja, *S. rigidum* iz dve prirodne populacije. Ispitano je delovanje prema 28 izolata gljivice *Candida albicans*, a kao pozitivne kontrole korišćeni su antimikotici flukonazol i amfotericin B.

## Eksperimentalni deo

### *Biljni materijal, izolacija i analiza etarskog ulja*

Biljni materijal je prikupljan iz dve prirodne populacije na teritoriji Republike Srbije. Nadzemni deo i koren devesilja, *Seseli rigidum* Waldst. & Kit. (Apiaceae) u fazi cvetanja sakupljeni su u junu 2010. godine, a plod u septembru 2010. godine u Brđanskoj klisuri (Herbarski uzorak 3228 HFF, Herbarijum Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu) i Golupcu (Herbarski uzorak 3233 HFF, Herbarijum Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu).

Etarsko ulje je izolovano iz osušenog i usitjenog biljnog materijala destilacijom pomoću vodene pare u aparaturi po Klevendžeru tokom 2,5 časa, postupkom datim u Ph. Eur. 9.0. (22).

Kvalitativna i kvantitativna analiza etarskih ulja urađena je primenom metoda gasne hromatografije (GC) i gasne hromatografije sa masenom spektrometrijom (GC-MS), pod ranije opisanim uslovima (23).

## **Ispitivanje antifungalne aktivnosti etarskog ulja i antifungalnih agenasa na rast izolata *Candida albicans***

Ispitivana je aktivnost etarskog ulja korena, herbe i ploda devesilja bujon-mikrodilucionom metodom (24) na 28 izolovanih vanbolničkih sojeva *C. albicans*, kao i na standardnom laboratorijskom soju *C. albicans* (ATCC 10259) (Tabela I). Identifikacija izolata *C. albicans* do nivoa vrste komercijalnim testovima Candi-fast (ELITech Group, Francuska) i ispitivanje osetljivosti na konvencionalne antimikotike urađeni su u mikrobiološkoj laboratoriji Beo-lab plus, Beograd.

**Tabela I** Poreklo izolovanih sojeva *C. albicans*

**Table I** The origin of the isolated strains of *C. Albicans*

<i>C. albicans</i> Broj soja	Poreklo izolata	<i>C. albicans</i> Broj soja	Poreklo izolata
1.	orofaringealni bris	16.	orofaringealni bris
2.	orofaringealni bris	17.	orofaringealni bris
3.	koprokultura	18.	vaginalni i cervikalni bris
4.	vaginalni i cervikalni bris	19.	vaginalni i cervikalni bris
5.	orofaringealni bris	20.	koprokultura
6.	cervikalni bris	21.	koprokultura
7.	koprokultura	22.	vaginalni i cervikalni bris
8.	vaginalni i cervikalni bris	23.	vaginalni bris
9.	koprokultura	24.	vaginalni bris
10.	vaginalni i cervikalni bris	25.	urinokultura
11.	bris oka	26.	orofaringealni bris
12.	koprokultura	27.	vaginalni bris
13.	bris rane	28.	cervikalni bris
14.	vaginalni i cervikalni bris	ATCC 10259	standardni soj
15.	vaginalni i cervikalni bris		

Prekonoćne kulture svakog soja kandidate su pripremljene u *Sabouraud* bujonom, tako da je finalna suspenzija sadržala inokulum  $2 \times 10^5$  ćelija gljiva/ml (CFU/ml). Etarska ulja su rastvarana u dimetilsulfoksidu (DMSO) do koncentracije 5 mg/ml, a zatim razblažena u *Sabouraud* bujonom do radnih koncentracija (6,25-200 µg/ml).

Suspenzijama ćelija gljiva dodat je indikator rasta 2,3,5-trifeniltetrazolijum hlorid (TTC, Sigma, USA) (0,05%). TTC je redoks indikator, koji se koristi za detekciju ćelijske respiracije i samim tim za diferenciranje metabolički aktivnih od metabolički neaktivnih ćelija. Pod uticajem ćelijskih dehidrogenaza dolazi do enzimske redukcije TTC, koji je bezbojan do 1,3,5-trifenilformazana (TFF), koji je crvene boje.

U mikrotitrationu ploču sa 96 mesta je dodato po 100 µl razblaženja etarskog ulja u triplikatu i po 100 µl suspenzije ćelija gljiva. Kao negativna kontrola su postavljena dva triplikata ćelija gljiva u medijumu bez dodatka etarskog ulja. Nakon 48h kultivacije u termostatu na 35°C u aerobnim uslovima očitana je minimalna inhibitorna koncentracija (MIK). Minimalna inhibitorna koncentracija je predstavljala najnižu koncentraciju etarskog ulja, pri kojoj nije uočen vidljiv rast mikroorganizma (vizuelnim očitavanjem boja medijuma je ostala nepromenjena). Kao kontrolni antimikotici primjenjeni su flukonazol i amfotericin B. Svaki eksperiment je ponovljen tri puta, a kao rezultat predstavljene su dobijene srednje vrednosti.

### ***Rezultati i diskusija***

Hemijski sastav ispitivanih etarskih ulja korena, herbe i ploda devesilja je utvrđen GC i GC-MS analizama i prikazan u prethodnom istraživanju (23). Karakterističan sastojak u etarskom ulju korena *S. rigidum* bio je poliacetilen falkarinol (19, 25). Alifatični poliacetileni tipa falkarinola prisutni su u mnogim vrstama familije Apiaceae i pokazuju niz bioloških aktivnosti, poput antimikrobnog i citotoksičnog delovanja (26-28). Etarsko ulje korena populacije iz Brđanske klisure sadržalo je veću koncentraciju falkarinola (88,8%) od ulja populacije iz Golupca (57,5%) (Tabela II) (19, 23). U etarskom ulju herbe devesilja glavne sastojke su predstavljali monoterpeni: α-pinjen (57,4% i 44,7%), sabinen (5,5% i 16,1%) i limonen (6,7% i 8,4%), a u etarskom ulju ploda monoterpeni α-pinjen (23,3% i 21,1%) i sabinen (12,9% i 19,2%), kao i seskviterpen β-felandren (17,4 i 12,6%) (19, 23).

**Tabela II** Sastav etarskog ulja korena, herbe i ploda *S. rigidum* iz dve prirodne populacije (23)**Table II** The composition of the essential oil of *S. rigidum* root, aerial parts and fruit from two natural populations (23)

	Sadržaj (%) <sup>a</sup>					
	Brđanska klisura			Golubac		
	Koren <sup>b</sup>	Herba <sup>c</sup>	Plod <sup>d</sup>	Koren	Herba	Plod
α-Pinen	0,2	57,4	23,3	4,3	44,7	21,1
Kamfen	tr <sup>e</sup>	5,8	2,3	0,2	2,2	0,8
Sabinen	tr	5,5	12,9	1,2	16,1	19,2
β-Pinen	tr	3,1	2,1	0,6	6,0	4,6
Limonen	tr	6,7	tr	0,8	8,4	tr
β-Felandren	-	tr	17,4	tr	tr	12,6
δ-Amorfen	0,3	-	-	7,2	-	-
Falkarinol	88,8	-	2,9	57,5	0,3	2,7

<sup>a</sup> Relativni udeo jedinjenja u etarskom ulju; <sup>b</sup> etarsko ulje korena; <sup>c</sup> etarsko ulje herbe;<sup>d</sup> etarsko ulje ploda; <sup>e</sup> tragovi (<0.1%).

Ispitana je aktivnost etarskog ulja korena, herbe i ploda devesilja na rast 28 izolovanih vanbolničkih sojeva *C. albicans* od kojih je 28,6% iz vaginalnog i cervikalnog brisa, 10,7% iz vaginalnog brisa, 7,1% iz cervikalnog brisa, 21,4% iz orofaringealnog brisa, 21,4% iz koprokulturne, 3,6% iz brisa oka, 3,6% iz brisa rane i 3,6% iz urinokulture, kao i na standardni laboratorijski soj *C. albicans* ATCC 10259.

**Tabela III** Antifungalna aktivnost etarskog ulja korena, herbe i ploda *S. rigidum* na rast izolata i standardnog soja *C. albicans*

**Table III** Antifungal activity of essential oil of *S. rigidum* root, aerial parts and fruit on the growth of *C. albicans* isolates and standard strain

C. albicans Broj soja	Brđanska klisura <sup>a</sup>			Golubac <sup>b</sup>			Kontrola <sup>c</sup>	
	Koren	Herba	Plod	Koren	Herba	Plod	Amfotericin B	Flukonazol
	MIK <sup>d</sup> (µg/ml)							
1.	200	>200	>200	200	>200	>200	0,05	<4
2.	>200	>200	>200	>200	>200	>200	0,05	>64
3.	>200	>200	>200	>200	>200	>200	0,05	>64
4.	100	100	>200	100	200	>200	0,05	<4
5.	200	>200	>200	>200	>200	>200	0,05	32
6.	200	>200	>200	>200	>200	>200	0,05	16
7.	100	100	100	100	100	100	0,05	>64
8.	>200	>200	>200	>200	>200	>200	0,05	64
9.	200	>200	>200	>200	>200	>200	0,05	>64
10.	100	100	100	50	100	100	0,75	<4
11.	>200	>200	>200	200	>200	>200	>50	<4
12.	>200	>200	>200	>200	>200	>200	0,38	>64
13.	50	100	100	50	100	200	12,5	32
14.	50	100	100	50	200	100	0,75	16
15.	50	100	100	50	100	100	12,5	32
16.	>200	>200	>200	>200	>200	>200	12,5	>64
17.	>200	>200	>200	>200	>200	>200	12,5	>64
18.	200	200	100	200	200	100	0,05	<4
19.	>200	>200	>200	>200	>200	>200	0,75	>64
20.	200	100	100	100	100	100	25	>64
21.	>200	>200	>200	>200	>200	>200	6,25	>64
22.	>200	>200	>200	>200	>200	>200	0,05	>64
23.	>200	>200	>200	>200	>200	>200	0,75	>64
24.	200	200	100	200	100	100	3,12	>64
25.	>200	200	>200	>200	>200	>200	0,05	<4
26.	>200	>200	>200	>200	>200	>200	6,25	>64
27.	>200	>200	>200	>200	>200	>200	0,05	>64
28.	>200	>200	>200	>200	>200	>200	0,75	<4
ATCC 10259	100	200	100	200	100	200	12,5	<4

<sup>a</sup> etarsko ulje korena, herbe ili ploda devesilja populacije iz Brđanske klisure; <sup>b</sup> etarsko ulje korena, herbe ili ploda devesilja populacije iz Golupca; <sup>c</sup> kontrola -antimikotici amfotericin B i flukonazol; <sup>d</sup> minimalna inhibitorna koncentracija (µg/ml);

**Tabela IV** Osetljivost izolata *C. albicans* na delovanje etarskih ulja korena, herbe i ploda *S. rigidum*

**Table IV** The sensibility of *C. albicans* isolates on effect of essential oil of *S. rigidum* root, aerial parts and fruit

MIK <sup>a</sup> ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Etarsko ulje korena		Etarsko ulje herbe		Etarsko ulje ploda	
	Brđanska klisura	Golubac	Brđanska klisura	Golubac	Brđanska klisura	Golubac
% izolata <sup>b</sup>						
50	10,7	14,3	0	0	0	0
100	10,7	10,7	25	21,4	28,6	25
200	25	14,3	10,7	10,7	0	3,6
>200	53,6	60,7	64,3	67,9	71,4	71,4

<sup>a</sup> minimalna inhibitorna koncentracija ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ );

<sup>b</sup> % izolata *Candida albicans* koji su osetljivi na određenu MIK i % izolata za koje MIK nije utvrđena (>200).

Ispitivana etarska ulja su inhibirala rast 28,6-46,4% testiranih sojeva *C. albicans* u rasponu koncentracija 50- 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (Tabela III i IV). U opsegu testiranih koncentracija, MIK nije detektovan kod 53,6-71,4% testiranih sojeva (Tabela III i IV). Najizraženiji inhibitorni efekat (50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) na rast određenih sojeva ostvaren je sa etarskim uljem korena devesilja sa oba lokaliteta (etarsko ulje korena-Brđanska klisura na 10,7% i etarsko ulje korena - Golubac na 14,3% izolata, Tabela IV). Najveću osetljivost su pokazali izolati iz vaginalnog i cervikalnog brisa (3/13 izolata MIK 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 2/13 izolata MIK 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ), koprokulture (2/6 izolata MIK 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) i brisa rane (1/1 izolat MIK 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). Dominantno jedinjenje u etarskom ulju korena obe populacije je bio falkarinol (88,8% i 57,5%). Ranije istraživanje je pokazalo da falkarinol i falkarindiol deluju antifungalno i da u koncentracijama 20-200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  inhibiraju germinaciju spora gljivica (26). U našem ispitivanju, nešto bolju antifungalnu aktivnost je ispoljilo etarsko ulje korena populacije iz Golupca, sa manjim sadržajem falkarinola (57,5%), a više  $\delta$ -amorfena (7,2%) i  $\alpha$ -pinena (4,3%). Prirodni proizvodi, poput etarskih ulja su smeše velikog broja komponenti, koje ostvaruju delovanje na različita ciljna mesta unutar ćelije mikroorganizama i mogu ispoljiti aditivni ili

sinergistički efekat (29, 30). U našem ispitivanju uzrok različite osetljivosti ispitivanih sojeva može biti i njihovo različito poreklo (različiti klinički uzorci).

Slabija aktivnost uočena je kod etarskog ulja herbe devesilja, kao i kod etarskog ulja ploda. U koncentraciji od 100 µg/ml etarsko ulje herbe iz Brđanske klisure pokazalo je inhibitorno delovanje na rast 25% ispitivanih izolata, a etarsko ulje herbe iz Golupca na rast 21,4% ispitivanih izolata. Etarsko ulje ploda populacije iz Brđanske klisure je ispoljilo nešto bolji efekat na rast izolata *C. albicans* (MIK 100 µg/ml za 28,6% izolata) od etarskog ulja ploda populacije iz Golupca (MIK 100 µg/ml za 25% izolata). Etarsko ulje ploda populacije iz Brđanske klisure je sadržalo veću količinu α-pinena (23,3%) i β-felandrena (17,4%), a manju količinu sabinena (12,9%).

Visok stepen rezistencije ispitivanih sojeva uočen je i prema delovanju kontrolnog antifungalnog agensa flukonazola, a u nešto manjoj meri amfotericina B. Najveći broj izolata (65,5%) je bio osetljiv na dejstvo amfotericina B (MIK < 1 µg/ml ) dok je 55,1% izolata pokazalo rezistenciju na flukonazol (MIK > 4 µg/ml ).

Delovanje etarskih ulja korena, herbe i ploda je bilo izraženije od ranije ispitivane antifungalne aktivnosti etarskog ulja cvasti devesilja na sojeve *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *Penicillium ochrochloron*, *P. funiculosum* i *Trichoderma viride* (MIK 10-50 µl/ml) (17). Takođe, aktivnost etarskog ulja plodova *S. tortuosum* L. i *S. montanum* L. na sojeve *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. guillermondii*, *C. parapsilosis* je bila znatno slabija (0,64-5 µl/ml i 0,64-10 µl/ml,) (16), kao i aktivnost etarskog ulja herbe *S. annum* na 15 sojeva gljivica (12,5-50 µl/ml,) (20). Duarte i sar. (31) su ispitivali antifungalno delovanje etarskog ulja 35 tradicionalno korišćenih brazilske biljnog vrsta. Etarsko ulje 13 vrsta je inhibiralo rast standardnog soja *C. albicans* (MIK 250-2000 µg/ml). Najbolje delovanje su pokazala etarska ulja listova *Achillea millefolium* L., *Mikania laevigata* Sch. Bip. ex Baker (Asteraceae) i *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl (Verbenaceae) (MIK 250 µg/ml). U poređenju sa literaturnim podacima može se uočiti značajna antifungalna aktivnost etarskog ulja devesilja na pojedine ispitivane rezistentne izolate *C. albicans*.

Terpenska jedinjenja utiču na permeabilnost ćelijske membrane, kao i na biosintezu ergosterola, značajnog sastojka u ćelijskoj membrani gljivica. Posledično dolazi do poremećaja propustljivosti membrane, disbalansa kalcijumovih jona i narušene homeostaze. Silva i sar. (32) su uočili da etarsko ulje ploda korijandra (*Coriandrum sativum* L.) dovodi do poremećaja membranskog potencijala i integriteta ćelijske membrane soja *C. albicans*. Takođe, terpenska jedinjenja mogu uticati i na ushodnu ili nishodnu regulaciju transkripcije gena, što dovodi do poremećaja strukture membrane i onemogućene biosinteze ergosterola u ćelijama gljiva (33).

## Zaključak

Eatarska ulja korena, herbe i ploda devesilja, *S. rigidum* iz dve prirodne populacije ispoljila su značajnu antifungalnu aktivnost na pojedine izolate *C. albicans*. Najbolje

delovanje je pokazalo etarsko ulje korena iz obe populacije sa visokim sadržajem falkarinola. Dobijena aktivnost je najverovatnije posledica uticaja terpena na permeabilnost čelijskog zida gljiva. Ovi rezultati su naročito značajni u odnosu na izraženu rezistenciju ispitivanih sojeva prema kontrolnim antimikoticima flukonazolu i amfotericinu B.

## Zahvalnica

Rad je realizovan u okviru naučnog projekta 173021, koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

## Literatura:

1. Pfaller MA, Diekma DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20:133-63.
2. Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, Fishman JA, Steinbach WJ, Olyaei AJ, Marr KA, Pfaller MA, Chang C, Webster KM. Clinical characteristics of 2019 patients with candidemia: data from PATH Alliance Registry. *Clin Infect Dis.* 2009;48:1695-1703.
3. Enoch DA, Yang H, Aliyu SH, Micallef C. The changing epidemiology of invasive fungal infections. In: Lion T, editor. *Human Fungal Pathogen Identification: Methods and Protocols.* Methods Mol Biol, vol 1508. New York: Humana Press; 2017.
4. Dignani MC. *Candida*. In: Annaisie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors. *Clinical mycology* 2nd ed. New York: Churchill Livingstone; 2009.
5. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. *Medical Microbiology*. 7th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier Inc.; 2013. p. 605-83.
6. Arendrup MC, Patterson TF. Multidrug-Resistant *Candida*: Epidemiology, Molecular Mechanisms, and Treatment. *J Infect Dis.* 2017;15:216(3):S445-51.
7. Gudlagsson O, Gillespie S, Lee K, Vandle Berg J, Hu J, Messer S, Herwaldt L, Pfaller M, Diekma D. Attributable mortality of nosocomial candidemia, revisited. *Clin Infect Dis.* 2003; 37:1172-77.
8. Ball PW. *Seseli* L. In: Tutin TG, Heywood VH, Burges NA, Moore DM, Valentine DH, Walters SM, Webb DA, editors. *Flora Europaea*, Vol. III. London: Cambridge University Press; 1968. p. 334-338.
9. Nikolić V. *Apiaceae; Rod Seseli* L. In: Josifović M, editor. *Flora SR Srbije*, Vol. V. Beograd: Srpska akademija nauka i umetnosti; 1973.

10. Barrero AJ, Herrador MM, Arteaga P. Sesquiterpene lactones and other constituents from *Seseli varyedanum*. *Phytochemistry* 1994;37:1351-8.
11. Küpeli E, Tosun A, Yesilada E. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Seseli* L. species (Apiaceae) growing in Turkey. *J Ethnopharmacol.* 2006;104:310-4.
12. Vučković I, Trajković V, Macura S, Tešević V, Janaćković P, Milosavljević S. A novel cytotoxic lignan from *Seseli annuum* L. *Phytother Res.* 2007;21:790-2.
13. Tosun A, Akkol EK, Yeşilada E. Anti-inflammatory and antinociceptive activity of coumarins from *Seseli gummiferum* subsp. *corymbosum* (Apiaceae). *Z Naturforsch C* 2009;64(1-2):56-62.
14. Abbaskhan A, Choudhary MI, Ghayur MN, Parween Z, Shaheen F, Gilani AU *et al.* Biological activities of Indian celery, *Seseli diffusum* (Roxb. ex Sm.) Sant. & Wagh. *Phytother Res.* 2012;26:783-6.
15. Tosun A, Özkal N, Yıldız S. Antimicrobial activity screening of some *Seseli* L. species growing in Turkey. *J. Fac. Pharm, Ankara* 2004;33(3):151-5.
16. Gonçalves MJ, Tavares AC, Cavaleiro C, Cruz MT, Lopes MC, Canhoto J *et al.* Composition, antifungal activity and cytotoxicity of the essential oils of *Seseli tortuosum* L. and *Seseli montanum* subsp. *peixotoanum* (Samp.) M. Laínz from Portugal. *Ind Crops Prod.* 2012;39:204-9.
17. Stojkovic S, Petrovic S, Kukic J, Dzamic A, Ristic M, Milenkovic M *et al.* Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activity of *Seseli rigidum* flower essential oil. *Chem Nat Compd.* 2009;45:253-6.
18. Skalicka-Wozniak K, Los R, Glowniak K, Malm A. Comparison of hydrodistillation and headspace solid-phase microextraction techniques for antibacterial volatile compounds from the fruits of *Seseli libanotis*. *Nat Prod Commun* 2010;5:1427-30.
19. Marčetić M, Božić D, Milenković M, Lakušić B, Kovačević N. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of different parts of *Seseli rigidum*. *Nat Prod Commun.* 2012;7(8):1091-4.
20. Milosavljević S, Tešević V, Vučković I, Jadranin M, Vajs V, Soković M *et al.* Composition and antifungal activity of the essential oil of *Seseli annuum* wild-growing in Serbia. *Fitoterapia* 2007;78:319-22.
21. Shahabipour S, Javidnia K, Firuzi O, Miri R. Chemical constituents and cytotoxic activity of the essential oil of *Libanotis transcaucasica* Schischk from Iran. *Res Pharm Sci* 2012; 7(5): S745.
22. European Pharmacopoeia, 9th Edition, Strasbourg: Council of Europe; 2016.
23. Živković L, Čabarkapa A, Marčetić M, Kovačević N, Bajić V, Jovičić S, Spremo-Potparević B. Evaluation of genotoxic and antigenotoxic properties of essential oils of *Seseli rigidum* Waldst. & Kit. (Apiaceae) *Arch. Biol. Sci., Belgrade* 2016;68(1):135-44.
24. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI document M100-S17, ISBN 1-56238-625-5; 2017.
25. Marčetić DM, Lakušić SB, Lakušić VD, Kovačević NN. Variability of the Root Essential Oils of *Seseli rigidum* Waldst. & Kit. (Apiaceae) from Different Populations in Serbia. *Chem Biodivers.* 2013;10:1653-66.
26. Christensen L, Brandt K. Bioactive polyacetylenes in food plants of the Apiaceae family: occurrence, bioactivity and analysis. *J Pharm Biomed Anal.* 2006;41:683-93.

27. Schinkovitz A, Stavri M, Gibbons S, Bucar F. Antimycobacterial polyacetylenes from *Levisticum officinale*. *Phytother Res.* 2008;22(5):681-4.
28. Christensen LP. Aliphatic C17-Polyacetylenes of the Falcarinol Type as Potential Health Promoting Compounds in Food Plants of the Apiaceae Family. *Recent Pat Food Nutr Agric.* 2011;3:64-77.
29. Ma XH, Zheng CJ, Han LY, Xie B, Jia J, Cao ZW *et al.* Synergistic therapeutic actions of herbal ingredients and their mechanisms from molecular interaction and network perspectives. *Drug Discov Today* 2009;14:579-88.
30. Wagner H. Synergy research: Approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Fitoterapia* 2011;82:34-7.
31. Duarte MCT, Figueira GM, Sartoratto A, Rehder VLG, Delarmelina C. Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. *J Ethnopharmacol.* 2005; 97: 305-11.
32. Silva F, Ferreira S, Duarte A, Mendonça DI, Domingues FC. Antifungal activity of *Coriandrum sativum* essential oil, its mode of action against *Candida* species and potential synergism with amphotericin B. *Phytomedicine* 2011;19(1):42-7.
33. Hyldgaard M, Mygind T, Meyer RL. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Front Microbiol.* 2012;3:1-14.

