



UNIVERZITET U BANJOJ LUCI
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET



mr Pero Sailović

**UTICAJ HEMIJSKE STRUKTURE ANTIBIOTIKA I
ANALGETIKA NA DOBIJANJE BIOLOŠKI AKTIVNIH
VLAKANA NA BAZI CELULOZE**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Banja Luka, 2018.



UNIVERSITY OF BANJA LUKA
FACULTY OF NATURAL SCIENCES AND
MATHEMATICS



Pero Sailovic, M.Sc.

**THE INFLUENCE OF THE CHEMICAL STRUCTURE
OF ANTIBIOTICS AND ANALGESICS ON
OBTAINING BIOLOGICALLY ACTIVE FIBERS
BASED ON CELLULOSE**

DOCTORAL THESIS

Banja Luka, 2018.

Mentori

Prof. dr Branka Rodić Grabovac, vanredni profesor, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci

Prof. dr Snežana Uletilović, redovni profesor, Medicinski fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci

Naslov doktorske disertacije

Uticaj hemijske strukture antibiotika i analgetika na dobijanje biološki aktivnih vlakana na bazi celuloze

Rezime

Pored klasične primjene u medicinske svrhe celulozni materijali se i modifikuju uvođenjem poželjnih funkcionalnih grupa, sa ciljem dobijanja biološki aktivnih materijala.

U ovom radu se ispituje uticaj strukture antibiotika cefuroksima i cefotaksima, i analgetika diklofenaka i tramadola na dobijanje biološki aktivnog vlakna u formi zavoja. Kao polimerni nosač za antibiotike i analgetike korištena je oksidovana celuloza dobijena selektivnom oksidacijom hidroksilnih grupa pamučnog zavoja smjesom $\text{HNO}_3/\text{H}_3\text{PO}_4/\text{NaNO}_2$ na temperaturi $25 \pm 1^\circ\text{C}$, u trajanju od 5, 10 i 20 h. Na taj način su uvedene karboksilne grupe u položaju C6 glukočnih jedinica celuloze.

U radu su ispitane mehaničke, sorpcione, kristalografske i morfološke osobine dobijenih uzoraka oksidovane celuloze i njihov uticaj na vezivanje antibiotika i analgetika.

Sorpcija lijekova je vršena na uzorcima oksidovane celuloze iz vodenih rastvora lijekova, koncentracija $c = 1,7 \cdot 10^{-3}$, $2,5 \cdot 10^{-3}$, $3,4 \cdot 10^{-3}$, $4,3 \cdot 10^{-3}$ i $5,1 \cdot 10^{-3}$ mol/L, na temperaturama od 25 ± 1 do $26 \pm 1^\circ\text{C}$, dok je desorpcija vršena u fiziološkom rastvoru (0,95% rastvor NaCl).

Obzirom da se lijekovi razlikuju po strukturi, i to u položajima preko kojih je moguće njihovo vezivanje na oksidovanu celulozu, ispitan je tip nastalih veza vlakno-lijek i optimalni uslovi iscrpljenja lijeka tokom sorpcije. Takođe je ispitana mogućnost aktiviranja oksidovane celuloze vezivanjem Na^+ katjona sa ciljem efikasnijeg vezivanja lijekova.

Kinetika vezivanja i otpuštanja aktivnih supstanci praćena je

spektrofotometrijski u UV području na talasnim dužinama karakterističnim za svaki od korištenih lijekova.

Na osnovu kinetike vezivanja i otpuštanja i na osnovu FTIR spektara utvrđen je način vezivanja lijekova na oksidovanu celulozu.

Antimikrobno djelovanje oksidovanog celuloznog vlakna sa vezanim antibioticima, kao i stabilnost veze modifikovanog vlakna i antibiotika, testirani su metodom difuzije na agarnoj ploči u odnosu na mikroorganizme *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* i *Bacillus cereus*. Svi uzorci su pokazali produženo antimikrobno djelovanje i nakon 48 sati.