# **Antifungal activity of the essential oil of *Seseli rigidum* Waldst. & Kit. (Apiaceae) on the growth of isolates of *Candida albicans***

**Mirjana D. Marčetić<sup>1\*</sup>, Dragana D. Božić<sup>2</sup>, Marina T. Milenković<sup>2</sup>,  
Mirjana M. Kovačević<sup>3</sup>, Nada N. Kovačević<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy,  
Vojvode Stepe 450, Belgrade

<sup>2</sup> University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Microbiology and  
Immunology, Vojvode Stepe 450, Belgrade

<sup>3</sup> Beo-lab plus Laboratories, Resavska 58-60, Belgrade

\*Correspondence author: Mirjana Marčetić, Tel. +381 11 3951 358,  
e-mail: mirjana.marcetic@pharmacy.bg.ac.rs

---

## **Summary**

The antimicrobial activity of the essential oils of root, aerial parts and fruit from two natural populations of *Seseli rigidum* was tested against 28 isolates of *Candida albicans* and one laboratory control strain of *C. albicans* ATCC 10259. Strains of *C. albicans* were isolated from oropharyngeal swabs, vaginal and/or cervical swabs, eye swabs, wound swabs, feces and urine.

The investigated strains showed high level of resistance towards the activity of control antimycotic agent fluconazole and to a lower extent towards amphotericin B. The *S. rigidum* essential oils, in the concentrations of 50-200 µg/ml, inhibited the growth of investigated strains (28.6-46.4% of tested strains). The essential oils of root from both localities showed antifungal effect at the concentration 50 µg/ml. The dominant compound in the root essential oils was falcarinol (57.5% and 88.8%). The lower activity was obtained with the essential oil of aerial parts or fruit. The 100 µg/ml of essential oil of aerial parts showed significant effect on *C. albicans* strains. The essential oil of fruit from population from Brdjanska gorge exerted somehow higher effect. It was characterised by higher α-pinene and β-phellandrene content and lower amount of sabinene.

The obtained results revealed the significant antifungal effects of *S. rigidum* root, aerial parts and fruit essential oils against resistant strains of *C. albicans*.

**Keywords:** antifungal activity, *Seseli rigidum*, essential oil, *Candida albicans*

---

# Degradation Kinetics and Characterization of Degradation Products of Losartan Potassium by LC-MS/MS method

Vladimir Dobričić, Bojan Marković\*

University of Belgrade – Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

\*Corresponding author. Tel: +381 11 3951 34,  
e-mail: bojan.markovic@pharmacy.bg.ac.rs

---

## Summary

This paper presents study of losartan potassium stability evaluation by liquid chromatography with UV/VIS and MS-MS detection and its degradation profile. A solution of losartan potassium was exposed to the following stress agents: 0.1 M HCl, 0.1 M NaOH, and 3% (v/v)  $H_2O_2$ . The analyses of losartan potassium solutions were carried out in a gradient elution mode with acetonitrile and 0.1% (v/v)  $CF_3COOH$  aqueous solution and constant flow rate of  $0.5 \text{ mL min}^{-1}$  within 22 min run time.

After 7 days of losartan potassium solutions exposure to the stress agents at room temperature, it was found that the degree of degradation in the presence of 0.1 M HCl and 0.1 M NaOH was less than 1%, while in the presence of 3%  $H_2O_2$  degradation was significantly higher (about 10%). Chemical structure elucidation of the major degradation products of losartan potassium was performed using LC-MS/MS method.

The concentration versus time plot indicated that in 3% (v/v)  $H_2O_2$  solution losartan potassium was degraded according to the pseudo zero-order reaction kinetics with  $1.48 \cdot 10^{-8} \text{ mol L}^{-1} \text{ day}^{-1}$  rate constant.

**Keywords:** Losartan potassium; Forced degradation; Kinetics; LC-MS/MS

---

## **1. Introduction**

Angiotensin II receptor antagonists (ARA II) are used as the first line treatment in essential hypertension. ARA II have been developed to specifically and selectively block AT1 receptor of the rennin angiotensin system by displacing angiotensin II from it (1). Losartan potassium (potassium 5-[4'-[[2-butyl-4-chloro-5-(hydroxymethyl)-1H-imidazol-1-yl]methyl]biphenyl-2-yl]tetrazol-1-ide) was the first antihypertensive drug that acts in accordance to this mechanism. It is effective agent for the treatment of hypertension and heart failure either alone or together with diuretics (2).

Forced degradation is crucial in providing useful information about the degradation pathways and degradation products that could be formed during manufacture and storage. The information thus obtained can facilitate pharmaceutical development in areas such as manufacturing, formulation development, synthesis of degradation products and packaging. Thus, stability testing is used to improve the quality of drug product (3).

The International Conference on Harmonization (ICH) makes a point of forced degradation study of drug substance to generate information on degradation products that can be formed under the influence of hydrolytic, oxidative, thermal or photolytic degradation conditions. ICH defines procedure for the photolytic degradation investigations, whereas for other stress conditions only recommendations are provided. Registration documentation of new drug requires data of forced degradation studies, including degradation products, degradation reaction kinetics, structure, mass balance, chromatographic peak purity, etc (4, 5).

Several methods have been published for simultaneous determination of ARA II drugs in the presence of the degradation products, including UV spectrophotometry (6, 7), HPTLC (8, 9) HPLC (10-13) HPLC-MS and HPLC-MS/MS (14, 15), as well as multidimensional NMR and FTIR (16).

The aim of this paper was to characterize the forced degradation products of losartan potassium by LC-MS/MS method, as well as to determine chemical degradation reaction kinetics under stress conditions.

## **2. Experimental**

### **2.1 Chemicals and reagents**

Losartan potassium working standard powder was kindly supplied by pharmaceutical company PharmaS (Serbia). All of the reagents used in the experiment were of analytical grade. Hydrochloric acid (Centrohem, Serbia), sodium hydroxide (Centrohem, Serbia), 30% (v/v) hydrogen peroxide (Centrohem, Serbia) and methanol HPLC grade (Macron fine chemicals, Poland) were used for the preparation of the solutions. Ultra-pure water (purified by the TKA GenPure system, Germany),

trifluoroacetic acid for HPLC (Merck, Germany) and acetonitrile LC/MS grade (Sigma-Aldrich, Germany) were used for the preparation of the mobile phase.

## 2.2 Instrumentation

Analyses were carried out on a UHPLC–MS/MS system consisting of a Thermo ACCEL A UHPLC (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) equipped with PDA detector and coupled to Thermo TSQ Quantum Access Max triple quad Mass Spectrometer (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) with a heated electrospray ionization (HESI) interface. A 20 µL samples were injected into a Waters Xterra® MS C18 column (3.5µm, 150mm×2.1mm) and eluted with 500 µL min<sup>-1</sup> mobile phase flow rate (column temperature was set to 25°C). The mobile phase was filtered through a 0.22 µm nylon filter before use and consisted of solution A (acetonitrile) and solution B (0.1% (v/v) CF<sub>3</sub>COOH aqueous solution), with a timed gradient mode T (min)/% A: 0 min/20%, 1 min/20%, 20 min/80%, 20.5 min/80%, 21 min/20%, 22 min/20%.

PDA detection was carried out at 220 nm. MS analysis was performed in a positive-ion mode. The spectrometer was optimized by infusion of losartan potassium working standard solution in methanol (10 ppm), using the integrated syringe pump (flow rate 10 µL min<sup>-1</sup>). The spray voltage was 5000 V. The temperature in the capillary was adjusted to 200 °C, while the vaporizer temperature was set to 200 °C. Sheet gas pressure was set to 40 units, while the auxiliary valve flow was set to 15 units. MS resolution values were defined to correspond to a mass resolution of 0.7 Da. All data were acquired and processed by Xcalibur software (ThermoFisher, SanJose, CA, USA).

## 2.3 Sample preparation

To prepare the stock solution ( $c = 10 \text{ mg mL}^{-1}$ ), 500 mg of losartan potassium working standard was accurately weighted into a 50 mL volumetric flask, dissolved in methanol and filled up to volume. Working solutions were obtained by diluting 5 ml stock solution in five 50 mL volumetric flasks and filled up to volume with 0.1 M HCl, 0.1 M NaOH, 3% (v/v) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, water and methanol, respectively. Final solutions were prepared by diluting 2.5 mL of corresponding working solutions with methanol in 5 mL volumetric flasks immediately before injection. Concentrations of these solutions were 0.5 mg mL<sup>-1</sup>.

## 2.4 Analysis of degradation products

Prepared solutions were kept at room temperature and analysis of degradation products was performed after seven days. For identification of main degradation products, LC-MS chromatograms were recorded in full scan mode with m/z ratios in the range from 210 to 1000. For all of identified degradation product, MS/MS spectra were recorded by direct infusion of analyzed solution in spectrometer. The obtained fragment ions were used for structural analysis.

## **2.5 Kinetics of chemical degradation**

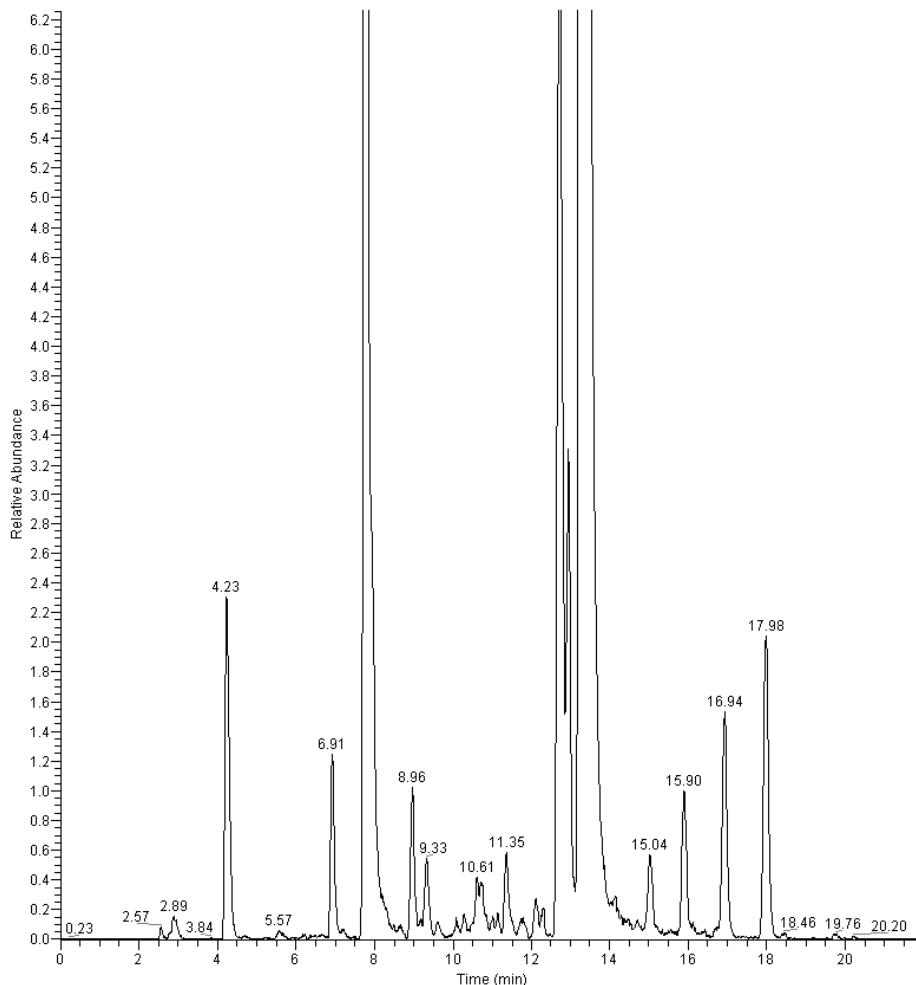
Degradation of losartan potassium was monitored 3.5 months under selected conditions by LC-MS simple ion monitoring (SIM) acquisition. Quantification of the remaining losartan potassium in the analyzed solutions was performed by monitoring losartan  $[M+H]^+$  ion ( $m/z$ ) 423 and by comparing with chromatographic peaks from chromatogram of standard solution (zero-time solution).

## **3. Results and discussion**

According to the literature data, losartan showed lower degradation under thermal and photolytic stress conditions in comparison to some other cardiovascular drugs, such as valsartan and ramipril (17, 18). In this study, stability of losartan potassium in 0.1 M HCl, 0.1 M NaOH and 3% (v/v)  $H_2O_2$  solutions was preliminary investigated Seven days after the preparation of solutions, LC analysis with PDA and MS/MS detector was carried out. Amounts of degraded losartan potassium in solutions of 0.1 M HCl and 0.1 M NaOH were under 1 %. The quantity of decomposed losartan potassium in 3% (v/v)  $H_2O_2$  solution was about 10 % and this sample was used for the following analysis. A large number of degradation products was detected as a result of oxidation process (Fig. 1).

Losartan showed  $[M+H]^+$  peaks at  $m/z$  423 and 425 with a 3:1 relative intensity ratio, as expected for a molecule containing one chlorine atom. Five fragment ions were identified in MS/MS spectrum, which has already been reported ( $m/z$  377, 341, 235, 207 and 192) (14). These fragment ions should provide the base pattern for the identification of degradation products.

The predominant degradation product of losartan potassium (LD-6) was formed by oxidation of primary alcohol group to aldehyde (Fig. 2). Retention time of LD-6 ( $m/z$  421) was 12.73 min. Characteristic fragment ions of losartan were found in MS/MS spectrum of LD-6, with the most abundant  $m/z$  207 fragment ion. LD-3 was formed by subsequent aromatic hydroxylation of LD-6, with  $m/z$  437 and 8.39 min retention time. Degradation product LD-5 ( $m/z$  437) was formed from LD-6 by oxidation of aldehyde to carboxylic group (retention time was 10.58). Some degradation products, marked as LD-4 ( $m/z$  439), are structural isomers produced by oxidation of biphenyl rings of losartan in different positions (retention times 8.66 min, 9.31 min, 10.15 min and 12.14 min).



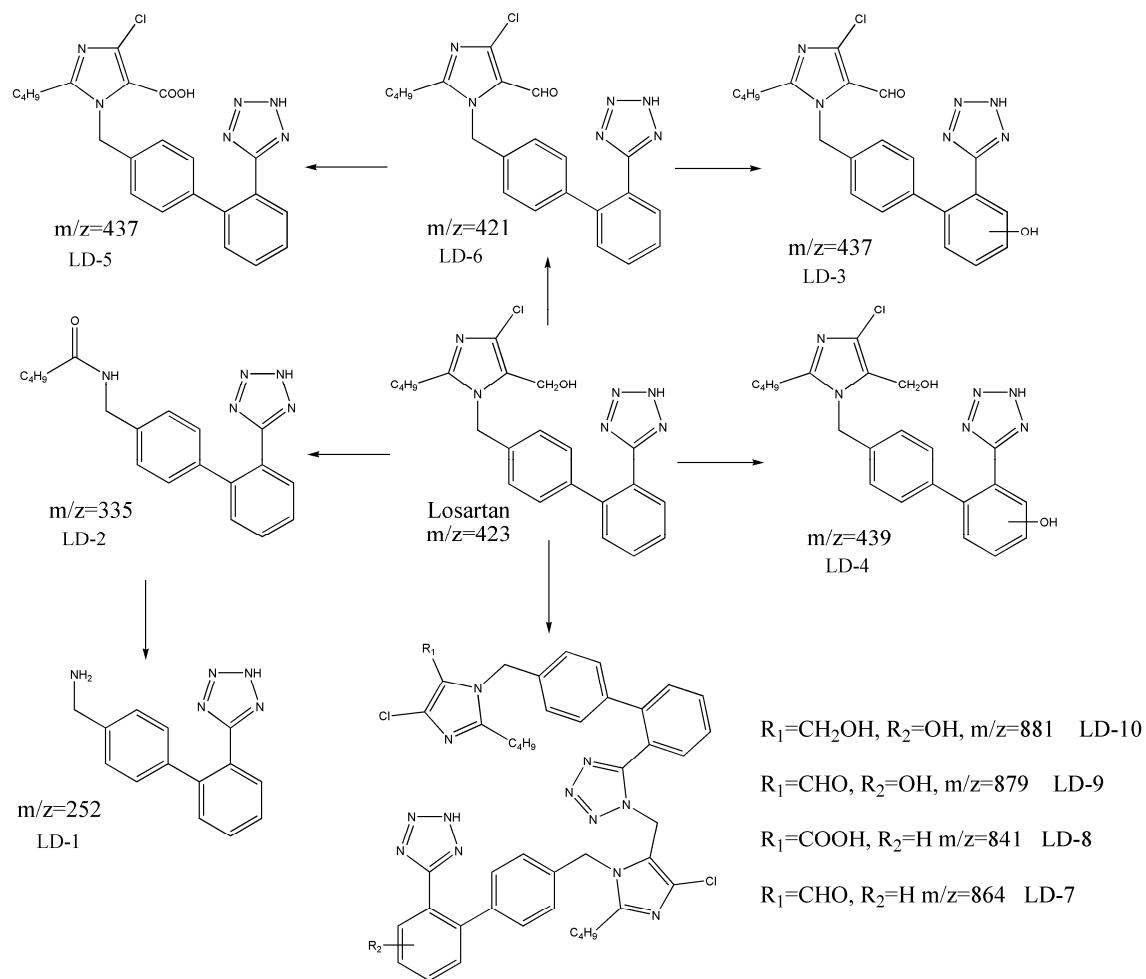
**Figure 1.** LC-MS chromatogram (TIC) of losartan potassium solution in 3% (v/v)  $\text{H}_2\text{O}_2$  after 7 days exposure.

**Slika 1.** LC-MS hromatogram (TIC) rastvora losartan kalijuma u 3% (v/v)  $\text{H}_2\text{O}_2$  nakon 7 dana izlaganja.

The degradation products LD-1 ( $m/z$  252, retention time 4.26 min) and LD-2 ( $m/z$  335, retention time 7.77 min) were generated by the destruction of imidazole rings in which an unstable 2,5-endoperoxide was formed in reaction of 1,4-cycloaddition of molecular oxygen (14, 19).

Different degradation products in dimeric form could be produced. Oxidation of benzene ring in one monomer unit gives LD-10 with  $m/z$  881 at retention time of 18.06 min. If primary alcohol group in only one monomer unit of dimer oxidized to aldehyde, LD-7 was formed ( $m/z$  864, retention time 13.38 min), while subsequent oxidation of

biphenyl rings gave LD-9 ( $m/z$  879, retention time 15.89 min). Degradation product LD-8 was formed by oxidation of primary alcohol group to carboxylic acid only in one monomer unit ( $m/z$  841, retention time 15.02 min).



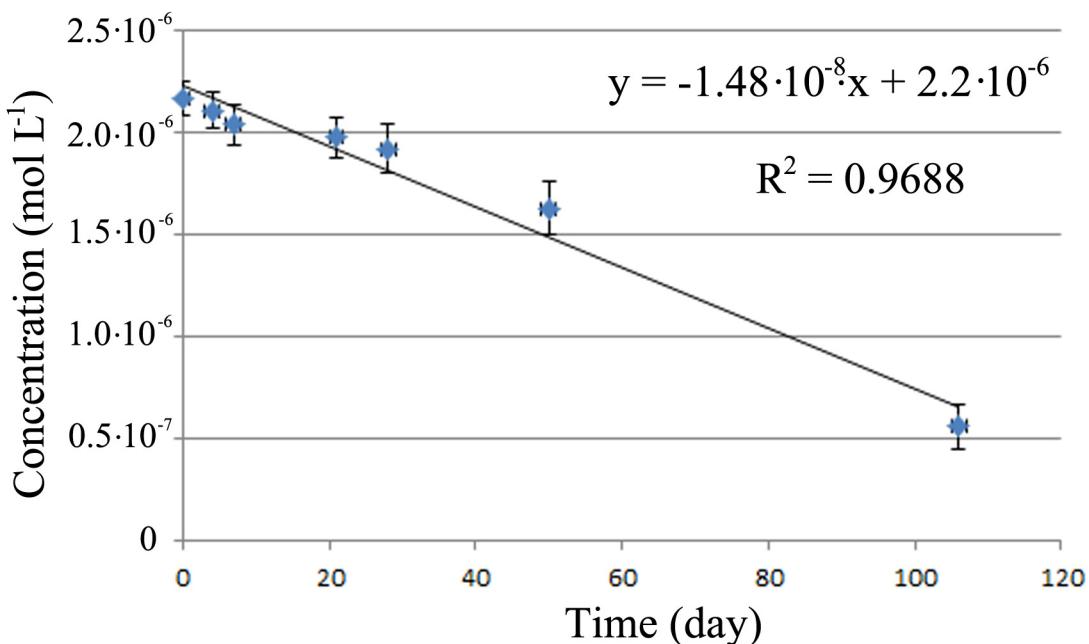
**Figure 2. Structures of degradation products of losartan potassium in 3% (v/v)  $\text{H}_2\text{O}_2$  solution.**

**Slika 2. Strukture degradacionih proizvoda losartan kalijuma u rastvoru 3% (v/v)  $\text{H}_2\text{O}_2$ .**

In MS/MS spectra, all dimer degradation products with primary alcohol group had fragment ion  $m/z$  423, dimer degradation products with aldehyde group had fragment ion  $m/z$  421 and dimer degradation products with aldehyde group had fragment ion  $m/z$  437.

The reaction of dimerization is  $\text{S}N_2$  type nucleophilic substitution, where alcohol group of the first monomer unit reacts with NH of imidazole ring of the second unit (14).

The degradation process of losartan potassium in 3% (v/v) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solution was monitored during about 3.5 months at the room temperature. The graph of the remaining concentration of losartan potassium versus time was created (Fig. 3), rate constant and order of reaction were determined by graphical method. Due to the linear decrease in losartan potassium concentration and due to the excess of 3% (v/v) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> used in this study, it can be concluded that losartan potassium was decomposed by pseudo zero-order kinetics ( $1.48 \cdot 10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> rate constant). After 3.5 months, the amount of remaining losartan potassium in 3% (v/v) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solution was below 25%. Since losartan potassium is susceptible to oxidation, during the drug product manufacturing it is important to pay attention to the selection of packing material and excipients, particularly to those that could contain peroxide impurities.



**Figure 3. Pseudo zero-order oxidative degradation of losartan potassium in 3% (v/v) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solution.**

**Slika 3. Kinetika pseudo nultog reda reakcije oksidativne degradacije losartan kalijuma u rastvoru 3% (v/v) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.**

#### 4. Conclusion

Significant appearance of degradation products during stability investigation of losartan potassium was observed in the solution of 3% (v/v) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seven days after

exposure. In this solution, degradation products were formed by oxidation of primary alcohol group, hydroxylation of benzene ring and dimerization.

Quantification of the remaining losartan potassium in the solution exposed to 3% (v/v) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and the application of graphical method indicated that the degradation process followed pseudo zero-order reaction kinetics with  $1.48 \cdot 10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> rate constant.

## Acknowledgement

This work was partly supported by the Ministry of Education and Science, Belgrade, Serbia, as a part of Project No. OI172041 and TR34031.