Ključne riječi

Oksidovana celuloza, OC, sorpcija lijekova, hemizam vezivanja lijekova, biološki aktivna celulozna vlakna

Naučna oblast

Prirodne nauke

Naučno polje

Organska hemija

Klasifikaciona oznaka

P390

Tip odabrane licence

CC BY-NC-ND

Kreativne zajednice

Mentors	Branka Rodic Grabovac, PhD, Associate Professor, University of Banja Luka, Faculty of Technology Snezana Uletilovic, PhD, Full professor, University of Banja Luka, Faculty of Medicine
Title of doctoral thesis	The influence of the chemical structure of antibiotics and analgesics on obtaining biologically active fibers based on cellulose
Summary	In addition to traditional medical application, cellulose-based materials are modified by introducing desirable functional groups in order to obtain biologically active materials. This paper deals with the influence of the structure of antibiotics cefuroxime and cefotaxime and analgesics diclofenac and tramadol on the ability to obtain biologically active cellulose-based fibers in the form of a bandage. Oxidized cellulose, obtained through the process of selective oxidation of hydroxyl groups of cotton bandage with the mixture $\text{HNO}_3/\text{H}_3\text{PO}_4/\text{NaNO}_2$ at the temperature of $25 \pm 1^\circ\text{C}$, for a period of 5, 10 and 20 h, was used as a polymer carrier. In this way carboxyl groups were introduced in C6 position of cellulose glucose units. In the paper, mechanical, sorption, crystallographic and morphological characteristics of the obtained samples oxidized cellulose and their impact on binding antibiotics and analgesics were investigated. Sorption of drugs was conducted on samples of oxidized cellulose obtained from the aqueous drug solutions, whose concentration was $c = 1,7 \cdot 10^{-3}$, $2,5 \cdot 10^{-3}$, $3,4 \cdot 10^{-3}$, $4,3 \cdot 10^{-3}$ and $5,1 \cdot 10^{-3}$ mol/L, at the temperature of 25 ± 1 to $26 \pm 1^\circ\text{C}$, while desorption was performed in physiological saline (0,95 % NaCl solution). Since the drugs are different considering their structure, and the

positions that enable them to be bound on the oxidized cellulose, the type of obtained fiber-drug connection was examined, as well as the optimal conditions under which the drug is used during sorption. The possibility of activating oxidized cellulose through binding of Na^+ cation was also investigated with aim bonding drugs more efficient.

Kinetics of binding and releasing of active substances was observed by UV spectrophotometer at the wave length characteristic for each drug used.

On the basis of binding and releasing kinetics and FTIR spectrum it was determined the way of binding the drugs to the oxidized cellulose.

Antimicrobial effects of the oxidized cellulose fiber with the bound antibiotics, including the stability of the connection between modified fiber and antibiotic, were tested by using diffusion method on agar plate against the following microorganisms *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. All samples showed prolonged antimicrobial effects even after 48h.

Key words

Oxidized cellulose, OC, drugs sorption, chemism of binding drugs, biologically active fibers

Scientific discipline

Natural sciences

Scientific field

Organic chemistry

Classification code

P390

Type of selected license

Creative commons

CC BY-NC-ND

Ova doktorska disertacija rađena je u laboratorijama Tehnološkog fakulteta u Banjoj Luci i na Prirodno-matematičkom fakultetu u Novom Sadu.

Zahvaljujem mentoru prof. dr Branki Rodić Grabovac na predloženoj temi, dragocjenoj pomoći, stručnoj i prijateljskoj saradnji, kao i na strpljenju i vremenu posvećenom mom naučnoistraživačkom radu, kao i drugom mentoru prof. dr Snežani Uletilović, koja je podsticajima i nabavkom lijekova dala veliki doprinos pri izradi ove doktorske disertacije.

Zahvaljujem se prof dr. Ljiljani Topalić Trivunović kao i doc. dr Aleksandru Saviću na svesrdnoj pomoći pri izvođenju mikrobioloških analiza. Zahvaljujem se i prof. dr Iliji Brčeskom na dragocenim savjetima i nabavci potrebnog lijeka kao i kolegici Sanji Polik na pomoći prilikom eksperimentalnog rada.

Najveću zahvalnost dugujem svojoj porodici na bezuslovnoj podršci i velikom razumjevanju tokom rada na doktorskoj disertaciji.