## Literature

1. Mycek MJ, Illustrated Reviews Pharmacology, second edition, Lippincott Williams&Wilkins, Pennsylvania, USA, 2000, pp. 179–187
2. Katzung BG. Basic and Clinical Pharmacology, tenth edition, McGraw-Hill, Singapore, 2007, pp. 159–177
3. Ibrahim MM, Hegazy MA, Abd El-Ghani MA. Application of a RP-HPLC method for comparative study on the degradation behavior of two angiotensin ii receptor antagonists, valsartan and losartan potassium. International Journal of Pharmaceutical, Chemical & Biological Sciences. (2015);5(2):417-26
4. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, *ICH Harmonised Tripartite Guideline: Stability Testing of New Drug Substances and Products Q1A (R2)*, Step 5, ICH Geneva, Aug. 2003.
5. Jain D, Basniwal PK. Forced degradation and impurity profiling: recent trends in analytical perspectives. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. (2013);86: 11-35.
6. Rathee P, Rathee1 S, Chaudhary1 H, Dharmender Rathee D. Development and validation of a stability indicating UV-spectrophotometric method for the estimation of losartan potassium in bulk and tablet dosage form. Journal of Pharmacy Research (2008);1(2):188-92.
7. Rathee P, Rathee1 S, Ratheeb D, Chaudharya H. Stability Indicating UV-Spectrophotometric Methods for Simultaneous Determination of Losartan Potassium and Hydrochlorothiazide in Pharmaceuticals. Euroasian journal of analytical chemistry. (2009);4(1):98-109.
8. El-Shaboury SR, Hussein SA, Mohamed NA, El-Sutohy MM. Stability-Indicating Densitometric Determination of Some Angiotensin II Receptor Antagonists in Presence of Their Degradation Products. Acta Chromatographica. (2013);25(1):79-95.

9. McCarthy KE, Wang Q, Tsai EW, Gilbert RE, Ip DP, Brooks MA. Determination of losartan and its degradates in COZAAR® tablets by reversed-phase high-performance thin-layer chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* (1998); 17: 671-7.
10. Elshanawane AA, Abdelaziz LM, Hafez HM Stability Indicating HPLC Method for Simultaneous Determination of Several Angiotensin-II Receptor Antagonists in Their Dosage Forms. *Pharmaceut Anal Acta*. (2012); 3:175.
11. Ibrahim MM, Hegazy MA, Abd El-Ghani MA. Application of a RP-HPLC method for comparative study on the degradation behavior of two angiotensin II receptor antagonists, valsartan and losartan potassium. *International journal of pharmaceutical, chemical and biological sciences*. (2015);5(2): 417-26.
12. Qiu S, Liu K, Ma P, Wang M, Chen H, Xu X, Hao X, Wang Y. Simultaneous analysis of losartan potassium and its related impurities and degradation products in tablets using HPLC. *Current Pharmaceutical Analysis* (2015); 11:25-34.
13. Lusina M, Cindrić T, Tomaić J, Peko M, Pozaić L, Musulin N. Stability study of losartan/hydrochlorothiazide tablets. *International journal of pharmaceutics*. (2005); 291:127-37.
14. Zhao ZZ, Wang Q, Tsai EW, Qin XZ, Ip D. Identification of losartan degradates in stressed tablets by LC-MS and LC-MS/MS. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. (1999); 20(1-2):129-36.
15. Thapa M, Nautiyal R, Datar M, Singh AK. Isolation, Identification and Caracterization of Process Related Impurities in Losartan Potassium Drug Substance. *Asian Journal of Chemistry* (2010); 22(6):4295-98.
16. Pandey AK, Rapolu R, Raju CK, Sasalamari G, Goud SK, Awasthi A, Navalgund SG, Surendranath KV. The novel acid degradation products of losartan: Isolation and characterization using Q-TOF, 2D-NMR and FTIR *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. (2016); 120:65–71.
17. Kollipara S, Bende G, Bansal Y, Saha R. Stability-indicating reversed-phase liquid chromatographic method for simultaneous determination of losartan potassium and ramipril in tablets. *Indian journal of pharmaceutical sciences*. (2012); 74:201-210
18. Ibrahim MM. Investigation on thermal stability and purity determination of two antihypertensive drugs, valsartan and losartan potassium. *International Journal of Current Pharmaceutical Research* (2015);7:64-69.
19. Seburg RA, Ballard JM, Hwang TL, Sullivan CM. Photosensitized degradation of losartan potassium in an extemporaneous suspension formulation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* (2006); 42:411–22.

# **Kinetika Degradacije i Karakterizacija Degradacionih Proizvoda Losartan Kalijuma LC- MS/MS metodom**

**Vladimir Dobričić, Bojan Marković\***

Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku hemiju,  
Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

\*Autor za korespondenciju. Tel: +381 11 3951 341,  
e-mail: bojan.markovic@pharmacy.bg.ac.rs

---

## **Kratak sadržaj**

U ovom radu opisano je ispitivanje stabilnosti losartan kalijuma primenom tečne hromatografije sa UV i MS-MS detekcijom i prikazan je njegov profil degradacionih proizvoda. Rastvor losartan kalijuma bio je izložen dejstvu sledećih stres agenasa: 0,1 M HCl; 0,1 M NaOH i 3% (v/v)  $H_2O_2$ . Rastvori losartan kalijuma analizirani su gradijentnim eluiranjem sa acetonitrilom i 0,1% (v/v) vodenim rastvorom  $CF_3COOH$  pri konstantnom protoku od 0,5 ml  $min^{-1}$  i vremenom trajanja od 22 min.

Degradacija u rastvorima losartan kalijuma koji su 7 dana bili izloženi dejstvu 0,1 M HCl i 0,1 M NaOH bila je manja od 1%, dok je u prisustvu 3% (v/v)  $H_2O_2$  bila značajno veća (oko 10%). Identifikacija i strukturna analiza glavnih degradacionih proizvoda losartan kalijuma izvršena je primenom LC-MS/MS metode.

Grafička zavisnost izmerenih koncentracija u funkciji vremena ukazuje da se losartan kalijum u rastvoru 3% (v/v)  $H_2O_2$  degradira kinetikom pseudo nultog reda sa konstantnom brzinom reakcije od  $1.48 \cdot 10^{-8}$  mol  $L^{-1} dan^{-1}$ .

***Ključne reči:*** Losartan kalijum; Forsirana degradacija; Kinetika; LC-MS/MS

---

# Voda za farmaceutsku upotrebu – značaj, vrste i zahtevi za kvalitet

Bojan Čalija\*, Danina Krajišnik, Jela Milić

Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju, Vojvode Stepe 450, 11 221 Beograd

\*Autor za korespondenciju: Tel. +381 11 3951-363,  
e-mail: bojanc@pharmacy.bg.ac.rs

---

## Kratak sadržaj

Zahvaljujući bezbednosti, rasprostranjenosti i jedinstvenim fizičko-hemijskim osobinama, voda je nezamenjiva u farmaceutskoj industriji kao ekscipijens, sredstvo za proizvodnju aktivnih supstanci i analitičkih reagenasa, ekstrakciju, čišćenje/pranje i razmenu toplove. Vode različitog kvaliteta se koriste za proizvodnju farmaceutskih preparata, a zahtevani kvalitet vode definisan je osobinama i namenom finalnog farmaceutskog preparata i fazom u postupku njegove proizvodnje u kojoj se voda koristi.

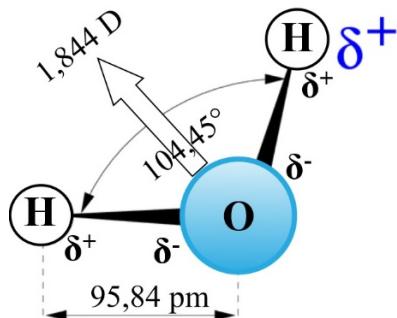
U ovom radu su predstavljeni regulatorni zahtevi za vode za farmaceutsku upotrebu i sisteme za proizvodnju, distribuciju i čuvanje vode u farmaceutskoj industriji, sa posebnim osvrtom na aktuelne izmene propisa u ovoj oblasti. Prikazan je i pregled voda za farmaceutsku upotrebu, sa fokusom na vode oficinalne u Evropskoj i Američkoj farmakopeji, uključujući zahteve za njihov kvalitet, namenu i postupke proizvodnje.

**Ključne reči:** prečišćena voda, voda za injekcije, kvalitet vode, sistemi za prečišćavanje vode

---

## 1. Uloga i značaj vode u proizvodnji i izradi farmaceutskih preparata

Voda je najzastupljenija polazna supstanca/sirovina i ekscipijens u proizvodnji i izradi farmaceutskih proizvoda/preparata, lekovitih supstanci, njihovih intermedijera i analitičkih reagenasa (1,2). Osnovni razlozi za široku primenu vode u farmaciji su: fiziološka podnošljivost, rasprostranjenost, relativno niska cena (koja varira u zavisnosti od kvaliteta), polarna priroda (Slika 1) i visok toplotni kapacitet (Tabela I) (4).



Slika 1. Hemijska struktura molekula vode (preuzeto i prilagođeno iz ref. 3)

Figure 1. Chemical structure of water molecule (adopted from ref. 3)

**Tabela I** Pregled fizičko-hemijskih karakteristika vode (4,5)

**Table I** An overview of physicochemical properties of water (4,5)

Karakteristika	Oznaka	Vrednost
Relativna molekulска masa	M <sub>r</sub>	18,01528
Temperatura mržnjenja	t <sub>t</sub>	273,15 K
Temperatura ključanja	t <sub>k</sub>	373,15 K
Gustina	ρ	0,997044 g/cm <sup>3</sup> na 298,15 K
Dielektrična konstanta	ε <sub>r</sub>	78,54 na 298,15 K
Dipolni momenat	μ	1,844 D (6,15 x 10 <sup>-30</sup> C m)
Molarni toplotni kapacitet	C <sub>p,m</sub>	75,327 J/(mol·K) na 298,15 K
Površinski napon	γ	71,97 mN/m na 298,15 K
Viskozitet (dinamički)	μ	0,8937 mPa·s (0,8937 cP) na 298,15 K
Indeks prelamanja	n	1,33 na 293,15 K

Zahvaljujući izraženom polarnom karakteru, odnosno visokom dipolnom momentu, dobroj fiziološkoj podnošljivosti i rasprostranjenosti, voda je najčešće korišćen rastvarač za većinu soli i polarnih molekula u farmaceutskim preparatima i reagensima. Osim što ulazi u sastav velikog broja farmaceutskih preparata, a naročito tečnih farmaceutskih oblika za različite puteve primene, voda odgovarajućeg kvaliteta se često koristi kao polazna sirovina za dobijanje tečnih međuproizvoda iz kojih se naknadno uklanja odgovarajućim tehnološkim postupkom (npr. liofilizacijom), kao vehikulum za razblaživanje koncentrovanih tečnih preparata ili za prevođenje/rekonstituciju čvrstih farmaceutskih oblika u tečne (npr. praškovi i granule za oralne rastvore i suspenzije) neposredno pred primenu, odnosno izdavanje pacijentu (6-8). Voda se koristi i kao osnovno sredstvo za pranje i ispiranje opreme i posuđa, za čišćenje prostorija za proizvodnju i izradu farmaceutskih preparata, lekovitih supstanci i reagenasa. Zahvaljujući visokom toplotnom kapacitetu, odnosno osobini da pri malim promenama temperature oslobađa ili apsorbuje velike količine toplice, voda se koristi kao medijum za razmenu toplice, odnosno za zagrevanje ili hlađenje (izmenjivači toplice) (4,8).

Veliki značaj vode i njen uticaj na kvalitet farmaceutskih preparata u čiji sastav ulazi, odnosno za čiju proizvodnju se koristi, stvorili su potrebu za definisanjem jasnih i preciznih zahteva za kvalitet voda za farmaceutsku upotrebu, kao i prihvatljivih postupaka njihove proizvodnje, čuvanja i distribucije. Stoga ovaj rad ima za cilj da pruži uvid u regulatorne zahteve koji se odnose na vode za farmaceutsku upotrebu, sa posebnim osvrtom na aktuelne izmene propisa kojima je regulisana ova oblast u Evropskoj uniji.

## 2. Vrste i zahtevi za kvalitet vode za farmaceutsku upotrebu

Postoji veliki broj različitih vrsta vode za farmaceutsku upotrebu koje se međusobno razlikuju prema fizičko-hemijskom i mikrobiološkom kvalitetu. S obzirom na značaj kvaliteta vode za kvalitet farmaceutskih preparata u čiji sastav ulazi i/ili za čiju proizvodnju se koristi, potrebno je posebnu pažnju posvetiti proizvodnji, čuvanju, distribuciji i kontroli kvaliteta vode. Izbor vode odgovarajućeg kvaliteta zavisi prvenstveno od njene namene, ali se uzimaju u obzir i drugi faktori poput ekonomskih. Tako npr. prilikom izbora vode koja se koristi kao polazna sirovina i/ili ekscipijens za proizvodnju ili izradu lekovitih supstanci i farmaceutskih preparata, potrebno je razmotriti njihove osobine i namenu, odnosno put primene, kao i fazu u postupku proizvodnje ili izrade tokom koje će se voda koristiti.

U zavisnosti od toga da li su zahtevi za kvalitet voda definisani u monografijama farmakopeja, one se mogu podeliti na *farmakopejske* (engl. *compendial water*) i *nefarmakopejske* (engl. *non-compendial water*). Pregled monografija voda za farmaceutsku upotrebu u Evropskoj (Ph. Eur. 9.4), Američkoj (USP 40), Internacionaloj (7th ed) i Jugoslovenskoj farmakopeji (*editio quinta*) prikazan je u

Tabeli II (1,9-11). Sadržaj monografija varira u zavisnosti od farmakopeje, ali one obično navode definicije, osobine, postupke dobijanja, podatke o upotrebi, zahteve za kvalitet, označavanje, način čuvanja i dr. S obzirom na poseban značaj Evropske i Američke farmakopeje, u daljem tekstu biće reči o vrstama i zahtevima za kvalitet voda koje navode ove dve farmakopeje.

**Tabela II** Pregled monografija voda za farmaceutsku upotrebu u odabranim farmakopejama

**Table II** An overview of water monographs in selected pharmacopoeias

Farmakopeja	Originalni naziv monografije
The Europoeian Pharmacopoeia, Ninth Edition (Ph. Eur. 9.4)	Water purified ( <i>Aqua purificata</i> ) Water highly purified ( <i>Aqua valde purificata</i> ) Water for preparation of extracts ( <i>Aqua ad extracta praeparanda</i> ) Water for injections ( <i>Aqua ad inyectabile</i> ) Haemodialysis solutions, concentrated, water for diluting ( <i>Aqua ad dilutionem solutionum concentratarum ad haemodialysim</i> )
The United States Pharmacopoeia (USP 40)	Vode „in bulk“ i para ( <i>Bulk Monographed Waters and Steam</i> ) Sterilne vode ( <i>Sterile Monographed Waters</i> ) Vode koje se koriste u proizvodnji ( <i>Nonmonographed Manufacturing Waters</i> ) Vode koje nemaju monografije u farmakopeji ( <i>Nonmonographed Waters</i> )
The International Pharmacopoeia, Seventh Edition (2017) Jugoslavica, editio quinta (Ph. Jug. V)	Purified water ( <i>Aqua purificata</i> ) Sterile water for injections ( <i>Aqua sterilisata pro injectione</i> ) Water for injections ( <i>Aqua pro injectione</i> ) Voda, prečišćena ( <i>Aqua purificata</i> ) Voda za injekcije ( <i>Aqua ad inyectabilia</i> ) Voda za razblaživanje koncentrovanih rastvora za hemodijalizu ( <i>Aqua ad dilutionem solutionum concentratarum ad haemodialysim</i> )

## **2.1 Vode za farmaceutsku upotrebu oficinalne u Evropskoj farmakopeji (Ph. Eur. 9.4)**

Evropska farmakopeja (Ph. Eur. 9.4) navodi pet monografija vode za farmaceutsku upotrebu:

- Prečišćena voda (lat. *Aqua purificata*; engl. *Water purified*)
- Visokoprečišćena voda (lat. *Aqua valde purificata*; engl. *Water highly purified*),
- Voda za izradu ekstrakata (lat. *Aqua ad extracta praeparanda*; engl. *Water for preparation of extracts*),
- Voda za injekcije (lat. *Aqua ad inyectabile*; engl. *Water for injections*) i
- Voda za razblaživanje koncentrovanih rastvora za hemodijalizu (lat. *Aqua ad dilutionem solutionum concentratarum ad haemodialysim*; engl. *Haemodialysis solutions, concentrated, water for diluting*)

### **2.1.1 Prečišćena voda**

Prečišćena voda je voda namenjena za izradu medicinskih/lekovitih proizvoda za koje se ne zahteva sterilnost i apirogenost, osim ukoliko to nije drugačije propisano i odobreno. Ovom monografijom su obuhvaćene dve vrste prečišćene vode, različite namene:

- *Prečišćena voda u bulku* (engl. *Purified water in bulk*) koja se dobija destilacijom, jonskom izmenom, reverznom osmozom ili drugim pogodnim postupkom iz vode koja odgovara zahtevima odgovarajućih propisa nadležnih regulatornih tela za vodu za humanu upotrebu (voda za piće) i
- *Prečišćena voda u kontejnerima* (engl. *Purified water in containers*) koja predstavlja prečišćenu vodu „*in bulk*“ prenetu u kontejnere, a čuva se pod uslovima koji obezbeđuju zahtevani mikrobiološki kvalitet.

Pregled osnovnih zahteva za fizičko-hemijski i mikrobiološki kvalitet prečišćene vode „*in bulk*“ prema Ph. Eur. 9.4, prikazan je u Tabeli III.

### **2.1.2 Visokoprečišćena voda**

Visokoprečišćena voda je namenjena za pripremu onih medicinskih proizvoda kod kojih je neophodno koristiti vodu visokog biološkog kvaliteta, izuzev u slučajevima kada se zahteva primena vode za injekcije. Visokoprečišćena voda se dobija iz vode koja odgovara zahtevima nadležnih regulatornih tela za vodu za humanu upotrebu, postupkom dvostrukе reverzne osmoze u kombinaciji sa drugim pogodnim postupcima kao što su ultrafiltracija i dejonizacija.

Granice prihvatljivosti prisustva bakterijskih endotoksina, nitrata, teških metala i aluminijuma visokoprečišćene vode su identične granicama za prečišćenu vodu, dok su

zahtevi za provodljivost i mikrobiološku kontaminaciju ove vode rigorozniji, sa graničnim vrednostima koje su identične onima za vodu za injekcije (Tabela III).

U skladu sa odlukom Komisije za Evropsku farmakopeju donetom na 160. zasedanju ovog tela, monografija visokoprečišćene vode je povučena iz Evropske farmakopeje 1. aprila 2019. godine. Ova odluka logična je posledica izmene u monografiji *Voda za injekcije* (04/2017:169), koja važi od 1. aprila 2017. godine, a koja se odnosi na mogućnost primene i drugih postupaka za dobijanje vode za injekcije, pored postupka destilacije. To praktično znači da je monografija *Visokoprečišćena voda* postala „duplicat“ monografije za vodu za injekcije, u pogledu zahteva za kvalitet, te više ne postoji opravdanost za njeno dalje postojanje (12).

### **2.1.3 Voda za injekcije**

Voda za injekcije se koristi za pripremu lekova za parenteralnu primenu kao vehikulum (*Voda za injekcije in bulk*) i za rastvaranje, odnosno rekonstituciju ili razblaživanje supstanci ili preparata za parenteralnu primenu (*Sterilisana/Sterilna voda za injekcije*).

- *Voda za injekcije u balku* (engl. *Water for injections in bulk*) se dobija iz vode koja odgovara zahtevima odgovarajućih propisa nadležnih regulatornih tela za vodu za humanu upotrebu (voda za piće) ili iz prečišćene vode. Prema monografiji Ph. Eur. 9.0 *Voda za injekcije* (01/2009:0169), vodu ovog kvaliteta je bilo moguće dobiti isključivo postupkom destilacije (13). Međutim, izmenama u monografiji za *Vodu za injekcije* (04/2017:169) u prvom dodatku ove farmakopeje (14) štampanom u oktobru 2016. godine, a koji je stupio na snagu u aprilu 2017. godine, predviđena je mogućnost da se *voda za injekcije in bulk* dobija i drugim postupcima prečišćavanja koji su ekvivalentni postupku destilacije (prema efektivnosti prečišćavanja), kao što su jednostruka ili dvostruka reverzna osmoza u kombinaciji sa elektrodejonizacijom, ultrafiltracijom i nanofiltracijom. Na taj način izvršeno je približavanje zahteva Evropske farmakopeje sa zahtevima Američke i Japanske farmakopeje u pogledu prihvatljivih metoda za dobijanje vode za injekcije (Tabela III). Na značaj ove izmene ukazala je i Evropska agencija za lekove (engl. European Medicines Agency, EMA) koja je objavila zvaničan dokument sa pitanjima i odgovorima koji se odnose na mogućnost i način proizvodnje vode za injekcije drugim postupcima, osim postupka destilacije (15). Radna verzija ovog dokumenta pod nazivom „*Questions and answers on production of water for injections by non-distillation methods – reverse osmosis and biofilms and control strategies*“ je objavljena već 2016. godine, a finalna usvojena u avgustu 2017. godine. Svrha dokumenta je da posluži kao preliminarni vodič za zainteresovane strane, a prvenstveno proizvođače sterilnih lekova i nadležna

regulatorna tela, do završetka tekuće revizije *Aneksa 1 EU GMP-a* (16). Dokument se poziva na pomenute izmene u monografiji *Voda za injekcije Ph. Eur.* U dokumentu se navodi da je u slučaju primene reverzne osmoze za dobijanje vode za injekcije, posebnu pažnju potrebno posvetiti mikrobiološkom kvalitetu, odnosno svesti na najmanju moguću meru rizik od proliferacije mikroorganizama i/ili mikrobioloških produkata (npr. endo- i egzotoksina) u sistemu za reverznu osmozu, a koji se ne mogu lako detektovati. Potrebno je istaći i da je u revidiranom dokumentu Aneksa 1 EU GMP-a, koji je bio dostupan za komentare do 20. marta 2018. navedeno da je vodu za injekcije moguće dobiti i drugim postupcima osim destilacije, poput reverzne osmoze, ultra- i nanofiltracije (16).

- *Sterilna voda za injekcije* (engl. *Sterilised water for injections*) je voda za injekcije *in bulk* prebačena u odgovarajuće kontejnere, zatvorena i sterilisana toplotom pod uslovima koji obezbeđuju da kvalitet odgovara zahtevima za bakterijske endotoksine.

Pregled osnovnih zahteva za fizičko-hemijski i mikrobiološki kvalitet vode za injekcije *in bulk* prikazan je u Tabeli III. Poređenjem podataka predstavljenih u Tabeli III, može se zaključiti da su gornje granice sadržaja oksidabilnih supstanci, nitrata i aluminijuma identične za vodu za injekcije i prečišćenu vodu, ali su zahtevi u pogledu provodljivosti, prisustva endotoksina i mikrobiološke kontaminacije za vodu za injekcije rigorozniji u odnosu na iste za prečišćenu vodu.

**Tabela III** Uporedni pregled osnovnih zahteva Ph. Eur. 9.4 i USP 40 za fizičko-hemijski i mikrobiološki kvalitet prečišćene vode i vode za injekcije i postupaka njihovog dobijanja

**Table III** Comparative overview of Ph. Eur. 9.4. and USP 40 requirements for physicochemical and microbiological quality of Water purified and Water for injection and their production methods

Parametar	Prečišćena voda		Voda za injekcije	
	Ph. Eur. 9.4. <sup>1</sup>	USP 40	Ph. Eur. 9.4. <sup>2</sup>	USP 40
Postupak dobijanja	Destilacija, dejonizacija, reverzna osmoza ili bilo koji drugi pogodan postupak	Destilacija, dejonizacija, reverzna osmoza, filtracija ili drugi pogodan postupak	Destilacija ili proces prečišćavanja koji je ekvivalentan destilaciji (npr. jednostruka ili višestruka reverzna osmoza u kombinaciji sa elektrodejonizacijom, ultrafiltracijom ili nanofiltracijom)	Destilacija ili bilo koji drugi postupak prečišćavanja koji je ekvivalentan ili efikasniji u uklanjanju hemijskih nečistoća i mikroorganizama
Ukupni organski ugljenik (TOC <sup>3</sup> ) ili oksidabilne supstance	≤ 0,5 mg/l	≤ 500 ppb	≤ 0,5 mg/l	≤ 500 ppb
Provodljivost (25 °C)	≤ 5,1 µS/cm	≤ 1,3 µS/cm	≤ 1,3 µS/cm	≤ 1,3 µS/cm
Teški metali <sup>4</sup>	≤ 0,1 ppm	-	-	-
pH <sup>5</sup>	-	-	-	-
Nitrati	≤ 0,2 ppm	-	≤ 0,2 ppm	-
Aluminijum	≤ 10 ppb <sup>6</sup>	-	≤ 10 ppb	-
Mirobiološka kontaminacija	< 100 CFU <sup>7</sup> /ml	≤ 100 CFU/ml	< 10 CFU/100 ml	< 10 CFU/100 ml (preporučeno)
Bakterijski endotoksini	< 0,25 IU/ml <sup>8</sup>	-	< 0,25 IU/ml	< 0,25 IU/ml

<sup>1</sup>Navedeni zahtevi iz Ph. Eur. 9.4 se odnose na prečišćenu vodu „in bulk”.

<sup>2</sup>Navedeni zahtevi iz Ph. Eur. 9.4 se odnose na vodu za injekcije „in bulk”.

<sup>3</sup>engl. *Total Organic Carbon*.

<sup>4</sup>Test za određivanje sadržaja teških metala je uklonjen iz Američke farmakopeje 1996. godine. Međutim, ukoliko voda ispunjava uslove postojećeg testa za provodljivost i ukoliko je dobijena iz vode za humanu upotrebu zahtevanog kvaliteta ispunjavaće i uslove u pogledu prisustva teških metala i nitrata. Prema Ph. Eur. 9.4., ukoliko je ispunjen zahtev za provodljivost vode za injekcije „in bulk”, nije potrebno određivati prisustvo teških metala u prečišćenoj vodi.

<sup>5</sup>Test za određivanje pH vrednosti izbrisana je iz Američke farmakopeje 1998. godine. Međutim, ukoliko voda ispunjava uslove postojećeg testa za provodljivost, njena pH vrednost će biti u opsegu od 5,0 do 7,0, što su i bile granice prihvatljivosti izbrisanih testa.

<sup>6</sup>Ukoliko je namenjena za proizvodnju rastvora za dijalizu.

<sup>7</sup>engl. *Colony Forming Unit* (broj živilih mikroorganizama).

<sup>8</sup>Ukoliko je namenjena za proizvodnju rastvora za dijalizu bez adekvatnog postupka za uklanjanje bakterijskih endotoksinâ.

## **2.1.4 Voda za izradu ekstrakata**

Voda namenjena za izradu ekstrakata odgovara kvalitetu prečišćene vode „*in bulk*“ ili prečišćene vode u kontejnerima ili je voda namenjena za humanu upotrebu kvaliteta koji je ekvivalentan kvalitetu definisanom u Direktivi 98/83/EC o kvalitetu vode za humanu upotrebu (17).

## **2.1.5 Voda za razblaživanje koncentrovanih rastvora za hemodijalizu**

Voda za razblaživanje koncentrovanih rastvora za hemodijalizu se dobija iz vode za piće, destilacijom, reverznom osmozom, jonskom izmenom ili drugim pogodnim postupkom. Proizvodnju, distribuciju i čuvanje ove vode treba izvoditi u uslovima koji minimizuju rizik od hemijske i mikrobiološke kontaminacije. Ova monografija je informativnog karaktera, a analitičke metode koje su opisane u okviru monografije i predloženi limiti su namenjeni za validaciju postupka dobijanja ove vode.

## **2.2 Vode za farmaceutsku upotrebu oficinalne u Američkoj farmakopeji (USP 40)**

Američka farmakopeja vodi opšte poglavlje informativnog karaktera <1231> *Voda za farmaceutsku upotrebu* (engl. *Water for Pharmaceutical Purposes*) koje sadrži informacije o zahtevima za kvalitet voda, zavisno od njihove namene, koji mogu, ali ne moraju biti navedeni u zasebnim monografijama farmakopeje. U ovom poglavlju se takođe navode postupci koji se koriste za poboljšanje kvaliteta vode, validaciju sistema za proizvodnju, distribuciju i skladištenje vode, način uzorkovanja i praćenja hemijskog i mikrobiološkog kvaliteta voda, kao i opis minimalnih zahteva za kvalitet koje treba razmotriti prilikom izbora polazne vode (18).

Kao što je već istaknuto, postoji veći broj voda različitog kvaliteta koje se koriste u farmaceutske svrhe, a neke od njih su opisane u monografijama Američke farmakopeje (engl. *monographed waters*), koje navode podatke o njihovoj nameni, prihvatljivim metodama dobijanja i zahteve za kvalitet. Vode sa monografijama u Američkoj farmakopeji se dele u dve grupe:

- vode „*in bulk*“ i para (engl. *Bulk Monographed Waters and Steam*), koje se koriste na mestu njihove proizvodnje i
- sterilne vode (engl. *sterile waters*), koje se proizvode, pakuju i sterilišu u cilju očuvanja mikrobiološkog kvaliteta tokom roka upotrebe (18).

Pored navedenih, postoje i vode koje nemaju monografiju u Američkoj farmakopeji (engl. *nonmonographed waters*), a koje se mogu koristiti u farmaceutske svrhe. Ove vode su „*in bulk*“ i imaju deskriptivna imena koja treba da ukažu na njihovu namenu, karakteristike ili postupke dobijanja, a najveći broj ovih voda je namenjen za primenu u analitičke svrhe ili u proizvodnim postupcima.

## **2.2.1 Vode koje imaju monografiju u Američkoj farmakopeji**

### **2.2.1.1 Vode „in bulk” i para**

Vode „in bulk” se uobičajeno proizvode u velikim količinama, primenom složenih sistema za prečišćavanje vode i distribuiraju sistemom cevi do korisničkih mesta na istoj lokaciji. Zahtevi za kvalitet ovih voda navedeni su u odgovarajućim monografijama.

#### **2.2.1.1.1 Prečišćena voda**

Prema Američkoj farmakopeji prečišćena voda se koristi kao ekscipijens u proizvodnji farmaceutskih preparata koji se ne primenjuju parenteralnim putem i u druge farmaceutske svrhe, kao što su čišćenje opreme i površina koje dolaze u kontakt sa ovim preparatima. Voda koja se koristiti za dobijanje prečišćene vode, kao i u Evropskoj farmakopeji, mora da ima kvalitet koji odgovara najmanje kvalitetu vode za piće. U sistemima za dobijanje prečišćene vode koji rade pri ambijentalnim uslovima, posebnu pažnju je potrebno posvetiti riziku od mikrobiološke kontaminacije, te je neophodno vršiti periodičnu sanitaciju ovih sistema i kontinuirano pratiti mikrobiološki kvalitet vode. Farmakopeja navodi da je nakon proizvodnje dozvoljeno pakovanje prečišćene vode namenjene za upotrebu na mestima koja su odvojena od proizvodnog mesta. Za razliku od sterilne prečišćene vode, „bulk” pakovana prečišćena voda ne treba da bude sterilna, ali je potrebno preduzeti sve neophodne mere, da se u tom slučaju prečišćena voda proizvodi, pakuje i čuva na način koji će obezbediti očuvanje zahtevanog mikrobiološkog i hemijskog kvaliteta do trenutka upotrebe (Tabela III). Na hemijski kvalitet može uticati ambalaža, a naročito supstance koje mogu migrirati iz ambalaže (engl. *leachables*) u vodu, a zahtevi za hemijski kvalitet pakovane prečišćene vode su isti kao i za vodu „in bulk”. Na korisniku je da obezbedi da kvalitet ove vode bude u skladu sa njenom namenom.

#### **2.2.1.1.2 Voda za injekcije**

Voda za injekcije se koristi kao ekscipijens za proizvodnju parenteralnih i drugih farmaceutskih preparata sa kontrolisanim sadržajem endotoksina, ali i u druge farmaceutske svrhe, kao što su čišćenje opreme i površina koje dolaze u kontakt sa parenteralnim preparatima. Voda koja se koristiti za dobijanje vode za injekcije, mora da ima kvalitet koji odgovara najmanje kvalitetu vode za piće, a u skladu sa regulativom Američke agencije za zaštitu okoline (engl. *U.S. Environmental Protection Agency*, EPA), Evropske unije, Japana i Svetske zdravstvene organizacije. Voda za injekcije mora odgovarati zahtevima za hemijski kvalitet prečišćene vode i dodatno zahtevu za sadržaj endotoksina. U skladu sa ovom monografijom, dozvoljeno je „bulk” pakovanje vode za injekcije za dalju, komercijalnu upotrebu i za razliku od sterilne vode za injekcije, za „bulk” pakovanu vodu za injekcije ne zahteva se da bude sterilna. Kao što se može videti iz Tabele III, limiti mikrobiološkog opterećenja i endotoksina su

identični onima za Vodu za injekcije „*in bulk*” Evropske farmakopeje. Kao i kod „*bulk*” pakovane prečišćene vode, na hemijski kvalitet „*bulk*” pakovane vode za injekcije može uticati ambalaža, a naročito supstance koje mogu migrirati iz ambalaže, a zahtevi za hemijski kvalitet pakovane vode za injekcije je isti kao i za vodu „*in bulk*” (Tabela III). Na samom korisniku je da obezbedi da kvalitet ove vode bude u skladu sa njenom namenom.

#### **2.2.1.3 Voda za hemodijalizu**

U skladu sa nazivom, voda za hemodijalizu se primenjuje u postupku hemodijalize, primarno za razblaženje koncentrovanih rastvora za hemodijalizu, te prema nameni odgovara vodi za razblaživanje koncentrovanih rastvora za hemodijalizu Evropske farmakopeje. Dobija se iz vode za piće u skladu sa regulativom EPA, koja se dalje prečišćava u cilju smanjenja hemijskog i mikrobiološkog opterećenja. Može se pakovati i čuvati u kontejnerima, koji sprečavaju ulazak bakterija i koji nisu podložni koroziji, niti oslobađaju supstance u kontaktu sa vodom. Voda za hemodijalizu ne sme da sadrži konzervanse niti da se primenjuje u obliku injekcija. Monografija definiše zahteve provodljivost i TOC, koji su identični kao i za prečišćenu i vodu za injekcije (Tabela III), mikrobiološki kvalitet i bakterijske endotoksine. Kao zamena za TOC, za procenu sadržaja organskih jedinjenja, može se koristiti test za oksidabilne supstance.

#### **2.2.1.4 Čista para**

Čista para (engl. *Pure Steam*, često označavana i kao *Clean Steam*), se koristi u slučajevima kada para ili njen kondenzat dolaze u direktni kontakt sa proizvodom ili površinama koje su u direktnom kontaktu sa proizvodom, npr. tokom procesa proizvodnje, sterilizacije ili čišćenja, odnosno u slučajevima kada se ne primenjuje odgovarajući postupak za uklanjanje eventualno zaostalih nečistoća koje potiču od pare. Osnovni razlog za primenu čiste pare je sprečavanje kontaminacije proizvoda reziduama pare/rezidualnom parom, te se ona najčešće koristi u postupcima sterilizacije, za zagrevanje rastvora za čišćenje ili proizvoda ili vlaženje prostora koji su u direktnom kontaktu sa proizvodom. Čista para se dobija iz adekvatno pripremljene vode istog kvaliteta kao i voda koja se koristi za dobijanje prečišćene ili vode za injekcije. Poseban rizik za kvalitet čiste pare predstavlja mogućnost mešanja sa polaznom vodom, antikorozivima, reziduama koje nastaju tokom generisanja pare ili potiču iz sistema distribucije.

#### **2.2.1.2 Sterilne vode**

Sterilne vode se dobijaju iz prečišćene ili vode za injekcije koje su prebačene/upakovane u kontejnere, a zatim sterilisane. Ove vode imaju specifičnu namenu na koju ukazuje njihov naziv. Uprkos evidentnim sličnostima u nazivima, farmakopejski zahtevi za kvalitet sterilnih voda se znatno razlikuju od zahteva za vode iz kojih se dobijaju, a zavise od njihove namene.

#### **2.2.1.2.1 Sterilna prečišćena voda**

Sterilna prečišćena voda je prečišćena voda upakovana u odgovarajuće kontejnere, a zatim sterilisana. Koristi se za izradu farmakopejskih farmaceutskih oblika koji se ne primenjuju parenteralnim putem ili u analitičke svrhe, kada se zahteva upotreba prečišćene vode, a nije dostupan validiran sistem za dobijanje prečišćene vode ili je potrebna u malim količinima, gde postoji zahtev za upotrebu sterilne prečišćene vode ili kada se ne vrši adekvatna mikrobiološka kontrola „bulk” pakovane prečišćene vode.

#### **2.2.1.2.2 Sterilna voda za injekcije**

Sterilna voda za injekcije je voda za injekcije upakovana u odgovarajuće kontejnere, a zatim sterilisana. Koristi se za *ex tempore* izradu lekova i kao sterilni vehikulum, sredstvo za razblaživanje parenteralnih preparata. Može se koristiti i u druge svrhe, kada se zahteva upotreba prečišćene ili vode za injekcije, ali nije dostupan validiran sistem za njihovu proizvodnju ili su potrebne male količine vode navedenog kvaliteta. Pakuje se u jednodozne kontejnere zapremine ne veće od 1 l.

#### **2.2.1.2.3 Bakteriostatska voda za injekcije**

Bakteriostatska voda za injekcije je sterilna voda za injekcije u koju je dodat jedan ili više pogodnih kozervanasa. Koristi se za razblaživanje u izradi određenih parenteralnih preparata, najčešće višedoznih. Pakuje se u jednodozne ili višedozne kontejnere ne veće od 30 ml.

#### **2.2.1.2.4 Sterilna voda za irigaciju**

Sterilna voda za irigaciju je voda za injekcije pakovana u jednodoznim kontejnerima koji omogućavaju brzo izvlačenje sadržaja, ne većim od 1 l, a potom sterilisana. Ne mora da odgovara zahtevima za prisustvo čestičnih nečistoća u injekcijama, te se može koristiti kada specifikacijama nisu definisani zahtevi za opterećenje čestičnim nečistoćama, umesto „bulk” prečišćene i vode za injekcije, kada nisu dostupni validirani sistemi za dobijanje ovih voda ili kada su potrebne nešto veće količine sterilne vode za injekcije.

#### **2.2.1.2.5 Sterilna voda za inhalaciju**

Sterilna voda za inhalaciju je voda za injekcije, upakovana i sterilisana, a koja je namenjena za upotrebu u inhalatorima ili za izradu rastvora za inhalaciju. Nije pogodna za parenteralnu primenu, jer je dozvoljeno veće opterećenje endotoksinima (<0,5 IU/ml) u odnosu na sterilnu vodu za injekcije (<0,25 IU/ml).

### **2.2.2 Vode koje nemaju monografiju u Američkoj farmakopeji**

Vode koje nemaju zasebne monografije u Američkoj farmakopeji se najčešće koriste u postupku čišćenja/pranja, sinteze ili kao polazne vode za dalje prečišćavanje

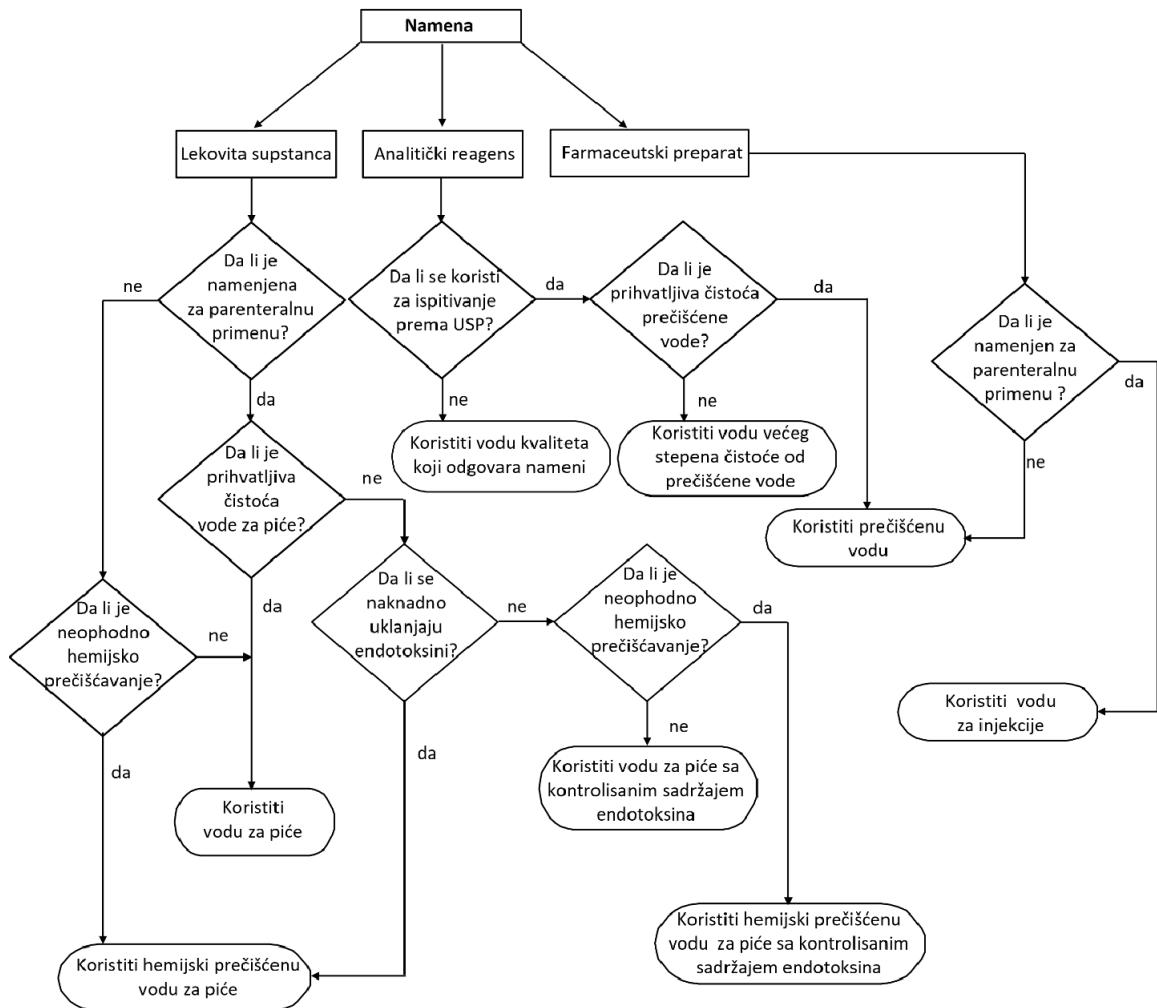
(npr. voda za piće). Kao što se vidi iz Tabele II, ove vode se prema nameni mogu podeliti u dve grupe, vode koje se koriste u postupku proizvodnje i vode koje se koriste u analitičke svrhe.

*Vode koje se koriste u postupku proizvodnje.* U ove vode spadaju voda za piće (engl. *Drinking Water, Potable Water*) i vruća prečišćena voda (engl. *Hot Purified Water*). Kvalitet vode za piće, kao vode za humanu upotrebu, mora da odgovara zahtevima propisa nadležnih regulatornih tela. Ova voda se obično koristi u ranim fazama čišćenja/pranja opreme i površina koje dolaze u kontakt sa proizvodima, a za većinu oficinalnih voda je minimalni zahtevani kvalitet polazne vode upravo onaj koji zadovoljava ova voda, te se kao takva najčešće koristi za dobijanje voda „*in bulk*“ za farmaceutsku upotrebu. Vruća prečišćena voda je zagrejana na temperaturu manju od 100 °C, najčešće u cilju poboljšanja rastvaranja drugih supstanci koje ulaze u sastav preparata.

*Vode koje se koriste u analitičke svrhe.* Iako se za izradu velikog broja reagenasa, rastvora i indikatora prema Američkoj farmakopeji koristi prečišćena voda, u nekim slučajevima zahteva se primena neke od ovih voda koje su podvrgnute specifičnom postupku prečišćavanja, najčešće u cilju uklanjanja određene vrste nečistoća (npr. amonijak, ugljen-dioksid, kiseonik, olovo i hlor) ili voda u koje su dodati specifični aditivi. Originalni nazivi ovih voda su prikazani u Tabeli II.

### **3. Izbor vode odgovarajućeg kvaliteta za farmaceutsku upotrebu**

U opštem poglavlju <1231> *Voda za farmaceutske upotrebe* Američka farmakopeja daje samo grube smernice za izbor vode odgovarajućeg kvaliteta, zavisno od njene namene, u obliku stabla odlučivanja, koje je prikazano na Slici 2. Međutim, dodatne informacije koje mogu pomoći pri izboru vode određenog kvaliteta, zavisno od namene, mogu se pronaći u monografijama ove farmakopeje, ukoliko one postoje, kao i u poglavlju <1231> .



**Slika 2. Izbor vode odgovarajućeg kvaliteta zavisno od njene namene (preuzeto i prilagođeno iz ref. 18)**

**Figure 2. Selection of water for pharmaceutical purposes (adopted from ref. 18)**

Evropska farmakopeja, ukoliko se izuzmu osnovne informacije navedene u monografijama voda, ne daje posebne smernice o izboru vode odgovarajućeg kvaliteta u zavisnosti od namene. Međutim, 2001. godine tadašnja Evropska agencija za procenu medicinskih proizvoda (engl. *European Agency for the Evaluation of Medicinal Products*, EMEA) usvojila je *Vodič o kvalitetu vode za farmaceutsku upotrebu* (engl. *Note for Guidance on Quality of water for pharmaceutical use*), koji se u neizmenjenom obliku primenjuje od juna 2002. godine (19). Svrha ovog dokumenta je da posluži kao

vodič proizvođačima za izbor vode odgovarajućeg kvaliteta u proizvodnji lekovitih supstanci i medicinskih proizvoda za humanu i veterinarsku upotrebu. Vodič, međutim, ne daje smernice za *ex tempore* izradu farmaceutskih preparata, kao ni njihovo razblaživanje ili rekonstituciju neposredno pre primene (npr. praškovi za oralne suspenzije sa antibioticima). Prema ovom vodiču kvalitet vode za farmaceutsku upotrebu definisan je osobinama i namenom finalnog proizvoda, odnosno farmaceutskog preparata i fazom u postupku njegove izrade u kojoj se voda koristi, o čemu će više reći biti u poglavljima 3.3-3.5.

Krajem 2016. i početkom 2017. godine Komitet za humane medicinske proizvode (engl. *Committee for Human Medicinal Products*, CPMP) i Komitet za veterinarske medicinske proizvode (*Committee for Veterinary Medicinal Products*, CVMP) su usvojili dokument kojim se definišu predlozi za izmene ovog vodiča pod nazivom *Concept paper on the need for revision of note for guidance on quality of water for pharmaceutical use (H+V)*, a koji je bio otvoren za komentare do juna 2017. godine (20). Razlog za pokretanje postupka izmene ovog vodiča je usklađivanje sa značajnim izmenama u Evropskoj farmakopeji, od kojih je najznačajnija već pomenuta izmena u monografiji *Voda za injekcije*, kojom se predviđa mogućnost dobijanja vode ovog kvaliteta i drugim postupcima, ekvivalentnim destilaciji. Dodatni razlozi za izmene su i najavljeni brisanje monografije *Visokoprečišćena voda*, a koje je direktna posledica gore pomenute izmene u monografiji *Voda za injekcije*, kao i uvođenje monografije *Voda za pripremu ekstrakata*. Radna verzija izmenjenog Vodiča je objavljena sredinom novembra 2018. i ostaće dostupna za komentare do maja 2019. godine (21).