LISTA SKRAĆENICA

ATC klasifikacija – (eng. *anatomical therapeutic chemical classification*) anatomsko terapijsko hemijska klasifikacija

COX - (engl. *Cyclooxygenase*) ciklooksigenaza

CFU – (eng. *Colony-forming unit*) broj jedinica koje formiraju koloniju

DI – djelimična inhibicija

DP – (eng. *degree of polymerisation*) stepen polimerizacije

FTIR – (eng. *Fourier transform infrared spectroscopy*) infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom

HA – hranljivi agar

HB – hranljivi bujon

MCC – (eng. *microcrystalline cellulose*) mikrokristalna celuloza

MHA – Miler hinton agar

MHB - Miler hinton bujon

NSAIL – nesteroidni antinflamatorni i antireumatski lijekovi

OC – oksidovana celuloza

ORC - oksidovana regenerisana celuloza

OP – opioidni receptori

PBP – (eng. *penicillin binding proteins*) penicilin vezujući proteini

SEM – skenirajuća elektronska mikroskopija

SMCC - (eng. *silicified microcrystalline cellulose*) silifikovana mikrokristalna celuloza

UV – (eng. *ultraviolet*) ultraljubičasto

UV-VIS - (eng. *ultraviolet -visible*) ultraljubičasto-vidljivo

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	4
2. 1.BIOLOŠKI AKTIVNI SISTEMI.....	5
2.1.1. BIOLOŠKI AKTIVNA VLAKNA KAO NOSAČI LJEKOVITIH SUPSTANCI...5	
2.1.1.1. Antimikrobna vlakna	8
2.1.1.2. Analgetska vlakna.....	9
2.1.2. MEHANIZAM KONTROLISANOG OTPUŠTANJA	10
2.2. CELULOZA	11
2.2.1. STRUKTURA CELULOZE	11
2.2.1.1. Molekulska struktura	11
2.2.1.2. Nadmolekulska struktura	13
2.2.1.3. Morfološka struktura	16
2.2.2. REAKTIVNOST CELULOZE	17
2.2.2.1. Djelovanje oksidacionih sredstava na celulozu	19
2.2.2.2. Oksidacija celuloze smjesom $H_3PO_4/HNO_3/NaNO_2$	22
2.3. CELULOZNI MATERIJALI SA MEDICINSKOM NAMJENOM	25
2.3.1. FARMACEUTSKA I MEDICINSKA PRIMJENA OKSIDOVANE CELULOZE	27
2.4. STRUKTURA I SVOJSTVA ANTIBIOTIKA I ANALGETIKA KORIŠTENIH ZA DOBIJANJE BIOLOŠKI AKTIVNIH VLAKANA	29
2.4.1. CEFALOSPORINSKI ANTIBIOTICI	29
2.4.1.1. Hemijska struktura i mehanizam djelovanja	29
2.4.1.2. Struktura i karakteristike cefuroksima.....	31
2.4.1.3. Struktura i karakteristike cefotaksima	32
2.4.2. ANALGETICI.....	32
2.4.2.1. Struktura i karakteristike diklofenaka.....	33
2.4.2.2. Struktura i karakteristike tramadola	34
3. MATERIJAL I METODE	36
3.1. MATERIJAL	37
3.1.1. PAMUČNI ZAVOJ.....	37
3.1.2. HEMIČALIJE	37