### **3.1 Zahtevi za kvalitet vode kao ekscipijensa prisutnog u finalnoj formulaciji**

Kvalitet vode kao ekscipijensa u finalnoj formulaciji farmaceutskog preparata je pre svega određen njenom namenom, odnosno načinom/putem primene. Kao što se može videti iz Tabele IV, shodno važećem vodiču, ali i radnoj verziji izmenjenog vodiča, minimalni zahtevani kvalitet vode za nesterilne farmaceutske preparate je kvalitet koji odgovara prečišćenoj vodi (19,21). Izuzetak su rastvori za nebulizaciju koji se koriste u terapiji specifičnih oboljenja, poput cistične fibroze, kod kojih se zahteva upotreba vode za injekcije ili sterilne visokoprečišćene vode, odnosno prema radnoj verziji izmenjenog vodiča isključivo vode za injekcije.

**Tabela IV** Zahtevi za kvalitet vode u finalnoj formulaciji nesterilnih farmaceutskih preparata (19,21)

**Table IV** Requirements for quality of water in final formulation of non-sterile pharmaceutical preparations (19,21)

Nesterilni farmaceutski preparati	Minimalno prihvatljiv kvalitet vode	
	Važeći Vodič (19)	Radna verzija izmenjenog Vodiča (21)
Vakcine za neparenteralnu primenu	-	Prečišćena voda <sup>3</sup>
Oralni preparati	Prečišćena voda	Prečišćena voda
Rastvori za nebulizaciju	Prečišćena voda <sup>1</sup>	Prečišćena voda <sup>4</sup>
Dermalni preparati	Prečišćena voda <sup>2</sup>	Prečišćena voda <sup>2</sup>
Preparati za nos/uho	Prečišćena voda	Prečišćena voda
Rektalni/vaginalni preparati	Prečišćena voda	Prečišćena voda

<sup>1</sup>U određenim slučajevima zahteva se da ovi preparati budu sterilni i apirogeni (npr. cistična fibroza), kada je potrebno koristiti vodu za injekcije ili sterilisanu visoko prečišćenu vodu.

<sup>2</sup>U pojedinim veterinarskim preparatima, kada je to opravdano i odobreno, moguće je koristiti vodu za piće, uzimajući u obzir mogućnost varijacije u hemijskom i mikrobiološkom kvalitetu.

<sup>3</sup>Preporučuje se upotreba vode za injekcije u cilju obezbeđenja bezbednosti i kvaliteta proizvoda ukoliko nije drugačije opravdano (npr. upotreba prečišćene vode za neke nesterilne vakcine za neparenteralnu primenu u veterini može biti prihvatljiva).

<sup>4</sup>U određenim slučajevima zahteva se da ovi preparati budu sterilni i apirogeni (npr. cistična fibroza), kada je potrebno koristiti vodu za injekcije.

Prečišćena voda prihvatljiva je kao ekscipijens i u finalnoj formulaciji sterilnih preparata koji se ne primenjuju parenteralnim putem, poput dermalnih, oftalmoloških, nazalnih i preparata za uši. Međutim, proizvođači se često u cilju smanjenja rizika za izradu ovih preparata odlučuju za primenu vode za injekcije. Kod ovih preparata do sada je bilo moguće koristiti i visokoprečišćenu vodu, koja je kao voda većeg stepena čistoće u odnosu na prečišćenu vodu predstavljala dobru alternativu vodi za injekcije. Za izradu parenteralnih preparata, rastvora za peritonealnu dijalizu, hemofiltraciju, hemodijafiltraciju i irigaciju koristi se isključivo voda za injekcije (Tabela V).

**Tabela V** Zahtevi za kvalitet vode u finalnoj formulaciji sterilnih farmaceutskih preparata (19,21)

**Table V** Requirements for quality of water in final formulation of non-sterile pharmaceutical preparations (19,21)

Sterilni farmaceutski preparati	Minimalno prihvatljiv kvalitet vode	
	Važeći Vodič (19)	Radna verzija izmenjenog Vodiča (21)
Biološki preparati (uključujući vakcine i preprate za naprednu terapiju)	-	Voda za injekcije
Parenteralni preparati	Voda za injekcije	Voda za injekcije
Oftalmološki preparati	Prečišćena voda	Prečišćena voda
Rastvori za hemofiltraciju	Voda za injekcije	Voda za injekcije
Rastvori za hemodijalizu	Voda za injekcije	Voda za injekcije
Rastvori za peritonealnu dijalizu	Voda za injekcije	Voda za injekcije
Rastvori za irigaciju	Voda za injekcije	Voda za injekcije
Preparati za nos/uho	Prečišćena voda	Prečišćena voda
Preparati za kožu	Prečišćena voda	Prečišćena voda

### **3.2 Zahtevi za kvalitet vode koja se koristi u proizvodnji lekovitih supstanci i farmaceutskih preparata, a koja nije prisutna u finalnoj formulaciji**

Zahtevi za kvalitet vode koja se koristi u postupku proizvodnje lekovitih supstanci i farmaceutskih preparata, a koja nije prisutna u finalnoj formulaciji, definišu se na osnovu faze proizvodnog postupka u kome se voda koristi, dalje obrade, odnosno kasnijih faza proizvodnog procesa i prirode finalnog proizvoda (19,21). Tako je npr. za proizvodnju lekovitih supstanci, moguće koristiti vodu za piće, ali samo ukoliko ne postoje zahtevi da lekovita supstanca i preparat u čiji sastav ulazi budu sterilni ili apirogeni (Tabela VI). Međutim, ukoliko postoji zahtev da lekovita supstanca bude sterilna, a ne ulazi u sastav parenteralnih preparata, ili pak ne postoji zahtev da bude sterilna, ali ulazi u sastav sterilnih preparata koji se ne primenjuju parenteralnim putem, za finalno izolovanje i prečišćavanje koristi se prečišćena voda ili voda višeg kvaliteta. Za finalno izolovanje i prečišćavanje nesterilne lekovite supstance namenjene za izradu parenteralnih preparata, neophodno je koristiti prečišćenu vodu čiji sadržaj endotoksina ne prelazi 0,25 IU/ml uz kontrolu prisustva određenih mikroorganizama. Najrigorozniji zahtev za kvalitet vode u proizvodnji lekovitih supstanci odnosi se na vodu koja se koristi za izolovanje i prečišćavanje lekovitih supstanci koje moraju da budu sterilne i apirogene i bioloških aktivnih supstanci koje ulaze u sastav parenteralnih preparata, a koja mora odgovarati kvalitetu vode za injekcije (19,21).

**Tabela VI** Zahtevi za kvalitet vode koja se koristi u proizvodnji lekovitih supstanci (19,21)**Table VI** Requirements for quality of water used during manufacture of active pharmaceutical ingredients (19,21)

Proizvodni proces	Zahtevi za proizvod	Minimalno prihvatljiv kvalitet vode	
		Važeći Vodič (19)	Radna verzija izmenjenog Vodiča (21)
Sinteza svih intermedijera lekovite supstance (l.s.) pre finalnog izolovanja i prečišćavanja	Ne postoje zahtevi za sterilnost ili apirogenost l.s. ili finalnog proizvoda u čiji će sastav ova l.s. ulaziti	Voda za piće <sup>1</sup>	Voda za piće <sup>1</sup>
Fermentacioni medijumi	Ne postoje zahtevi za sterilnost ili apirogenost l.s. ili finalnog proizvoda u čiji će sastav ova l.s. ulaziti	Voda za piće <sup>1</sup>	-
Fermentacioni medijumi	l.s. se koristi za sintezu drugih hemijskih entiteta (npr. polusintetske l.s., antibiotici)	-	Voda za piće <sup>1</sup>
Fermentacioni medijumi i medijumi ćelijskih kultura	L.s. se koristi u proizvodnji bioloških preparata (npr. vakcine i rekombinantni biološki proizvodi)	-	Voda za piće
Ekstrakcija iz biljaka	Ne postoje zahtevi za sterilnost ili apirogenost l.s. ili finalnog proizvoda u čiji će sastav ova l.s. ulaziti	Voda za piće <sup>2</sup>	Voda za izradu ekstrakata
Finalna izolacija i prečišćavanje	Ne postoje zahtevi za sterilnost ili apirogenost l.s. ili finalnog proizvoda u čiji će sastav ova l.s. ulaziti	Voda za piće <sup>1</sup>	Voda za piće <sup>1</sup>
Finalna izolacija i prečišćavanje	L.s. nije sterilna, ali je namenjena za primenu u sterilnom, neparenteralnom preparatu	Prečišćena voda	Prečišćena voda
Finalna izolacija i prečišćavanje	L.s. nije sterilna, ali je namenjena za izradu nesterilnih vakcina za neparenteralnu primenu	-	Prečišćena voda
Finalna izolacija i prečišćavanje	L.s. je sterilna, ali nije namenjena za parenteralnu primenu	Prečišćena voda	Prečišćena voda
Finalna izolacija i prečišćavanje	L.s. nije sterilna, ali je namenjena za primenu u sterilnom, parenteralnom preparatu	Prečišćena voda, limit za endotoksine (0,25 EU/ml) i kontrola određenih mikroorganizama	Prečišćena voda <sup>3</sup>
Finalna izolacija i prečišćavanje	L.s. je sterilna i apirogena	Voda za injekcije	Voda za injekcije
Finalna izolacija i prečišćavanje	L.s. (biološka) je nesterilna, u rastvoru namenjena za primenu u sterilnom parenteralnom preparatu	-	Voda za injekcije
Finalno prečišćavanje	L.s. (biološka) je namenjena za parenteralnu primenu	-	Voda za injekcije

<sup>1</sup>Kada postoje tehnički zahtevi za vodom veće hemijske čistoće koristi se prečišćena voda.<sup>2</sup>Potrebljano je dokazati da potencijalne varijacije u kvalitetu vode, a posebno u pogledu prisustva minerala, neće uticati na sastav ekstrakta<sup>3</sup>Potrebljano je ispuniti zahteve specifikacije u pogledu sadržaja endotoksina i specifičnih mikroorganizama u skladu sa zahtevima Ph. Eur. za aktivnu supstancu

Voda koja se koristi za izradu farmaceutskih preparata iz kojih se uklanja u nekoj od kasnijih faza proizvodnog postupka (npr. sušenje u fluidizacionim sušnicama, nesterilna liofilizacija) treba da odgovara najmanje kvalitetu prečišćene vode (19,21). Izuzetak je voda koja se koristi u proizvodnom procesu pre sterilne liofilizacije, koja mora da odgovara kvalitetu vode za injekcije (Tabela VII).

**Tabela VII** Zahtevi za kvalitet vode koja se koristi u proizvodnji farmaceutskih preparata, a koja nije prisutna u finalnoj formulaciji (19,21)

**Table VII** Requirements for quality of water used during manufacturing of pharmaceutical preparations which is not present in the final formulation (19,21)

Proizvodni proces tokom koga se koristi voda koja se naknadno uklanja	Minimalno prihvatljiv kvalitet vode <sup>1</sup>
Granulacija	Prečišćena voda <sup>2</sup>
Oblaganje tableta	Prečišćena voda
Koristi se u formulaciji pre uklanjanja nesterilnom liofilizacijom	Prečišćena voda
Koristi se u formulaciji pre uklanjanja sterilnom liofilizacijom	Voda za injekcije

<sup>1</sup>Identični zahtevi za kvalitet su navedeni u radnoj verziji izmenjenog Vodiča (21)

<sup>2</sup>U proizvodnji nekih veterinarskih preparata, poput granulisanih koncentrata, može biti prihvatljiva upotreba vode za piće, kada je to opravdano i odobreno, uzimajući u obzir mogućnost varijacije u hemijskom i mikrobiološkom kvalitetu

### **3.3 Zahtevi za kvalitet vode kao sredstva za pranje i ispiranje opreme, kontejnera i zatvarača**

Kvalitet vode koja se koristi za pranje i ispiranje opreme, kontejnera, odnosno ambalaže određuje se na osnovu faze pranja i ispiranja i vrste preparata, odnosno njegove namene. Generalno, za finalno ispiranje se koristi voda najmanje istog ili većeg kvaliteta u odnosu na kvalitet vode koja se koristi u procesu proizvodnje preparata. Tako je npr. za početno ispiranje opreme/kontejnera za proizvodnju/pakovanje nesterilnih preparata potrebno koristiti vodu za piće, dok se za finalno ispiranje koristi prečišćena voda (Tabela VIII). Za početno ispiranje opreme/kontejnera za proizvodnju/pakovanje sterilnih preparata potrebno je koristiti prečišćenu vodu, dok se za finalno ispiranje koristi voda za injekcije. Izuzetak su sterilni preparati koji se ne primenjuju parenteralno, kod kojih je moguće finalno ispiranje prečišćenom vodom, ali samo ukoliko je voda ovog kvaliteta korišćena i za proizvodnju ovih preparata.

**Tabela VIII** Zahtevi za kvalitet vode koja se koristi za pranje i ispiranje (19,21)  
**Table VIII** Requirements for quality of water used for cleaning and rinsing (19,21)

Faza čišćenja/ispiranja opreme, kontejnera i zatvarača	Vrsta proizvoda	Minimalno prihvatljiv kvalitet vode <sup>1</sup>
Početno ispiranje	Intermedijeri ili l.s.	Voda za piće
Finalno ispiranje	L.s.	Isti kvalitet kao i kvalitet vode koja se koristi u proizvodnji l.s.
Početno ispiranje, uključujući pranje opreme u mestu, kontejnera i zatvarača, ukoliko je moguće	Nesterilni farmaceutski preparati	Voda za piće
Finalno ispiranje, uključujući pranje opreme u mestu, kontejnera i zatvarača, ukoliko je moguće	Nesterilni farmaceutski preparati	Prečišćena voda ili voda istog kvaliteta kao i voda koja se koristi za proizvodnju farmaceutskog preparata, ukoliko je višeg kvaliteta od prečišćene vode
Početno ispiranje <sup>2</sup> , uključujući pranje opreme u mestu, kontejnera i zatvarača, ukoliko je moguće	Sterilni farmaceutski preparati	Prečišćena voda
Finalno ispiranje <sup>3</sup> , uključujući pranje opreme u mestu, kontejnera i zatvarača, ukoliko je moguće	Sterilni neparenteralni farmaceutski preparati	Prečišćena voda ili voda istog kvaliteta kao i voda koja se koristi za proizvodnju med. proizvoda, ukoliko je većeg kvaliteta od prečišćene vode
Finalno ispiranje <sup>3</sup> , uključujući pranje opreme u mestu, kontejnera i zatvarača, ukoliko je moguće	Sterilni parenteralni farmaceutski preparati	Voda za injekcije

<sup>1</sup>Identični zahtevi za kvalitet su navedeni u radnoj verziji izmenjenog Vodiča (21)

<sup>2</sup>Neki kontejneri, poput plastičnih kontejnera za kapi za oči ne zahtevaju početno ispiranje, iako to može dovesti do povećanog čestičnog onečišćenja. U pojedinim slučajevima, poput procesa formiranja-punjjenja-zatapanja (engl. *blow-fill-seal*) ispiranje nije moguće.

<sup>3</sup>Ukoliko se oprema suši nakon ispiranja razblaženim deterdžentima i/ili razblaženim alkoholom, razblaživanje se vrši vodom istog kvaliteta kao i voda koja se koristi za finalno ispiranje.

#### 4. Zahtevi Dobre proizvođačke prakse za vodu i sisteme za proizvodnju, čuvanje i distribuciju vode

Značaj kvaliteta vode za primenu u proizvodnji lekova prepoznat je i u *Smernicama Dobre proizvođačke prakse* u Republici Srbiji i Evropskoj uniji (u daljem tekstu *Smernice DPP*) (22,23). Zahtevi *Smernica DPP* koji se odnose na sistem za dobijanje, čuvanje i distribuciju vode, ukazuju da je ovaj sistem prepoznat kao kritični pomoćni sistem, poput sistema za grejanje, ventilaciju i kondicioniranje vazduha. Ovi zahtevi sadržani su u sledećim poglavljima prvog dela *Smernica DPP*: 1. *Upravljanje*

*kvalitetom, 3. Prostorije i oprema, 5. Proizvodnja i 6. Kontrola kvaliteta*, kao i aneksima: 1. *Proizvodnja sterilnih lekova, 6. Proizvodnja medicinskih gasova, 9. Proizvodnja tečnih farmaceutskih oblika, krema i masti i 15. Kvalifikacija i validacija*. Opšti zahtevi DPP se odnose na sprovođenje kvalifikacije sistema za vodu, sanitacije u cilju smanjenja rizika od mikrobiološke kontaminacije, postupanje sa otpadnim vodama u cilju smanjenja rizika od unakrsne kontaminacije, praćenje i kontrolu kvaliteta vode.

S obzirom na potencijalni rizik koji mikrobiološka kontaminacija, odnosno neodgovarajući mikrobiološki kvalitet vode može predstavljati po zdravlje, posebno se ističu mere za prevenciju mikrobiološke kontaminacije, do koje može doći usled neadekvatnog postupka prečišćavanja, čuvanja i ili distribucije vode. Iako je sadržaj potencijalnih nutrijenasa u sistemima za proizvodnju, čuvanje i distribuciju vode izrazito nizak, pojedine bakterijske vrste razvile su izuzetnu sposobnost preživljavanja, čak i razmnožavanja u takvom okruženju. Neke bakterijske vrste imaju sposobnost adhezije za unutrašnje površine pomenutih sistema obrazujući filmove sačinjene od bakterijskih ćelija, njihovih metabolita, ali i nutrijenasa koji mogu poticati iz vode i od mrtvih mikroorganizama (npr. usled neadekvatne sanitacije) (8). Vremenom ove bakterije produkuju egzopolisaharide koji pojačavaju adheziju za površinu sistema, ali i njihovu međusobnu povezanost, delujući kao svojevrsna zaštitna barijera (ograničavaju i ili usporavaju prodor antimikrobnih agenasa). Ovakve strukture nazivaju se biofilmovi, a najčešće ih formiraju Gram-negativne bakterije. Jednom formiran biofilm veoma teško se uklanja, te su preventivno delovanje i periodična sanitacija (hemiska ili termalna) od ključnog značaja za očuvanje mikrobiološkog kvaliteta vode (8). Najčešći uzročnici mikrobiološke kontaminacije u sistemima za prečišćenu vodu i vodu za injekcije su bakterije rodova *Ralstonia*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Flavimonas* i *Moraxella* (24).

Pomenuti rizici po mikrobiološki kvalitet proizvoda, a koji se dovode u vezu sa mikrobiološkim kvalitetom vode koja se koristi u postupku proizvodnje, posebno su prepoznati u proizvodnji sterilnih (*Aneks 1*), i tečnih, odnosno polučvrstih preparata (*Aneks 9*). Aneks 1 zahteva da sistemi za prečišćavanje i distribuciju vode budu dizajnirani, izrađeni i održavani tako da se obezbedi pouzdano snabdevanje vodom odgovarajućeg kvaliteta (25). Zahteva se i da ovi sistemi ne rade preko definisanog kapaciteta, jer bi to moglo ugroziti kvalitet vode, a kao dodatna mera za smanjenje rizika od mikrobiološke kontaminacije, zahteva se da voda neprekidno cirkuliše na temperaturi iznad 70 °C. Zahteva se i redovno praćenje kvaliteta polazne i prečišćene vode, praćenje rada opreme koja se koristi za prečišćavanje vode i dokumentovanje svih ovih aktivnosti.

Predložena verzija revidiranog Aneksa 1, (26) sadrži zasebnu celinu posvećenu zahtevima za sisteme za vodu. Pored osnovnih zahteva koje sadrži i trenutno važeći Aneks 1, a koji se odnose na validaciju/kvalifikaciju, dezinfekciju, sanitaciju i održavanje sistema, navodi se da proizvedena voda mora da bude farmakopejskog

kvaliteta, kao i da se voda za injekcije proizvodi iz prečišćene vode, postupcima destilacije ili reverznom osmozom u kombinaciji sa drugim postupcima, poput ultra- ili nanofiltracije. Potrebno je kontinuirano pratiti prisustvo organskih materija (TOC) i provodljivost proizvedene vode za injekcije. Za proizvodnju pare za sterilizaciju neophodno je koristiti vodu čiji kvalitet odgovara najmanje kvalitetu prečišćene vode sa niskim sadržajem endotoksina, dok je prisustvo aditiva u ovoj pari dozvoljeno samo u stepenu koji neće imati za posledicu kontaminaciju proizvoda ili opreme. Pored toga, u revidiranom tekstu Aneksa 1, navodi se zahtev i da sistemi za vodu treba da budu dizajnirani tako da je rizik od mikrobiološke kontaminacije sведен na minimum, što između ostalog podrazumeva, turbulentan protok vode kroz sistem, izbegavanje slepih završetaka i odgovarajući nagib cevi kako bi bilo moguće potpuno isušivanje. Sterilizacija i periodično testiranje integriteta filtera u sistemima za vodu su takođe obaveze proizvođača. U slučaju probijanja akcionalih limita u pogledu kvaliteta vode od proizvođača se zahteva da sprovede istragu uzroka i posledica (engl. *root cause investigation*) i procenu rizika.

## **5. Preporuke za čuvanje voda za farmaceutsku upotrebu u malim količinama**

U farmakopejama se ne navode konkretni uslovi čuvanja voda i njihovi rokovi upotrebe, nego se generalno zahteva da se vode čuvaju na način koji će obezbediti očuvanje zahtevanog kvaliteta do trenutka njihove upotrebe. Na ovaj način se ostavlja mogućnost da se u praksi rokovi upotrebe definišu u zavisnosti od kvaliteta vode, vrste ambalaže, ali i uslova čuvanja. U stručnoj literaturi je moguće naći preporuke koje se odnose na rokove upotrebe i uslove/način čuvanja voda u manjim količinama, odnosno u okruženju koje nije opremljeno namenskim sistemima za čuvanje i distribuciju vode (npr. apoteke). U nemačkoj stručnoj literaturi se može pronaći podatak da prečišćenu vodu koja se koristi za izradu farmaceutskih preparata ne bi trebalo čuvati duže od 24 časa, uz preporuku čuvanja u sterilisanoj ambalaži (27). Primer preporuka za čuvanje vode za izradu nesterilnih farmaceutskih preparata, prikazan je u Tabeli IX, uz napomenu da nije reč o regulatornim zahtevima (28). Na osnovu prikazanih podataka može se zaključiti da je pri definisanju roka upotrebe potrebno razmotriti više faktora, kao što su zahtevani kvalitet vode, postupak dobijanja, ambalaža i uslovi čuvanja.

**Tabela IX** Preporuke za čuvanje vode za izradu nesterilnih farmaceutskih preparata (28)**Table IX** Recommendations for storage of water for non-sterile preparations (28)

<b>Postupak dobijanja i način čuvanja</b>	<b>Temperatura skladištenja</b>	<b>Rok upotrebe</b>
Destilacija		
Zatvorena boca	2-8 °C	2 nedelje
Boca nakon prvog otvaranja	15-25 °C	24 h
Prihvatski/sabirni sud iz koga se voda prenosi u boce	15-25 °C	24 h
Dejonizacija i prokuvavanje	15-25 °C	24 h
Dejonizacija i membranska filtracija	15-25 °C	koristiti odmah
Sterilna prečišćena voda		
Zatvorena boca	15-25 °C	3 godine
Boca nakon prvog otvaranja	15-25 °C	24 h
Sterilna voda za injekcije		
Zatvorena boca, sterilisana	2-30 °C	3 godine
Boca nakon prvog otvaranja	2-30 °C	24 h

## 6. Zaključak

Zahvaljujući bezbednosti, rasprostranjenosti, specifičnim fizičko-hemijskim osobinama i relativno niskoj ceni, voda je nezamenjiva kao ekscipijens u farmaceutskim preparatima, sredstvo za proizvodnju lekovitih supstanci i analitičkih reagenasa, ekstrakciju, čišćenje, pranje i razmenu toplice u farmaceutskoj industriji. Zahtevi za fizičko-hemijski i mikrobiološki kvalitet voda koje se koriste u farmaceutskoj industriji značajno variraju, u zavisnosti od njihove namene, odnosno rizika koje nečistoće prisutne u njima mogu predstavljati po finalni proizvod i konačno po zdravlje pacijenta.

Primena vode u farmaceutskoj industriji povlači za sobom povećan rizik od mikrobiološke kontaminacije, te su zahtevi regulatornih tela prvenstveno fokusirani na preduzimanje mera u cilju smanjenja ovog rizika. Regulatorni zahtevi za kvalifikaciju i kontinuirano praćenje rada sistema za proizvodnju, čuvanje i distribuciju vode, kao i samog kvaliteta vode, takođe su od ključnog značaja za obezbeđenje kvaliteta finalnih proizvoda.

Dugo očekivane izmene regulative u ovoj oblasti posledica su prvenstveno uvođenja nedestilacionih postupaka (reverzna osmoza u kombinaciji sa drugim postupcima) za dobijanje vode za injekcije u istoimenu monografiju Evropske farmakopeje. Ova velika izmena je samo jedan u nizu koraka harmonizacije propisa u

zemljama Evropske unije i Sjedinjenim Američkim Državama, koja za posledicu ima navedeno povlačenje monografije *Visokoprečišćena voda* i usklađivanje povezanih propisa i smernica, uključujući i Aneks 1 *Smernica DPP, Vodiča o kvalitetu vode za farmaceutsku upotrebu* i dr.

## 7. Literatura

1. The United States Pharmacopoeia (USP 40–NF 35), Rockville: United States Pharmacopocial Convention, Inc., 2017.
2. World Health Organisation. Good Manufacturing Practices: Water for Pharmaceutical Use. WHO Technical Report Series, No. 970, Annex 2, 2012.
3. Water - Structure and Properties [Internet]. A Level Biology Revision Resources & Practice Questions [cited 2019 Apr 15]. Available from: <https://alevelbiology.co.uk/notes/water-structure-properties/>
4. Stumm W, Morgan JJ. Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters. Hoboken: John Wiley & Sons; 2012.
5. Dubash D, Shah U. Water. In: Rowe RC, Sheskey PJ, editors. Handbook of Excipients, 6th Ed. London: Pharmaceutical Press; 2009. p. 766-770.
6. Fahr A. Voigt's Pharmaceutical Technology, 1<sup>st</sup> Ed. Hoboken: John Wiley & Sons; 2018. p. 163-173.
7. Aulton M. E. Aulton's Pharmaceutics: The Design and Manufacture of Medicines, 5th Ed. London: Elsevier; 2018.
8. Shnayder L. Water for Pharmaceuticals. In: Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 3<sup>rd</sup> Ed. London: Informa Healthcare; 2007. p. 4039-4048.
9. The European Pharmacopoeia – Supplement 9.4, Strasbourg: Council of Europe, 2017.
10. World Health Organization. The International Pharmacopoeia 7th ed, Geneva: World Health Organization, Dept. of Essential Medicines and Pharmaceutical Policies, 2017.
11. Jugoslovenska farmakopeja 2000, Beograd, Srbija, Savremena administracija, 2000.
12. Monograph for Water, highly purified (1927) to be suppressed from the European Pharmacopoeia [Internet]. European Pharmacopoeia Commission, Strasbourg [cited 2018 Okt 10]. Available from: <https://www.edqm.eu/en/news/monograph-water-highly-purified-1927-be-suppressed-european-pharmacopoeia>.
13. The European Pharmacopoeia 9th Edition, Strasbourg: Council of Europe, 2016.
14. The European Pharmacopoeia – Supplement 9.1, Strasbourg, France: Council of Europe, 2016.
15. European Medicines Agency. Questions and answers on production of water for injections by non-istillation methods – reverse osmosis and biofilms and control strategies. London, 2017.
16. European Commission. EU GMP Annex 1 Revision: Manufacture of Sterile Medicinal Products (Consultation Document). Brussels, 2018.

17. The Council of the European Union. Council Directive 98/83/EC on the quality of water intended for human consumption. Brussels, 1998.
18. <1231> Water for pharmaceutical purposes. The United States Pharmacopoeia (USP 40–NF 35), Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, Inc., 2017.
19. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Note for guidance on quality of water for pharmaceutical use. London, 2002.
20. European Medicines Agency. Concept paper on the need for revision of note for guidance on quality of water for pharmaceutical use (H+V). London, 2017.
21. European Medicines Agency. Guideline on the quality of water for pharmaceutical use (draft). Amsterdam, 2018.
22. Smernice Dobre proizvođačke prakse Službeni glasnik RS 97/2017.
23. European Commission. Good Manufacturing Practice (GMP) guidelines: Part I - Basic Requirements for Medicinal Products. Brussels, Latest revision: 2014.
24. Sandle T. Characterizing the Microbiota of a Pharmaceutical Water System-A Metadata Study. SOJ Microbiol. Infect. Dis. 2015;3(2): 1-8.
25. European Commission. Good Manufacturing Practice (GMP) guidelines: Annex 1 - Manufacture of Sterile Medicinal Products (corrected version), Brussels, 2008.
26. European Commission. Good Manufacturing Practice (GMP) guidelines: Annex 1 - Manufacture of Sterile Medicinal Products (draft), Brussels, 2017.
27. Bergmann M, Schlegel L, Schubert M, Tawab M. Wasser in der Pharmazie Die Qualität entscheidet. Pharmaceutische Zeitung, 2014; 34.
28. Bowman R, Bateman R. Raw Materials. In: Yvonne Bouwman-Boer, V'lain Fenton-May, Paul Le Brun, editors. Practical Pharmaceutics: An International Guideline for the Preparation, Care and Use of Medicinal Products, KNMP and Springer International Publishing Switzerland; 2015. p. 463-500.

# **Water for pharmaceutical use – importance, types and quality requirements**

**Bojan Čalija<sup>\*</sup>, Danina Krajišnik, Jela Milić**

University of Belgrade – Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology and Cosmetology, Vojvode Stepe 450, 11 221 Belgrade

\* Corresponding author: Tel. +381 11 3951-363,  
e-mail: bojanc@pharmacy.bg.ac.rs

---

## **Summary**

Owing to its safety, wide distribution, and unique physicochemical properties, water is indispensable in pharmaceutical industry as excipient, solvent for extraction, production of active ingredients and analytical reagents, cleaning and heat-transfer agent. Various water types are used for production of pharmaceutical preparations and the water quality requirements depend on characteristics and use of final pharmaceutical preparation and production stage at which is water used.

This paper summarizes regulatory requirements related to water for pharmaceutical use and systems for water production, storage and distribution in pharmaceutical industry, with focus on current regulation changes in this field. An overview on types of water for pharmaceutical use is provided, especially that official in The European and The United States Pharmacopoeia, including their quality requirements, usage and production methods.

**Keywords:** purified water, water for injections, water quality, water purification systems

---

## Prilozi – Contributions

### SPISAK RECENZENATA RADOVA razmatranih za objavljivanje u Arhivu za farmaciju u 2018. godini

Ime i prezime recenzenta	Ustanova
Dr Biljana Stojanović, vanredni profesor	Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet
Dr sc. Žarko Jović	Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije, Beograd
Dr Danina Krajišnik, vanredni profesor	Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet
Prof. dr Slobodanka Tamburić	London College of Fashion, University of the Arts, London, UK
Prof. dr Jela Milić	Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet
Dr Ivana Arsić, vanredni profesor	Univerzitet u Nišu - Medicinski fakultet
Prof. dr Bojan Marković	Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet
Dr sc. Milan Senčanski, naučni saradnik	Centar za multidisciplinarna istraživanja i inženjeringu, Institut za nuklearne nauke „Vinča“
Prof. dr Siniša Pavlović	Univerzitet u Beogradu - Medicinski fakultet
Dr Goran Vukomanović	Univerzitetska dečija klinika Tiršova, Beograd
Dr sc. Igor Popović	European Directorate for the Quality of Medicine, Strasbourg, France
Prof. dr Zorica Đurić	Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet
Dr sc. Tijana Miletić, naučni saradnik	Hemofarm, a.d., Vršac

<b>Ime i prezime recenzenta</b>	<b>Ustanova</b>
Prof. dr Gordana Vuleta	Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet
Prof. dr Snežana Savić	Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet
Doc. dr Ivana Pantelić	Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet
Prof. dr Marina Milenković	Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet
Dr Dragana Vasiljević, vanredni profesor	Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet
Dr Danijela Đukić Čosić, vanredni profesor	Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet
Dr Siniša Radulović	Institut za onkologiju, Klinički centar Srbije, Beograd
Prof. dr Sonja Vučković	Univerzitet u Beogradu - Medicinski fakultet
Doc. dr Marija Jovanović	Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet
Prof. dr Momir Mikov	Univerzitet u Novom Sadu -Medicinski fakultet
Doc. dr Bojan Čalija	Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet
Prof. dr Jelena Parojević	Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet
Dr Maja Tomić, vanredni profesor	Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet
Prof. dr sc. Aleksandra Marjanović	Univerzitet u Sarajevu - Farmaceutski fakultet
Dr sc. Igor Petrušić	Univerzitet u Beogradu - Fakultet za fizičku hemiju
Prof. dr Radica Stepanović Petrović	Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet
Dr sc. Dragana Srebro	Univerzitet u Beogradu - Medicinski fakultet
Doc. dr Ana Micov	Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet

**Najsrdačnije se zahvaljujemo svim recenzentima**

## **Obaveštenja**

**U toku 2018. godine na Farmaceutskom fakultetu  
Univerzitetu u Beogradu - odbranjeno je:**

- 288 diplomskih/završnih radova
- 20 doktorskih disertacija
- 20 specijalističkih radova na specijalističkim studijama zdravstvenih radnika i zdravstvenih saradnika
- 129 kandidata završilo je specijalističke akademske studije

**Svima čestitamo i želimo puno uspeha u budućem radu!**

**Spisak studenata koji su završili diplomske osnovne studije na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu 2018. godine**

1. Janjić (Novica) Ilinka	16.01.2018.
2. Karaklajić (Milivoje) Rajka	20.02.2018.
3. Janić (Mijailo) Jelena	13.03.2018
4. Milić (Dragomir) Ana	26.03.2018.
5. Purić (Risto) Jelena	12.04.2018.
6. Jagličić (Zoran) Jovana	12.04.2018.
7. Fidanovski (Zoran) Biljana	30.04.2018.
8. Bijelović (Branko) Mirjana	04.05.2018.
9. Nikolić (Zoran) Marija	22.06.2018.
10. Jovanović (Vladeta) Dejan	09.07.2018.
11. Nikolić (Ilija) Dragan	12.07.2018.
12. Kazis (Mihalis) Ioannis	12.07.2018.
13. Stojkov (Đurica) Marijana	13.07.2018.
14. Galjak (Milutin) Jelena	13.07.2018.
15. Ćosović (Dragan) Dijana	18.07.2018.
16. Mijatović (Aleksandar) Tijana	02.10.2018.
17. Burić (Dragan) Dejan	16.10.2018.
18. Jovanović (Stepan) Sanja	28.12.2018.

**Spisak studenata koji su završili integrisane akademske studije  
na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu 2018. godine**

1. Basić (Goran) Milica	30.01.2018.
2. Andeselić (Goran) Nina	12.02.2018.
3. Berdon (Bojan) Katarina	12.02.2018.
4. Mosić (Vlastimir) Milica	14.02.2018.
5. Simić (Ljubiša) Milena	22.02.2018.
6. Subošić (Zoran) Branko	22.02.2018.
7. Mirkov (Milan) Milana	23.02.2018.
8. Kostadinov (Vlade) Lidija	27.02.2018.
9. Koravović (Dejan) Mladen	01.03.2018.
10. Stojković (Milojica) Jovana	06.03.2018.
11. Vujović (Vojislav) Aleksandra	09.03.2018.
12. Vuksanović (Dragan) Milica	14.03.2018.
13. Todorović (Nebojša) Ana	15.03.2018.
14. Dukadinovski (Novica) Dejana	16.03.2018.
15. Simić (Siniša) Zorana	16.03.2018.
16. Đorđević (Novica) Lazar	20.03.2018.
17. Radojević (Slobodan) Ana	21.03.2018.
18. Simović (Dejan) Aleksandar	22.03.2018.
19. Novaković (Duško) Divna	26.03.2018.
20. Ćirović (Milivoje) Tanja	30.03.2018.
21. Kamenović (Zoran) Jovana	02.04.2018.
22. Stajić (Zoran) Marija	02.04.2018.
23. Stojanović (Siniša) Natalija	02.04.2018.
24. Topalović (Dobro) Gordana	02.04.2018.
25. Čolić (Darko) Mina	03.04.2018.
26. Jovanović (Miloš) Jovana	04.04.2018.
27. Dunjić (Bratislav) Dušan	10.04.2018.
28. Ivanić (Goran) Lidija	12.04.2018.
29. Galić (Bojan) Aleksandra	16.04.2018.

30. Đukić (Nebojša) Aleksandra	19.04.2018.
31. Jovanović (Nikola) Jovana	20.04.2018.
32. Đorđević (Lepomir) Nemanja	25.04.2018.
33. Jovanović (Tomislav) Miloš	04.05.2018.
34. Babić (Ljubivoje) Ana	07.05.2018.
35. Jovanović (Milisav) Aleksa	10.05.2018.
36. Stojanović (Đorđe) Tijana	10.05.2018.
37. Nakić (Slobodan) Jelena	14.05.2018.
38. Manasijević (Dragan) Nevena	17.05.2018.
39. Ušljebroka (Lazo) Dragana	18.05.2018.
40. Dražović (Goran) Aleksandra	21.05.2018.
41. Bogdanović (Strain) Ana	22.05.2018.
42. Vukmir (Milenko) Sara	22.05.2018.
43. Andđelković (Dragan) Ana	23.05.2018.
44. Krasić (Ana) Isidora	24.05.2018.
45. Ranitović (Zoran) Luka	25.05.2018.
46. Sejdović (Borisav) Aleksandra	25.05.2018.
47. Žujović (Živomir) Danijela	29.05.2018.
48. Stojilković (Nenad) Nikola	05.06.2018.
49. Trkulja (Milan) Vanja	14.06.2018.
50. Đukanović (Mile) Dimitrije	15.06.2018.
51. Vojvodić (Dejan) Katarina	19.06.2018.
52. Cvetković (Miroljub) Veljko	27.06.2018.
53. Kojić (Dragan) Suzana	28.06.2018.
54. Novaković (Mirko) Jelena	28.06.2018.
55. Dendić (Milorad) Miloš	30.06.2018.
56. Džunić (Gordana) Jovana	30.06.2018.
57. Jugović (Boško) Marko	06.07.2018.
58. Kovačević (Velimir) Mila	06.07.2018.
59. Cuper (Silvester) Tijana	06.07.2018.
60. Pešić (Dragan) Sandra	09.07.2018.
61. Stanojević (Dragan) Irena	09.07.2018.

62. Milenković (Milan) Dunja	10.07.2018.
63. Pavlović (Dušan) Mladen	10.07.2018.
64. Gavrović (Zoran) Maja	11.07.2018.
65. Golo (Slobodan) Nikolina	11.07.2018.
66. Grubnić (Dragan) Eva	11.07.2018.
67. Miladinović (Dragan) Dragana	11.07.2018.
68. Mitrović (Miloš) Dimitrije	11.07.2018.
69. Arnautović (Dragan) Slađana	12.07.2018.
70. Grujić (Zorica) Jelena	12.07.2018.
71. Đorđević (Siniša) Kristina	12.07.2018.
72. Obradović (Miroslav) Katarina	12.07.2018.
73. Pavlović (Mijuško) Jelena	12.07.2018.
74. Vladić (Slobodan) Miloš	12.07.2018.
75. Atlija (Dragan) Nataša	13.07.2018.
76. Bojanić (Milinko) Marko	13.07.2018.
77. Simić (Milutin) Katarina	13.07.2018.
78. Vasić (Dragana) Jovana	13.07.2018.
79. Đorđević (Srđan) Nemanja	13.07.2018.
80. Maslar (Slaviša) Dragana	13.07.2018.
81. Mladenović (Vlastimir) Danijela	13.07.2018.
82. Savić (Slavica) Jovana	13.07.2018.
83. Tadić (Dejan) Kristina	13.07.2018.
84. Trajković (Milivoje) Hristina	13.07.2018.
85. Obradović (Duško) Teodora	16.07.2018.
86. Pejović (Branko) Teodora	16.07.2018.
87. Dobrosavljević (Slaviša) Maja	17.07.2018.
88. Isakov (Branislav) Svetlana	17.07.2018.
89. Krgović (Vlastimir) Nemanja	17.07.2018.
90. Petković (Rodoljub) Aleksa	17.07.2018.
91. Vuković (Jovan) Milja	17.07.2018.
92. Egerić (Ivan) Jovana	18.07.2018.
93. Markišić (Valentina) Natalija	18.07.2018.

94. Milojević (Srban) Bojana	18.07.2018.
95. Ćirković (Vesko) Andrijana	18.07.2018.
96. Rakić ( Milivoje) Jana	18.07.2018.
97. Rakić ( Goran) Sanja	18.07.2018.
98. Atanasijadis (Aleksandra) Ana	19.07.2018.
99. Bosanac (Saša) Saška	19.07.2018.
100. Novosel (Mlađen) Nevena	19.07.2018.
101. Milojević (Živorad) Marija	20.07.2018.
102. Cvijić (Stanko) Nataša	20.07.2018.
103. Džakić (Nenad) Helena	20.07.2018.
104. Lazović (Marinko) Anđelka	24.07.2018.
105. Damjanović (Aleksandra) Aleksandar	25.07.2018.
106. Pavlović (Đorđe) Milica	25.07.2018.
107. Dragić (Žika) Ninoslav	13.08.2018.
108. Stojiljković (Bratislav) Svetlana	15.08.2018.
109. Čikarić (Branimir) Tamara	23.08.2018.
110. Plavšić ( Raica) Snežana	23.08.2018.
111. Anđelković (Vladimir) Nemanja	29.08.2018.
112. Bašić (Slavoljub) Marija	03.09.2018.
113. Ristanović ( Slobodan) Lazar	03.09.2018.
114. Dimitrijević (Momčilo) Biljana	05.09.2018.
115. Milanović (Dragan) Milica	05.09.2018.
116. Stanojević (Zoran) Miloš	06.09.2018.
117. Milović (Dalibor) Tijana	07.09.2018.
118. Pavlov (Goran) Jelena	07.09.2018.
119. Stojmenović (Desimir) Jelena	07.09.2018.
120. Vučićević ( Mićo) Uroš	07.09.2018.
121. Vasilov (Tomica) Milica	10.09.2018.
122. Mirić (Momir) Aleksandra	10.09.2018.
123. Joksimović (Dušan) Milica	12.09.2018.
124. Malešević (Milija) Vladimir	12.09.2018.
125. Nedić (Nikola) Nataša	17.09.2018.

126. Pavlović (Goran) Tijana	17.09.2018.
127. Tomić (Ljubiša) Sanja	19.09.2018.
128. Simanić (Savo) Bojana	19.09.2018.
129. Šesto (Jasmina) Sofija	19.09.2018.
130. Arsić (Nebojša) Natalija	20.09.2018.
131. Petrović (Saša) Tijana	20.09.2018.
132. Jaćimović (Čeda) Vladimir	21.09.2018.
133. Gladović (Zdravko) Snežana	24.09.2018.
134. Krstić (Borislav) Nikola	24.09.2018.
135. Marković (Borivoje) Miljana	24.09.2018.
136. Nikolić (Miodrag) Bojan	24.09.2018.
137. Pešić ( Sladjan) Strahinja	24.09.2018
138. Jevtović (Radoman) Vladan	25.09.2018.
139. Matović (Miroslav) Stefana	25.09.2018.
140. Miljković (Goran) Iva	25.09.2018.
141. Pešić ( Predrag) Kristina	25.09.2018.
142. Rakočević ( Ljubiša) Aleksandra	25.09.2018.
143. Stojadinović (Zlatan) Kristina	25.09.2018.
144. Tomašević (Milojica) Marina	25.09.2018.
145. Jakovljević (Ivko) Nikola	26.09.2018.
146. Krstić (Borivoje) Aleksandra	26.09.2018.
147. Lazić (Svetislav) Jovana	26.09.2018.
148. Milanović (Predrag) Jovana	26.09.2018.
149. Petrović (Zoran) Sanja	26.09.2018.
150. Popović ( Rade) Milica	26.09.2018.
151. Bošković (Nebojša) Isidora	27.09.2018.
152. Đorđević (Goran) Ana	27.09.2018.
153. Živančević (Slobodan) Katarina	27.09.2018.
154. Kokaji (Žarko) Tamara	27.09.2018.
155. Kosanović (Simo) Sonja	27.09.2018.
156. Novaković (Miroslav) Vesna	27.09.2018.
157. Račić ( Mihailo) Vladan	27.09.2018.

158. Stojanović (Predrag) Dušan	27.09.2018.
159. Stojić (Srećko) Dragana	27.09.2018.
160. Tanasković (Zoran) Katarina	27.09.2018.
161. Čavić (Milica) Jelena	27.09.2018.
162. Čvorović (Miodrag) Milica	27.09.2018.
163. Čolić (Dragan) Aleksandra	27.09.2018.
164. Racković (Marijana) Anja	27.09.2018.
165. Vulović (Ljiljana) Nada	27.09.2018.
166. Đorđević (Jovan) Marija	28.09.2018.
167. Zlatanović (Jovica) Dragana	28.09.2018.
168. Jovanović (Jovica) Milan	28.09.2018.
169. Jovanović (Zoran) Katarina	28.09.2018.
170. Jovanović (Bogoljub) Ivana	28.09.2018.
171. Joković (Vladan) Sofija	28.09.2018.
172. Kurtović (Ćane) Nevena	28.09.2018.
173. Milovanović (Vladica) Milena	28.09.2018.
174. Mitić (Marjan) Miloš	28.09.2018.
175. Nedeljković (Slađan) Aleksandra	28.09.2018.
176. Perišić (Risto) Ivana	28.09.2018.
177. Radaković (Miroslav) Milana	28.09.2018.
178. Stanković (Goran) Dragana	28.09.2018.
179. Tomić (Gordana) Nikola	28.09.2018.
180. Šabanović (Zoran) Zora	28.09.2018.
181. Veljković (Dragan) Ivana	29.09.2018.
182. Gotovac (Ranko) Zorana u	29.09.2018.
183. Jablanović (Predrag) Miloš	29.09.2018.
184. Stojanović (Saša) Jelena	29.09.2018.
185. Bačić (Nebojša) Ana	30.09.2018.
186. Biberdžić (Aleksandra) Jelena	30.09.2018.
187. Blagojević (Vladica) Tamara	30.09.2018.
188. Georgijev (Goran) Jovana	30.09.2018.
189. Gligorov (Slobodan) Marija	30.09.2018.