3.1.3. ANTIBIOTICI I ANALGETICI KORIŠTENI ZA DOBIJANJE BIOLOŠKI AKTIVNOG VLAKNA.....	38
3.1.3.1. Cefuroksim	38
3.1.3.2. Cefotaksim.....	38
3.1.3.3. Diklofenak	38
3.1.3.4. Tramadol.....	38
3.1.4. HRANLJIVE PODLOGE I TEST MIKROORGANIZMI	39
3.2. METODE.....	39
3.2.1. OKSIDACIJA CELULOZNOG ZAVOJA.....	39
3.2.2. ODREĐIVANJE SADRŽAJA KARBOKSILNIH GRUPA	40
3.2.3. ODREĐIVANJE SADRŽAJA KARBONILNIH GRUPA	40
3.2.4. ODREĐIVANJE SADRŽAJA ALDEHIDNIH GRUPA	41
3.2.5. ODREĐIVANJE SORPCIJE VLAGE	41
3.2.6. ODREĐIVANJE VRIJEDNOSTI VEZIVANJA VODE	41
3.2.7. ODREĐIVANJE PREKIDNE ČVRSTOĆE CELULOZNOG ZAVOJA.....	42
3.2.8. ODREĐIVANJE JODNOG BROJA I STEPENA KRISTALIČNOSTI.....	42
3.2.9. AKTIVIRANJE CELULOZNOG VLAKNA VEZIVANJEM Na ⁺ KATJONA....	43
3.2.10. SORPCIJA ANTIBIOTIKA I ANALGETIKA NA OKSIDOVANU CELULOZU	43
3.2.11. DESORPCIJA ANTIBIOTIKA I ANALGETIKA SA OKSIDOVANE CELULOZE	44
3.2.12. ODREĐIVANJE SADRŽAJA VEZANIH I OTPUŠTENIH ANTIBIOTIKA I ANALGETIKA SA OKSIDOVANE CELULOZE.....	44
3.2.13. FTIR	44
3.2.14. SEM.....	45
3.2.15. TESTIRANJE ANTIBAKTERIJSKOG DJELOVANJA OKSIDOVANOG CELULOZNOG VLAKNA SA VEZANIM ANTIBIOTICIMA.....	45
3.2.15.1. Određivanje inhibitorne aktivnosti metodom difuzije na agarnoj ploči	45
3.2.15.2. Određivanje stabilnosti veze vlakno-antibiotik	46
4. REZULTATI I DISKUSIJA.....	47
4.1. KARAKTERISRTIKE NEMODIFIKOVANE CELULOZE	48
4.2. KARAKTERISTIKE OKSIDOVANE CELULOZE (OC)	50
4.2.1. SORPCIONE KARAKTERISTIKE OC.....	56

4.3. VEZIVANJE LIJEKOVA NA NEMODIFIKOVANO I OKSIDOVANO CELULOZNO VLAKNO.....	59
4.3.1. SORPCIJA I DESORPCIJA CEFUROKSIMA.....	59
4.3.1.1. Rezultati sorpcije cefuroksima na oksidovano celulozno vlakno.....	59
4.3.1.2. Sorpcija cefuroksima na nemodifikovano celulozno vlakno.....	69
4.3.1.3. Rezultati desorpcije cefuroksima u fiziološkom rastvoru	69
4.3.2. SORPCIJA I DESORPCIJA CEFOTAKSIMA.....	71
4.3.2.1. Rezultati sorpcije cefotaksima na oksidovano celulozno vlakno	71
4.3.2.2. Sorpcija cefotaksima na nemodifikovano celulozno vlakno	83
4.3.2.3. Rezultati desorpcije cefotaksima u fiziološkom rastvoru.....	83
4.3.3. SORPCIJA I DESORPCIJA DIKLOFENAKA.....	85
4.3.3.1. Rezultati sorpcije diklofenaka na oksidovano celulozno vlakno.....	85
4.3.3.2. Sorpcija diklofenaka na nemodifikovano celulozno vlakno.....	95
4.3.3.3. Rezultati desorpcije diklofenaka u fiziološkom rastvoru	95
4.3.4. SORPCIJA I DESORPCIJA TRAMADOLA.....	97
4.3.4.1. Rezultati sorpcije tramadola na oksidovano celulozno vlakno	97
4.3.4.2. Sorpcija tramadola na nemodifikovano celulozno vlakno	108
4.3.4.3. Rezultati desorpcije tramadola u fiziološkom rastvoru	108
4.4. ANTIBAKTERIJSKO DJELOVANJE OKSIDOVANOG CELULOZNOG VLAKNA SA VEZANIM ANTIBIOTICIMA	110
4.4.1. ODREĐIVANJE INHIBITORNE AKTIVNOSTI OKSIDOVANOG CELULOZNOG VLAKNA SA VEZANIM ANTIBIOTICIMA	110
4.4.2. ODREĐIVANJE STABILNOSTI VEZE OKSIDOVANO CELULOZNO VLAKNO-ANTIBIOTIK	116
5. ZAKLJUČCI.....	120
6. LITERATURA	123

1. UVOD

Dizajniranje novih vlakana na području medicinskog tekstila bilježi veliki napredak u posljednje vrijeme. Hemijskim modifikovanjem polimernih vlakana sa ciljem uvođenja pogodnih funkcionalnih grupa sposobnih za fizičko ili hemijsko vezivanje aktivnih preparata sa terapijskim djelovanjem dobijaju se biološki aktivna vlakna.