190. Denić (Momčilo) Marija	30.09.2018.
191. Zekić (Vladan) Nevena	30.09.2018.
192. Zekić (Vladan) Ana	30.09.2018.
193. Ivanović (Radisav) Ana	30.09.2018.
194. Ilić (Dragan) Tijana	30.09.2018.
195. Janković (Željko) Milana	30.09.2018.
196. Jovanović (Života) Aleksandra	30.09.2018.
197. Kovačević (Borko) Ana	30.09.2018.
198. Kozić (Dragan) Aleksandar	30.09.2018.
199. Kostić (Vlado) Anja	30.09.2018.
200. Kuč (Radovan) Danijela	30.09.2018.
201. Latinović (Milan) Nataša	30.09.2018.
202. Lončarević (Dragan) Milica	30.09.2018.
203. Lužajić (Dušan) Dušica	30.09.2018.
204. Lukanović (Blagoje) Sonja	30.09.2018.
205. Marković (Miodrag) Milica	30.09.2018.
206. Milenković (Slađana) Jelena	30.09.2018.
207. Mihajlović (Miodrag) Miona	30.09.2018.
208. Mladenović (Saša) Katarina	30.09.2018.
209. Mutapović (Dragan) Aleksandra	30.09.2018.
210. Nemoda (Stevan) Milica	30.09.2018.
211. Njegomir (Miroslav) Kristina	30.09.2018.
212. Obradović (Darko) Anđela	30.09.2018.
213. Pavlović (Mirjana) Mia	30.09.2018.
214. Pešić (Milanko) Jelena	30.09.2018.
215. Radivojević ( Ratko) Isidora	30.09.2018.
216. Spasić ( Dejan) Sanja	30.09.2018.
217. Striško (Samuel) Jasna	30.09.2018.
218. Tomović (Milan) Anastasija	30.09.2018.
219. Trajković (Nebojša) Tamara	30.09.2018.
220. Tufegdžić (Saša) Nevena	30.09.2018.
221. Pajić (Vesna) Nikola	09.10.2018.

222. Vučković (Sava) Stefan	19.10.2018.
223. Pavlović (Lela) Svetlana	19.10.2018.
224. Đulaković (Milan) Marija	23.10.2018.
225. Filipović (Alla) Ana	23.10.2018.
226. Dobrosavljević (Jasna) Milica	24.10.2018.
227. Janjušević (Milanko) Jelica	25.10.2018.
228. Petrović (Dragana) Ognjen	26.10.2018.
229. Veselinović (Zoran) Sandra	30.10.2018.
230. Milosavljević (Goran) Dušica	30.10.2018.
231. Radulović ( Dragan) Ivana	30.10.2018.
232. Tašković (Srđan) Ivan	30.10.2018.
233. Mladenović (Aca) Marija	01.11.2018.
234. Vasilić (Zoran) Jovana	05.11.2018.
235. Stefanović (Stojanča) Ivona	08.11.2018.
236. Gordić (Vladimir) Ivan	09.11.2018.
237. Cvrkotić (Ostoja) Jelena	09.11.2018.
238. Popović ( Jakša) Vojin	09.11.2018.
239. Živković (Marijan) Jelena	13.11.2018.
240. Čolić (Zoran) Jelena	14.11.2018.
241. Šunić (Čedomir) Sanja	14.11.2018.
242. Vićentijević ( Nebojša) Nina	14.11.2018.
243. Cerović (Branislav) Nevena	15.11.2018.
244. Dejanović (Gordana) Miloš	19.11.2018.
245. Špadijer (Petar) Katarina	22.11.2018.
246. Ćetrović (Mirko) Veljko	30.11.2018.
247. Kovačević (Milorad) Jovana	04.12.2018.
248. Stanojev ( Siniša) Milena	07.12.2018.
249. Marjanović (Gordan) Jovana	11.12.2018.
250. Lukić (Andrija) Emilija	12.12.2018.
251. Josimov (Zoran) Nataša	13.12.2018.
252. Bekrić (Vojkan) Jana	17.12.2018.
253. Veljković (Milan) Marija	17.12.2018.

254. Stefanović (Dragovan) Biljana	21.12.2018.
255. Krstić (Novica) Sara	24.12.2018.
256. Zekić (Slobodan) Katarina	25.12.2018.
257. Danilović (Ilinka) Kristina	26.12.2018.
258. Jelisavčić (Jovan) Milica	26.12.2018.
259. Kalaba (Milan) Katarina	26.12.2018.
260. Krstić (Boban) Ružica	26.12.2018.
261. Milić (Jovan) Milica	26.12.2018.
262. Randđelović ( Radivoje) Dragana	26.12.2018.
263. Stanojević (Vojislav) Jelica	26.12.2018.
264. Vasić (Zoran) Ivana	28.12.2018.
265. Korolija (Milan) Rastko	28.12.2018.
266. Kostadinović (Ljubiša) Nevena	28.12.2018.
267. Kubat (Milan) Aleksa	28.12.2018.
268. Marić (Željko) Mirna	28.12.2018.
269. Milanović (Ljubivoje) Slobodan	28.12.2018.
270. Vukićević ( Milivoje) Nevena	29.12.2018.

# **Spisak studenata koji su završili specijalizaciju zdravstvenih radnika i zdravstvenih saradnika na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu 2018. godine**

U toku 2018. godine, specijalistički rad na specijalističkim studijama zdravstvenih radnika i zdravstvenih saradnika i uže specijalističke studije zdravstvenih radnika i zdravstvenih saradnika odbranilo je ukupno 20 kandidata.

## **1. Medicinska biohemija**

- 1) **Kandidat:** Krompić Branka

**Naziv teme:** „Ispitivanje pokazatelja inflamacije i lipidnog statusa kod pacijenata sa angiografski dokazanom koronarnom bolešću”

**Mentor:** prof.dr Zorana Jelić-Ivanović, rad odbranjen 31.01.2018.

- 2) **Kandidat:** Đurović-Radović Ana

**Naziv teme:** „Mokraćna kiselina i kardiovaskularni morbiditet kod pacijenata na hemodijalizi”

**Mentor:** prof.dr Svetlana Ignjatović, rad odbranjen 02.03.2018.

- 3) **Kandidat:** Misita Boško

**Naziv teme:** „Prokalcitonina kod hospitalizovanih pacijenata obolelih od infekcija različitih organa”

**Mentor:** prof.dr Vesna Kalimanovska-Spasojević, rad odbranjen 29.03.2018.

- 4) **Kandidat:** Antonić Svetlana

**Naziv teme:** „Neopterin kao marker virusnih infekcija pri skriningu dobrovoljnih davalaca krvi u toku afereznog davanja krvi”

**Mentor:** prof.dr Vesna Kalimanovska-Spasojević, rad odbranjen 30.10.2018.

## **2. Farmaceutska tehnologija**

- 1) **Kandidat:** Hadžibeti Đulija  
**Naziv teme:** „Magistralni preparati u lokalnoj dermatoterapiji – uloga i odgovornost farmaceuta u apoteci”  
**Mentor:** prof. dr Gordana Vuleta, rad odbranjen 26.02.2018.
  
- 2) **Kandidat:** Bukva Aleksandra  
**Naziv teme:** „Izbor ekscipijenasa, postupka izrade i unutrašnjeg pakovanja pri formulaciji oralnih granula”  
**Mentor:** prof. dr Snežana Savić, rad odbranjen 09.07.2018.
  
- 3) **Kandidat:** Lukić Milica  
**Naziv teme:** „Mogućnosti i ograničenja u formulaciji i primeni čvrstih farmaceutskih oblika lekova za (reč) oralnu upotrebu u pedijatrijskoj populaciji”  
**Mentor:** prof. dr Sandra Cvijić, rad odbranjen 28.09.2018.

## **3. Ispitivanje i kontrola lekova**

- 1) **Kandidat:** Joksimović Tamara  
**Naziv teme:** „Određivanje sadržaja gliceril trinitrata u Nirmin 5mg/1,6ml koncentratu za rastvor za infuziju-Primena gliceril trinitrata u kardiovaskularnim oboljenjima”  
**Mentor:** prof.dr Zorica Vujić, rad odbranjen 26.02.2018.
  
- 2) **Kandidat:** Krnjeta Sanja  
**Naziv teme:** „Razvoj i validacija HPCL-UV metoda za određivanje rezidua cetirizine dihidrohlorida, hidrohlortiazida i ondansetrona na površini proizvodne opreme i bezbednosni profili cetirizin dihidrohlorida, hidrohlortiazida i ondansetrona”  
**Mentor:** prof.dr Anđelija Malenović, rad odbranjen 02.04.2018.

- 3) **Kandidat:** Kasagić-Vujanović Irena  
**Naziv teme:** „Razvoj i validacija metode tečne hromatografije u skladu sa QbD konceptom za analizu amitriptilina i njegovih nečistoća – farmakologija amitriptilin hidrohlorida”  
**Mentor:** prof.dr Biljana Stojanović, rad odbranjen 27.04.2018
- 4) **Kandidat:** Milović Nataša  
**Naziv teme:** „Razvoj HPCL metode za određivanje sadržaja neorganskih nitrata kao nečistoća u MONOSAN tabletama primenom AQbD pristupa”  
**Mentor:** prof.dr Andelija Malenović, rad odbranjen 13.06.2018.
- 5) **Kandidat:** Martinović Nikolina  
**Naziv teme:** „Određivanje sadržaja visokomolekularnih proteina kao nečistoća u biosimilarna metodom tečne hromatografije pod visokim pritiskom: farmakoterapijska primena insulina”  
**Mentor:** prof.dr Slavica Erić, rad odbranjen 19.06.2018.
- 6) **Kandidat:** Milošević Boris  
**Naziv teme:** „Razvoj i validacija RP-HPLC metode za simultano određivanje sadržaja ksilometazolin-hidrohlorida i srodnih supstanci u rastvoru za nazalnu primenu. Terapijska primena ksilometazolin-hidrohlorida”  
**Mentor:** prof.dr Slavica Erić, rad obranjen 29.11.2018.
- 7) **Kandidat:** Gojić Bojana  
**Naziv teme:** „Ispitivanje stabilnosti međuproizvoda, poluproizvoda i tri validate serije losartan film tableta Antagonisti angiotenzinskih receptora: farmakološki značaj losartana”  
**Mentor:** prof.dr Zorica Vujić, rad odbranjen 29.11.2018.

## **4. Klinička farmacija**

- 1) **Kandidat:** Ranković Anica  
**Naziv teme:** „Uticaj antipsihotične terapije u prvoj epizodi shizofrenije na prolaktin i biohemijske laboratorijske parametre”  
**Mentor:** prof.dr Branislava Miljković, rad odbranjen 19.03.2018.
  
- 2) **Kandidat:** „Kovačević Tijana  
**Naziv teme:** „Interakcije erlotiniba u terapiji onkoloških bolesnika na klinici za plućne bolesti”  
**Mentor:** prof.dr Branislava Miljković, rad obranjen 29.11.2018.

## **5. Sanitarna hemija**

- 1) **Kandidat:** Lazić Biljana  
**Naziv teme:** „Određivanje sadržaja trihalometana u vodama banjalučkih javnih bazena metodom gasne hromatografije”  
**Mentor:** prof.dr Brižita Đorđević, rad odbranjen 05.04.2018.
  
- 2) **Kandidat:** Božović Sanja  
**Naziv teme:** „Određivanje sadržaja arsena u vodama izvorišta i vodovodne mreže nateritoriji opštine Pančevo”  
**Mentor:** prof.dr Brižita Đorđević, rad odbranjen 06.07.2018.

## **6. Farmakoterapija**

- 1) **Kandidat:** Grcić Milica  
**Naziv teme:** „Savremena terapija multiple skleroze”  
**Mentor:** prof.dr Radica Stepanović-Petrović, rad odbranjen 29.03.2018.
  
- 2) **Kandidat:** Ponjavić Milojka  
**Naziv teme:** „Novi lekovi u terapiji dislipidemije”  
**Mentor:** prof.dr Aleksandra Novaković, rad odbranjen 06.06.2018.

# **Spisak studenata koji su završili specijalističke akademske studije na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu u 2018. godine**

U toku 2018. godine specijalističke akademske studije završilo je ukupno 129 kandidata i to:

## **1. Industrijska farmacija**

Na specijalističkim akademskim studijama, modul: Industrijska farmacija ukupno je odbranjeno 28 specijalističkih radova:

- 1) **Kandidat:** Šokčanić Svetlana  
**Naziv teme:** „Primarno i sekundarno pakovanje tableta i kapsula”  
**Mentor:** prof.dr Zorica Đurić, rad odbranjen 12.01.2018.
- 2) **Kandidat:** Milovanović Snežana  
**Naziv teme:** „Proizvodnja medicinskog kiseonika sa FMEA analizom rizika”  
**Mentor:** prof.dr Svetlana Ibrić, rad odbranjen 15.06.2018.
- 3) **Kandidat:** Savanović Jelena  
**Naziv teme:** „Medicinska sredstva klase III, upis u Registar (na primeru preparata sa hijaluronskom kiselinom”  
**Mentor:** prof.dr Svetlana Ibrić, rad odbranjen 16.07.2018.
- 4) **Kandidat:** Medarević Đorđe  
**Naziv teme:** „Zahtevi za formalizovanu procenu rizika za ekscipijense u lekovima za humanu upotrebu”  
**Mentor:** prof.dr Jelena Đuriš, rad odbranjen 17.07.2018.
- 5) **Kandidat:** Tasić Miroslava  
**Naziv teme:** „Primena koprocesovanih ekscipijenasa u proizvodnji tableta: funkcionalne karakteristike, postupci dobijanja i regulatorni zahtevi”  
**Mentor:** prof.dr Jelena Đuriš, rad odbranjen 16.07.2018.

- 6) **Kandidat:** Mirković Marija  
**Naziv teme:** „Osnovni principi obezbeđenja kvaliteta u proizvodnji radiofarmaceutika”  
**Mentor:** prof.dr Jelena Paročić , rad odbranjen 16.07.2018.
- 7) **Kandidat:** Stanković Dragana  
**Naziv teme:** „Univerzalni 99 Mo/99 m Tc generator laboratorije za radioizotope, Instituta za nuklearne nauke „Vinča” – od razvoja do danas”  
**Mentor:** prof.dr Jelena Paročić , rad odbranjen 16.07.2018.
- 8) **Kandidat:** Vukadinović Aleksandar  
**Naziv teme:** „Monitoring čistih soba i pripadajućih kontrolisanih okruženja za proizvodnju lekova”  
**Mentor:** prof.dr Jelena Paročić , rad odbranjen 23.07.2018.
- 9) **Kandidat:** Jurić Zoran  
**Naziv teme:** „DPP smernice za proizvodnju medicinskih gasova i proizvodnja medicinskog azot suboksida”  
**Mentor:** prof.dr Jelena Đuriš, rad odbranjen 31.08.2018.
- 10) **Kandidat:** Pikula Svetlana  
**Naziv teme:** „Priprema i predaja dokumentacije u elektronskom obliku (NeeS i eCTD) – iskustva u Bosni i Hercegovini, paralela sa Republikom Srbijom i Republikom Hrvatskom”  
**Mentor:** prof.dr Svetlana Ibrić, rad odbranjen 19.09.2018.
- 11) **Kandidat:** Gavrović Miloš  
**Naziv teme:** „Zahtevi za proizvodnju i promet veterinarskih lekova u Republici Srbiji”  
**Mentor:** prof.dr Zorica Đurić, rad odbranjen 24.09.2018.
- 12) **Kandidat:** Šarčević Katarina  
**Naziv teme:** „Validacija procesa čišćenja opreme”  
**Mentor:** prof.dr Zorica Đurić, rad odbranjen 24.09.2018.

- 13) **Kandidat:** Mihajlović Veljko  
**Naziv teme:** „Uporedni pregled zahteva Dobre proizvodčake prakse u proizvodnji lekova i dijetetskih suplemenata”  
**Mentor:** prof.dr Jelena Đuriš, rad odbranjen 28.09.2018.
- 14) **Kandidat:** Aličković Jasenka  
**Naziv teme:** „Formulacija i proizvodnja sirupa”  
**Mentor:** doc.dr Bojan Čalija, rad odbranjen 28.09.2018.
- 15) **Kandidat:** Božić Lidija  
**Naziv teme:** „Pogoni za proizvodnju sterilnih farmaceutskih preparata”  
**Mentor:** doc.dr Bojan Čalija, rad odbranjen 28.09.2018.
- 16) **Kandidat:** Gajić Iva  
**Naziv teme:** „Upravljanje rizicima od unakrsne kontaminacije u farmaceutskoj industriji”  
**Mentor:** prof.dr Jelena Đuriš, rad odbranjen 27.09.2018.
- 17) **Kandidat:** Blagojević Ivana  
**Naziv teme:** „Kontrola i prevencija formiranja biofilma u sistemima za vodu u farmaceutskoj industriji”  
**Mentor:** prof.dr Jelena Đuriš, rad odbranjen 27.09.2018.
- 18) **Kandidat:** Al-Abbasi Majda  
**Naziv teme:** „Pregled regulatornih smernica za dizajn lekova s ciljem smanjenja rizika za nastanak medicinskih grešaka”  
**Mentor:** prof.dr Jelena Paroјčić, rad odbranjen 28.09.2018.
- 19) **Kandidat:** Čolić Maja  
**Naziv teme:** „Revizija smernice za proizvodnju gotovog leka”  
**Mentor:** prof.dr Svetlana Ibrić, rad odbranjen 30.09.2018.
- 20) **Kandidat:** Stojković Natalija  
**Naziv teme:** „Primena upravljanja rizikom u farmaceutskoj industriji”  
**Mentor:** prof.dr Svetlana Ibrić, rad odbranjen 30.09.2018.

- 21) **Kandidat:** Bataković Tamara  
**Naziv teme:** „DPP inspekcije, praktična iskustva Zdravlje FHI AD, priprema za inspekciju, trendovi u regulativi i inspekcijama i primena analize rizika”  
**Mentor:** prof.dr Svetlana Ibrić, rad odbranjen 30.09.2018.
- 22) **Kandidat:** Arežina Bojana  
**Naziv teme:** „Dobra praksa u distribuciji aktivnih i pomoćnih farmaceutskih supstanci”  
**Mentor:** prof.dr Jelena Đuriš, rad odbranjen 26.10.2018.
- 23) **Kandidat:** Ivanović Nina  
**Naziv teme:** „Zaštita životne sredine i farmaceutska industrija: pregled zahteva standarda ISO 14001”  
**Mentor:** prof.dr Jelena Đuriš, rad odbranjen 26.10.2018.
- 24) **Kandidat:** Marić Tanja  
**Naziv teme:** „Obezbeđenje kvaliteta u proizvodnji dijetetskih suplemenata: pregled regulatornih zahteva i smernica”  
**Mentor:** prof.dr Jelena Đuriš, rad odbranjen 26.10.2018.
- 25) **Kandidat:** Bogojević Suzana  
**Naziv teme:** „Transfer tehnologije: pregled aktivnosti u skladu sa regulatornim propisima i zahtevima dobre proizvođačke prakse”  
**Mentor:** prof.dr Jelena Parojević, rad odbranjen 08.11.2018.
- 26) **Kandidat:** Golubović Brankica  
**Naziv teme:** „Korelacija smernica dobre proizvođačke prakse i postupka registracije leka”  
**Mentor:** doc.dr Bojan Čalija, rad odbranjen 08.11.2018.
- 27) **Kandidat:** Simić Dunja  
**Naziv teme:** „Ključni indikatori performansi u farmaceutskoj industriji”  
**Mentor:** doc.dr Bojan Čalija, rad odbranjen 14.11.2018.

- 28) **Kandidat:** Ristović Andelka  
**Naziv teme:** „Jedinstveni identifikator-sigurnosna oznaka na ambalaži lekova za humanu upotrebu”  
**Mentor:** doc.dr Bojan Čalija, rad odbranjen 28.12.2018.

## 2. Farmaceutski menadžment i marketing

Na specijalističkim akademskim studijama Farmacija 1 – modul Farmaceutski menadžment i marketing ukupno je odbranjeno 19 specijalističkih radova:

- 1) **Kandidat:** Simić Jovan  
**Naziv teme:** „Analiza unutrašnjih i spoljašnjih faktora poslovanja apoteke: studija slučaja”  
**Mentor:** prof.dr Ljiljana Tasić, rad odbranjen 01.02.2018.
- 2) **Kandidat:** Bursić Vukadin Marija  
**Naziv teme:** „Analiza i integracija sistema upravljanja kvalitetom u farmaceutskom poslovanju studija slučaja”  
**Mentor:** prof.dr Valentina Marinković rad odbranjen 02.04.2018.
- 3) **Kandidat:** Zekanović Boriša  
**Naziv teme:** „Lanac snabdevanja u farmaceutskoj industriji-izazovi u selekciji i planiranju novih proizvoda”  
**Mentor:** prof.dr Valentina Marinković, rad odbranjen 12.06.2018.
- 4) **Kandidat:** Vasić Jelena  
**Naziv teme:** „Upravljanje kritičnim incidentima u farmaceutskom lancu snabdevanja”  
**Mentor:** prof.dr Valentina Marinković, rad odbranjen 12.06.2018.
- 5) **Kandidat:** Tanasković Sladana  
**Naziv teme:** „Obrazovanje i profesionalni razvoj farmaceuta u savremenom tržištu kadrova”  
**Mentor:** prof.dr Ljiljana Tasić, rad odbranjen 12.07.2018.

- 6) **Kandidat:** Pešić Milica  
**Naziv teme:** „Analiza potrošnje lekova u terapiji multiple skleroze za period od 2008. do 2017. godine“  
**Mentor:** prof.dr Dušanka Krajnović, rad odbranjen 28.08.2018.
- 7) **Kandidat:** Marković Marina  
**Naziv teme:** „Digitalni marketing u prevenciji dijabetesa – iskustva u svetu i kod nas“  
**Mentor:** prof.dr Ljiljana Tasić, rad odbranjen 28.08.2018.
- 8) **Kandidat:** Lekovac Bojana  
**Naziv teme:** „Analiza nacionalnih strategija za retke bolesti u zemljama Zapadnog Balkana“  
**Mentor:** prof.dr Dušanka Krajnović, rad odbranjen 30.08.2018.
- 9) **Kandidat:** Obradović Miloš  
**Naziv teme:** „Situaciona analiza apotekarske delatnosti u državnom sektoru u Republici Srbiji- studija slučaja ZU Apoteka Kruševac“  
**Mentor:** prof.dr Dušanka Krajnović, rad odbranjen 30.08.2018.
- 10) **Kandidat:** Dragičević Nina  
**Naziv teme:** „Uporedna analiza regulative za apotekarsku delatnost u Srbiji i zemljama Evrope“  
**Mentor:** prof.dr Dušanka Krajnović, rad odbranjen 03.09.2018.
- 11) **Kandidat:** Mihojević Milan  
**Naziv teme:** „Upravljanje zalihamama od strane distributera u farmaceutskom poslovanju“  
**Mentor:** prof.dr Valentina Marinković, rad odbranjen 18.09.2018.
- 12) **Kandidat:** Vesković Nenad  
**Naziv teme:** „Analiza tržišta kombinovanih analgetika u Republici Srbiji u periodu od 2007. do 2016“  
**Mentor:** doc.dr Marina Odalović, rad odbranjen 28.09.2018.

- 13) **Kandidat:** Kolundžić Svetlana  
**Naziv teme:** „Analiza tržišta oralnih i dermalnih proizvoda za lečenje bolesti vena u Republici Srbiji-predlog marketing strategija za pozicioniranje novog proizvoda na tržištu”  
**Mentor:** doc.dr Marina Odalović, rad odbranjen 28.09.2018.
- 14) **Kandidat:** Cvetojević Jelena  
**Naziv teme:** „ Komunikacioni kanali u farmaceutskom marketingu-iskustva, prakse južne i jugoistočne Srbije”  
**Mentor:** prof.dr Ljiljana Tasić, rad odbranjen 30.09.2018.
- 15) **Kandidat:** Đurić Petar  
**Naziv teme:** „ Analiza tržišta monoklonskih antitela koja se koriste u terapiji na teritoriji Srbije”  
**Mentor:** prof.dr Valentina Marinković, rad odbranjen 30.09.2018.
- 16) **Kandidat:** Kovačević Milica  
**Naziv teme:** „Postupak uvođenja serijalizacije lekova kao alata proizvođača u borbi protiv falsifikovanih lekova”  
**Mentor:** prof.dr Dušanka Krajnović, rad odbranjen 25.09.2018.
- 17) **Kandidat:** Mladenović Ana  
**Naziv teme:** „Finansijski menadžment u farmaceutskom poslovanju-studije slučaja”  
**Mentor:** prof.dr Ljiljana Tasić, rad odbranjen 19.11.2018.
- 18) **Kandidat:** Stanimirović Milutin  
**Naziv teme:** „Primena digitalnog marketinga na primeru Instituta za proučvanje lekovitog bilja „Dr Josif Pančić”  
**Mentor:** prof.dr Ivana Tadić, rad odbranjen 21.11.2018.
- 19) **Kandidat:** Novaković Danijela  
**Naziv teme:** „Analiza farmaceutskih usluga-studija preseka i komparacija 2018. i 2013. godine”  
**Mentor:** prof.dr Ivana Tadić, rad odbranjen 30.11.2018.

### **3. Farmakoekonomija i farmaceutska legislativa**

Na specijalističkim akademskim studijama, modul: Farmakoekonomija i farmaceutska legislativa, ukupno je odbranjeno 18 specijalističkih radova:

- 1) **Kandidat:** Sparić Andrijana  
**Naziv teme:** „Prednosti i nedostaci implementacije elektronskih recepata na teritoriji grada Beograda”  
**Mentor:** prof.dr Nataša Bogavac-Stanojević, rad odbranjen 13.04.2018.
- 2) **Kandidat:** Mosković Sanja  
**Naziv teme:** „ Prednosti i nedostaci implementacije elektronskih recepata na teritoriji grada Beograda”  
**Mentor:** prof.dr Nataša Bogavac-Stanojević, rad odbranjen 13.04.2018.
- 3) **Kandidat:** Bošković Milka  
**Naziv teme:** „Poboljšanje rada apoteke i kvaliteta pružene usluge nakon uvođenja elektronskih recepata”  
**Mentor:** prof.dr Nataša Bogavac-Stanojević, rad odbranjen 12.06.2018.
- 4) **Kandidat:** Lončar Aleksandra  
**Naziv teme:** „Poboljšanje rada apoteke i kvaliteta pružene usluge nakon uvođenja elektronskih recepata”  
**Mentor:** prof.dr Nataša Bogavac-Stanojević, rad odbranjen 12.06.2018.
- 5) **Kandidat:** Savić Vida  
**Naziv teme:** „Regulatorni okvir farmakovigilance u Srbiji sa osrvtom na GVP u EU ”  
**Mentor:** doc.dr Dragana Lakić, rad odbranjen 25.02.2018.
- 6) **Kandidat:** Rosić Kristina  
**Naziv teme:** „Poređenje Euro QALY 5D TTO i BAC kalkulatora za procenu zdravstvenog stanja pacijenata sa dijabetesom tip 2”  
**Mentor:** prof.dr Nataša Bogavac-Stanojević, rad odbranjen 30.06.2018.

- 7) **Kandidat:** Jovanović Jovana  
**Naziv teme:** „Farmakoekonomska analiza ekonomске opravdanosti stavljanja lekova Solofalk granule i Budenofalk pena na listu lekova u Republici Srbiji”  
**Mentor:** prof.dr Nataša Bogavac-Stanojević, rad odbranjen 23.08.2018.
- 8) **Kandidat:** Vukotić Ana  
**Naziv teme:** „Regulatorni aspekti uvoza neregistrovanih lekova i programi rane dostupnosti lekova u Republici Srbiji”  
**Mentor:** prof.dr Nataša Bogavac-Stanojević, rad odbranjen 18.09.2018.
- 9) **Kandidat:** Stojković Jelena  
**Naziv teme:** „Regulatorni aspekti uvoza neregistrovanih lekova i programi rane dostupnosti lekova u Republici Srbiji”  
**Mentor:** prof.dr Nataša Bogavac-Stanojević, rad odbranjen 18.09.2018.
- 10) **Kandidat:** Janjanin Romana  
**Naziv teme:** „Dobra apotekarska praksa u uslovima misija Lekara bez granica (Medicins sans frontieres): Studija slučaja u Srbiji”  
**Mentor:** prof.dr Dušanka Krajnović, rad odbranjen 25.09.2018.
- 11) **Kandidat:** Stojimirović Jelena  
**Naziv teme:** „Uključivanje inovativnih lekova na Listu lekova u Crnoj Gori i poređenje sa regulativom u zemljama Evropske unije”  
**Mentor:** prof.dr Nataša Bogavac-Stanojević, rad odbranjen 25.09.2018.
- 12) **Kandidat:** Marušić Lazić Jelena  
**Naziv teme:** „Uključivanje inovativnih lekova na Listu lekova u Crnoj Gori i poređenje sa regulativom u zemljama Evropske unije”  
**Mentor:** prof.dr Nataša Bogavac-Stanojević, rad odbranjen 25.09.2018.
- 13) **Kandidat:** Šukilović Branka  
**Naziv teme:** „Procena kvaliteta usluge i značaja uvođenja odvojenog prostora za savetovanje u apoteku”  
**Mentor:** prof.dr Nataša Bogavac-Stanojević , rad odbranjen 25.09.2018.

- 14) **Kandidat:** Milinković Milica  
**Naziv teme:** „ Procena kvaliteta usluge i značaja uvođenja odvojenog prostora za savetovanje u apoteku”  
**Mentor:** prof.dr Nataša Bogavac-Stanojević , rad odbranjen 25.09.2018.
- 15) **Kandidat:** Stević Ivana  
**Naziv teme:** „Analiza upotrebe lekova na osnovu prometa lekova za humanu upotrebu u Republici Srbiji u periodu od 10 godina (2008-2017. godine)”  
**Mentor:** prof.dr Dragana Lakić, rad odbranjen 30.09.2018.
- 16) **Kandidat:** Traljić Tamara  
**Naziv teme:** „Potrošnja antihipertenzivnih lekova u poslednje tri godine na teritoriji grada Beograda”  
**Mentor:** prof.dr Guenka Petrova , rad odbranjen 02.02.2018.
- 17) **Kandidat:** Rastoder Sanda  
**Naziv teme:** „Farmakoekonomska analiza potrošnje ljekova iz grupe antineoplastika sa osvrtom na ljekove koji se odobravaju preko Komisije za ljekove Fonda za zdravstveno osiguranje Crne Gore”  
**Mentor:** prof.dr Dragana Lakić , rad odbranjen 14.12.2018.
- 18) **Kandidat:** Timotijević Milica  
**Naziv teme:** „Farmakoekonomska analiza potrošnje ljekova iz grupe antineoplastika sa osvrtom na ljekove koji se odobravaju preko Komisije za ljekove Fonda za zdravstveno osiguranje Crne Gore”  
**Mentor :** prof.dr Dragana Lakić , rad odbranjen 14.12.2018.

#### **4. Kozmetologija**

Na specijalističkim akademskim studijama, modul: Kozmetologija ukupno je odbranjeno 7 specijalističkih radova:

- 1) **Kandidat:** Paunović Jelica  
**Naziv teme:** „Dosije sa informacijama o lekovima: Osvrt na bliže zahteve”  
**Mentor:** prof.dr Snežana Savić, rad odbranjen 26.02.2018.

- 2) **Kandidat:** Milekić Milica  
**Naziv teme:** „Proteini u kozmetičkim proizvodima za kosu: osobine i efekti”  
**Mentor:** prof.dr Marija Primorac, rad odbranjen 28.08.2018.
- 3) **Kandidat:** Mitić Maja  
**Naziv teme:** „Savremene tendencije u formulaciji šampona za kosu”  
**Mentor:** prof.dr Marija Primorac, rad odbranjen 30.08.2018.
- 4) **Kandidat:** Asentić-Predojević Bojana  
**Naziv teme:** „Primena uree u kozmetičkim i dermokozmetičkim proizvodima – savremeni stavovi”  
**Mentor:** prof.dr Jela Milić, rad odbranjen 30.08.2018.
- 5) **Kandidat:** Stolić Danica  
**Naziv teme:** „Razvoj nove kozmetičke linije/brenda: teorijski i praktičan pristup”  
**Mentor:** prof.dr Snežana Savić, rad odbranjen 28.09.2018.
- 6) **Kandidat:** Pantelić Ivana  
**Naziv teme:** „Kozmetički materijali koji obrazuju-film uloga u proizvodu i efekti na koži”  
**Mentor:** prof.dr Gordana Vučeta, rad odbranjen 30.04.2018.
- 7) **Kandidat:** Radenković Sandra  
**Naziv teme:** „Savremeno tumačenje hidrolipidnog filma na koži: pristup formulaciji dermokozmetičkih proizvoda za održavanje pH kože”  
**Mentor:** prof.dr Snežana Savić, rad odbranjen 24.12.2018.

## **5. Puštanje leka u promet**

6 kandidata je završilo specijalističke akademske studije izradom projektnog zadatka

Solujić Mara  
Bumbić Jelena  
Stanković Dragana

Stojiljković Snežana  
Miljković Tatjana  
Kuzmanović Zorica

## **6. Biološki lekovi**

Na specijalističkim akademskim studijama Biološki lekovi ukupno je odbranjeno 14 specijalističkih radova:

- 1) **Kandidat:** Pribićević Jelena  
**Naziv teme:** „Bezbednosni profil biosimilara”  
**Mentor:** prof.dr Nevena Arsenović-Ranin, rad odbranjen 09.02.2018.
- 2) **Kandidat:** Kovačević Draginja  
**Naziv teme:** „Anti-AgE monoklonska antitela u terapiji alergijske astme”  
**Mentor:** prof.dr Nevena Arsenović-Ranin, rad odbranjen 07.05.2018.
- 3) **Kandidat:** Cvijetinović Andrijana  
**Naziv teme:** „Blokada kontrolnih tačaka u terapiji tumora”  
**Mentor:** prof.dr Nevena Arsenović-Ranin, rad odbranjen 03.07.2018.
- 4) **Kandidat:** Bundalo Dragana  
**Naziv teme:** „Primena konjugata antitela i leka u terapiji malignih oboljenja”  
**Mentor:** prof.dr Zorica Stojić Vukanić, rad odbranjen 06.07.2018.
- 5) **Kandidat:** Goranović Neda  
**Naziv teme:** „Prikaz nove metode za dobijanje rekombinantne humane alfa-galaktozidaze A za terapiju Fabrijeve bolesti”  
**Mentor:** prof.dr Zorica Stojić Vukanić, rad odbranjen 19.07.2018.
- 6) **Kandidat:** Miloradović Biljana  
**Naziv teme:** „Osobine difterijskog toksina i njegova primena u proizvodnji vakcine protiv difterije”  
**Mentor:** prof.dr Zorica Stojić Vukanić, rad odbranjen 23.07.2018.
- 7) **Kandidat:** Dragačević Luka  
**Naziv teme:** „Validacija procesa splitovanja sezonske, inaktivne vakcine protiv gripe”  
**Mentor:** prof.dr Nevena Arsenović-Ranin, rad odbranjen 26.09.2018.

- 8) **Kandidat:** Pavlović Nevena  
**Naziv teme:** „Proteinski nosači u konjugovanim vakcinama”  
**Mentor:** prof.dr Nevena Arsenović-Ranin, rad odbranjen 26.09.2018.
- 9) **Kandidat:** Novaković Vladimir  
**Naziv teme:** „Primena monoklonskih antitela protiv CTLA-4 PD-1 i PD-L1 u terapiji tumora”  
**Mentor:** prof.dr Nevena Arsenović-Ranin, rad odbranjen 26.09.2018.
- 10) **Kandidat:** Kocić Jelena  
**Naziv teme:** „Anti – VEGF terapija neovaskularne senilne makularne degeneracije”  
**Mentor:** prof.dr Nevena Arsenović-Ranin, rad odbranjen 30.09.2018.
- 11) **Kandidat:** Gobeljić Borko  
**Naziv teme:** „Primena defibrodata u lečenju venookluzivne bolesti jetre kod dece u Srbiji: iskustvo Instituta za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić”  
**Mentor:** prof.dr Zorica Stojić Vukanić, rad odbranjen 30.09.2018.
- 12) **Kandidat:** Bufan Biljana  
**Naziv teme:** „Biološki lekovi koji inhibiraju faktor nekroze tumora alfa i mehanizmi njihovog delovanja”  
**Mentor:** prof.dr Zorica Stojić Vukanić, rad odbranjen 30.09.2018.
- 13) **Kandidat:** Radunović Vesna  
**Naziv teme:** „Terapijska primena anti-CD20 monoklonskih antitela”  
**Mentor:** prof.dr Nevena Arsenović-Ranin, rad odbranjen 03.11.2018.
- 14) **Kandidat:** Lišanin Aleksandra  
**Naziv teme:** „Mehanizmi delovanja anti-TNF terapije u inflamatornim bolestima creva”  
**Mentor:** prof.dr Zorica Stojić Vukanić, rad odbranjen 28.11.2018.

## **7. Farmakoterapija u farmaceutskoj praksi**

14 kandidata je završilo specijalističke akademske studije:

Kardum Dunja

Petrović Olivera

Zeković Biljana

Božić Iris

Mitrović Jelena

Ljubisavljević Sanja

Katić Branka

Konjević Jelena

Nešić Marija

Bešlagić Tijana

Majstorović Ivana

Radović Nikola

Ivić Ognjenka

Grabež Jelena

## **8. Biohemijska dijagnostika**

Na specijalističkim akademskim studijama Biohemijska dijagnostika odbranjeno je 6 specijalističkih radova:

1) **Kandidat:** Stefanović Jelena

**Naziv teme:** „Značaj primene PCR tehnike u dijagnostici genskih polimorfizama u trombofilijama”

**Mentor:** prof.dr Vesna Kalimanovska-Spasojević, rad odbranjen 08.02.2018.

2) **Kandidat:** Šćelović Ivana

**Naziv teme:** „Dijagnostički i prognostički značaj biohemijskih markera u akutnom pankreatitisu”

**Mentor:** prof.dr Vesna Kalimanovska-Spasojević, rad odbranjen 14.09.2018.

3) **Kandidat:** Stojanović Jelena

**Naziv teme:** „Metode određivanja genske ekspresije u mononuklearnim ćelijama periferne krvi”

**Mentor:** prof.dr Vesna Kalimanovska-Spasojević, rad odbranjen 29.05.2018.

4) **Kandidat:** Petković Milica

**Naziv teme:** „Laboratorijsko praćenje biološke terapije u reumatskim i inflamatornim bolestima creva”

**Mentor:** prof.dr Aleksandra Topić, rad odbranjen 28.09.2018.

- 5) **Kandidat:** Cvijanović Tijana  
**Naziv teme:** „Biohemijska dijagnostika deficijencije cinka”  
**Mentor:** prof.dr Vesna Kalimanovska-Spasojević, rad odbranjen 24.09.2018.
- 6) **Kandidat:** Vranić Dragana  
**Naziv teme:** „Uticaj primene četvorokomponentnog antioksidativnog suplementa na lipidni i oksidativno-stresni status kod pacijenata sa dijabetes melitusom tipa 2”  
**Mentor:** prof.dr Vesna Kalimanovska-Spasojević, rad odbranjen 30.09.2018.

## **9. Farmaceutska zdravstvena zaštita**

17 kandidata je završilo specijalističke akademske studije:

Tasić Sanja	Vojinović Milica
Marković Milena	Pantić Ivana
Maksimović Jelena	Bogdanović Nemanja
Mihailović Ivana	Ćirović Tijana
Ćalić Anja	Graovac Ana
Medan Tijana	Jovanović Bojana
Jovanović Jovana	Lakićević Bojana
Janković Dušica	Lujinović Senka
Perković Iva	

**Spisak odbranjenih doktorskih disertacija na Farmaceutskom fakultetu  
Univerziteta u Beogradu 2018. godine**

U toku 2018. godine odbranjeno je 20 doktorskih disertacija (po programu 2006 i 2008) iz sledećih oblasti:

**1. Doktorske akademske studije – modul Farmaceutska hemija**

1) **Kandidat: Tubić Biljana**

**Naziv teme:** „Derivati etilendiamin-N,N'-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline sa potencijalnim citotoksičnim dejstvom – In silico/in vitro fizičko-hemijska i ADME karakterizacija”

**Mentor:** prof. dr Bojan Marković, rad odbranjen 09.03.2018.

2) **Kandidat: Gagić Žarko**

**Naziv teme:** „Određivanje strukture farmakofore, dizajn, sinteza i ispitivanje antiproliferativne aktivnosti derivata  $\alpha$ -tokoferola i  $\gamma$ -tokotrienola”

**Mentor:** prof. dr Katarina Nikolić, rad odbranjen 13.04.2018.

3) **Kandidat: Maksić Jelena**

**Naziv teme:** „Karakterizacija sistema tečne hromatografije hidrofilnih interakcija sa UV i MS/MS detekcijom u analitici i bioanalitici olopatadina”

**Mentor:** prof. dr Biljana Stojanović i prof. dr Miroslav Knežević, rad odbranjen 20.07.2018.

**2. Doktorske akademske studije – modul Farmaceutska mikrobiologija**

1) **Kandidat: Damjanović Ana**

**Naziv teme:** „In vitro ispitivanje antitumorske i antimikrobne aktivnosti ekstrakata mahonije, *Mahonia aquifolium* (Pursh) Nutt”

**Mentor:** prof. dr Jelena Antić Stanković i prof. dr Tatjana Stanojković, rad odbranjen 04.04.2018.

- 2) **Kandidat: Dinić Miroslav**  
**Naziv teme:** „Uticaj bioaktivnih molekula laktobacila na procese autofagije i inflamacije u in vitro i in vivo sistemima.”  
**Mentor:** prof. dr Marina Milenković i dr sc. Jovanka Lukić, rad odbranjen 04.04.2018.
- 3) **Kandidat: Srbiljanović Jelena**  
**Naziv teme:** „Ispitivanje antimalarialskog potencijala novosintetisanih aminohinolina u in vitro i in vivo sistemima”  
**Mentor:** prof. dr Marina Milenković i dr sc. Olgica Đurković-Đaković, rad odbranjen 10.10.2018.
- 3. Doktorske akademske studije – modul Medicinska biohemija**
- 1) **Kandidat: Bačković Dragana**  
**Naziv teme:** „Uticaj CYP2C19\*2 varijante gena na terapijski odgovor u toku primene klopidogrela kod bolesnika sa stenozom karotidnih arterija”  
**Mentor:** prof.dr Svetlana Ignjatović, rad odbranjen 09.02.2018.
- 2) **Kandidat: Munjas Jelena**  
**Naziv teme:** „Određivanje nivoa genske ekspresije rezistina i receptora za rezistin i koncentracije rezistina u krvi pacijenata sa ishemijskom bolesti srca”  
**Mentor:** prof.dr Vesna Spasojević Kalimanovska, rad odbranjen 28.03.2018.
- 3) **Kandidat: Antunović Tanja**  
**Naziv teme:** „Boihemijski parametri oksidativnog, nutritivnog i inflamatornog statusa u predikciji mortaliteta kod pacijenata na hemodializi”  
**Mentor:** prof.dr Marina Stojanov, rad odbranjen 25.05.2018.
- 4) **Kandidat: Perović Blagojević Iva**  
**Naziv teme:** „Uticaj redoks disbalansa i inflamacije na aktivnost enzima paraoksonaze 1 i njegovu distribuciju na lipoproteinima visoke gustine u sindromu policističnih jajnika-efekat na kardiovaskularni rizik”  
**Mentor:** prof.dr Svetlana Ignjatović i prof.dr Jelena Kotur Stevuljević, rad odbranjen 27.09.2018.

- 5) **Kandidat: Malić Živka**  
**Naziv teme:** „Faktori rizika za nastanak i razvoj hronične opstruktivne bolesti pluća povezani sa oksidativnim stresom u populaciji Srbije”  
**Mentor:** prof.dr Aleksandra Topić i prof.dr Đorđe Francuski, rad odbranjen 27.09.2018.

- 6) **Kandidat: Miljković Milica**  
**Naziv teme:** „Oksidativno-stresni status u krvi i lipoproteinskim frakcijama pacijenata sa hroničnom bolešću bubrega”  
**Mentor:** prof.dr Jelena Kotur Stevuljević, rad odbranjen 30.09.2018.

- 7) **Kandidat: Gojković Tamara**  
**Naziv teme:** „Značaj određivanja markera sinteze i apsorpcije holesterola kod zdravih ispitanika i pacijenata sa ishemijskom bolešću srca”  
**Mentor:** prof.dr Zorana Jelić-Ivanović, rad odbranjen 25.12.2018.

#### **4. Doktorske akademske studije – modul Bromatologija**

- 1) **Kandidat: Todorović Vanja**  
**Naziv teme:** „Ispitivanje antioksidativnog i antimikrobnog potencijala kakao praha i njegovog uticaja na ponašanje miševa nakon kratkotrajne i dugotrajne suplementacije”  
**Mentor:** prof.dr Slađana Šobajić, rad odbranjen 26.09.2018.

#### **5. Doktorske akademske studije – modul Farmakologija**

- 1) **Kandidat: Pavlović Bojan**  
**Naziv teme:** „Sazrevanje i funkcija humanih dendritskih ćelija dobijenih od monocita skraćenjem vremena diferencijacije”  
**Mentor:** prof.dr Zorica Stojić Vukanić i prof.dr Sergej Tomić, rad odbranjen 21.09.2018.

## **6. Doktorske akademske studije – modul Socijalna farmacija i istraživanje farmaceutske prakse**

### **1) Kandidat: Zeković Milica**

**Naziv teme:** „Validacija upitnika za procenu dijetarnog unosa folata i analiza znanja, stavova i prakse farmaceutskog tima u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu ovog nutrijenta”

**Mentor:** prof.dr Dušanka Krajnović i dr sc. Mirjana Gurinović, rad odbranjen 13.06.2018.

### **2) Kandidat: Stojković Tatjana**

**Naziv teme:** „Prospektivna sistemska analiza rizika u procesu izdavanja lekova u javnoj apoteci – perspektiva unapređenja kvaliteta usluga i bezbednosti pacijenata”

**Mentor:** prof.dr Valentina Marinković, rad odbranjen 06.07.2018.

### **3) Kandidat: Crnjanski Tatjana**

**Naziv teme:** „Razvoj i primena instrumenata za procenu učestalosti i stepena težine etičkih pitanja koja se javljaju u farmaceutskoj praksi javnih apoteka u Srbiji”

**Mentor:** prof.dr Dušanka Krajnović, rad odbranjen 13.07.2018.

## **7. Doktorske akademske studije – modul Analitika lekova**

### **1) Kandidat: Čolović Jelena**

**Naziv teme:** „Modelovanje uticaja molekulske strukture i parametara hromatografskog sistema na ponašanje analita u haotropnoj hromatografiji”

**Mentor:** prof.dr Anđelija Malenović, rad odbranjen 29.09.2018.

## **8. Doktorske akademske studije – Farmakognozija**

### **1) Kandidat: Samardžić Stevan**

**Naziv teme:** „Uporedno hemijsko i farmakološko ispitivanje liofilizovanih infuzi cvasti predstavnika roda Filipendula Miller u Srbiji”

**Mentor:** prof.dr Zoran Maksimović, rad odbranjen 15.10.2018.

**Spisak specijalista kojima je dodeljeno zvanje primarijus u 2018. godini**

- 1) **Dipl. farm Danijela Bartolović**, specijalista medicinske biohemije