Ova vlakna kao nosači aktivnih preparata nude brojne prednosti u odnosu na konvencionalne medicinske terapije. Istraživanja u oblasti medicinskih materijala ukazala su na mogućnost dobijanja biološki aktivnih vlakana kombinacijom različitih polimernih nosača i ljekovitih preparata.

Prirodna vlakna imaju složenu višeslojnu strukturu i nude velike mogućnosti u pogledu modifikovanja važnih svojstava vlakna. Karakteriše ih dostupnost i jednostavnost dobijanja, kao i jedinstvena molekularna struktura koja nudi bioaktivni matriks za dizajniranje novih, inteligentnih i biokompatibilnih materijala. Najrasprostranjeniji bioobnovljivi prirodni polimer, celuloza, kao netoksična i nekancerogena materija, predstavlja odličnu polimernu osnovu za dobijanje medicinskog tekstila. Celulozna vlakna odlikuje velika jačina, biokompatibilnost, nerastvorljivost u vodi, hidrofilnost, biodegradabilnost i mogućnost recikliranja.

„Zelena“ hemija i sve veća težnja za korištenjem ekološki prihvatljivih proizvoda, podstiču dalja istraživanja u oblasti hemijskog modifikovanja strukture i novih primjena celuloze.

Celuloza se najčešće modifikuje hemijskim postupcima, među kojima se izdvaja upotreba oksidacionih sredstava. Tokom oksidacije, u zavisnosti od tipa oksidacije i vrste oksidacionog sredstva, u celulozu se uvode karboksilne i karbonilne grupe (aldehidne i keto grupe). Za razliku od neselektivnih reakcija oksidacije, oksidacija smjesom $\text{HNO}_3/\text{H}_3\text{PO}_4/\text{NaNO}_2$ je primjer selektivnog modifikovanja celuloze. Oksidacijom celuloze pomenutom smjesom dolazi do oksidacije primarnih hidroksilnih grupa u karboksilne (i u manjoj mjeri karbonilne grupe) u položaju C6. Na taj način dobijena oksidovana celuloza predstavlja osnovu za dobijanje biološki aktivnih vlakana.

Ova doktorska disertacija predstavlja nastavak istraživanja na Katedri za organsku hemiju Tehnološkog fakulteta u Banjoj Luci na području proučavanja hemijskog modifikovanja vlakana sa ciljem dobijanja tekstila sa terapijskim djelovanjem.

Hipotezom je postavljeno da će se povezivanje strukture antibiotika i analgetika sa mehanizmom i kinetikom sorpcije i desorpcije, dobiti kriterijumi za izbor optimalne strukture za proizvodnju biološki aktivnih vlakana sa analgetskim i antimikrobnim djelovanjem.

U radu se proučava mehanizam i kinetika sorpcije i desorpcije antibiotika i analgetika na modifikovanom celuloznom vlaknu. Takođe, prati se uticaj hemijske strukture i funkcionalnih grupa testiranih lijekova na vezivanje i otpuštanje sa oksidovanog celuloznog vlakna.

Novija istraživanja pokazuju da osobine biološki aktivnih vlakana zavise kako od vrste nosača, tako i od prirode samog lijeka. Međutim, manji broj radova bavi se definisanjem hemijskih interakcija nosač-lijek, uticajem hemijske strukture lijeka i uslova vezivanja na tip interakcije. Stoga je cilj ove doktorske disertacije usmjeren na proučavanje hemijskih interakcija tokom vezivanja antibiotika i analgetika na biološki aktivnom celuloznom vlaknu.

U tu svrhu su određene sorpcione osobine oksidovane celuloze tokom sorpcije antibiotika (cefuroksim, cefotaksim) i analgetika (diklofenak, tramadol). Obzirom da se pomenuti lijekovi razlikuju po strukturi i to u položajima preko kojih je moguće njihovo vezivanje za oksidovani celulozni materijal, izučavani su tipovi nastalih veza vlakno-lijek i optimalni uslovi iscrpljenja lijeka tokom sorpcije. Proučavanjem procesa desorpcije antibiotika vezanih za vlakno u fiziološkom rastvoru utvrđeno je pod kojim uslovima i u kom vremenskom periodu dolazi do kontrolisanog otpuštanja lijeka i kako na proces desorpcije utiču veze formirane između vlakna i antibiotika.

Metodom difuzije na agarnoj ploči testirano je antimikrobno djelovanje uzoraka zavoja sa vezanim antibioticima, kao i stabilnost veze vlakno-antibiotik radi utvrđivanja trajnosti antimikrobnog efekta uzoraka vlakna.

Saznanja dobijena ovim radom su potencijalno primjenjiva na području dizajniranja novih biološki aktivnih vlakana i mogu doprinijeti boljem razumijevanju hemizama u procesu njihovog dobijanja.

2. TEORIJSKI

DIO

2. 1.BIOLOŠKI AKTIVNI SISTEMI

2.1.1. BIOLOŠKI AKTIVNA VLAKNA KAO NOSAČI LJEKOVITIH SUPSTANCI

Prva ispitivanja koja su dovela do pojave biomedicinskih vlakana vršena su na Peterburškom univerzitetu šezdesetih godina XX vijeka. Sa pojavom biomedicinskih vlakana vezuje se pojava pojma biološki aktivnih vlakana (materijala). Ovim ispitivanjima dobijena su biološki aktivna vlakna prve generacije. Istraživanje biološki aktivnih vlakana [1-3] za medicinsku namjenu rezultiralo je velikim brojem otkrića i razvojem druge i treće generacije biološki aktivnih vlakana, te njihovom sve većom primjenom u medicinskim materijalima.

Biološki aktivna vlakna se mogu podijeliti u tri kategorije [4] :

- biološki aktivna vlakna prve generacije, pokazuju mehanička svojstva slična tkivu i biološku inertnost
- biološki aktivna vlakna druge generacije, pokazuju bioaktivnost, odnosno u kontaktu sa tjelesnim tečnostima iniciraju biološki odgovor organizma
- biološki aktivna vlakna treće generacije, pokazuju bioaktivnost i mogućnost resorpcije, odnosno odgovor organizma na molekulskom nivou.

Prema savremenoj definiciji biološki aktivna vlakna predstavljaju vlakna koja pokazuju određenu biološku aktivnost i kompatibilnost sa fiziološkim procesima u organizmu ili ljudskim tkivom i mogu se koristiti u terapijske svrhe [5].

U zavisnosti od vrste terapijskog djelovanja koje se želi ostvariti, strukture i svojstava aktivnog agensa i vlaknastog nosača, za dobijanje biološki aktivnih vlakana koriste se sljedeći postupci:

- hemijsko modifikovanje vlakana, omogućava vezivanje aktivnog preparata hemijskim vezama
- fizičko modifikovanje vlakana, omogućava fiksiranje aktivnog preparata u nadmolekulsku strukturu vlakna
- nanošenje preparata u obliku teško rastvorljivih supstanci na vlakno, uz pomoć polimernih sredstava ili niskomolekularnih posrednika-medijatora, pri čemu se vezivanje ostvaruje bilo kojom vezom.

Najčešće korišteni postupak za dobijanje biološki aktivnih vlakana je hemijsko modifikovanje koje se svodi ili na reakciju kalemljenja kopolimerizacijom, ili na direktnu reakciju aktivne grupe sa ljekovitim preparatom. Nešto manje se koriste postupci fizičkog modifikovanja koji

se ostvaruju uvođenjem ljekovitih preparata u rastvor ili rastop polimernog nosača u toku formiranja vlakana.

Vezivanje aktivnog preparata na modifikovano vlakno se može ostvariti različitim tipovima hemijske veze: kovalentnom, jonskom i koordinativnom, te različitim tipovima hidrofobnih i elektrostatičkih interakcija.

Variranjem karaktera veze vlakana dobijenih hemijskim modifikovanjem sa ljekovitim preparatom primarno se podešava dužina terapijskog djelovanja biološki aktivnih vlakana. Na dužinu djelovanja takođe utiču osobine korištenog vlakna (hidrofilnost, umreženost) i aktivne supstance (lipofilnost, pKa, steričke osobine, veličina molekule) kao i spoljni faktori (koncentracija aktivne supstance, pH, temperatura) [6]. Kod fizički modifikovanih vlakana djelovanje zavisi od hidrofilnosti i degradabilnosti polimera iz kojih su dobijena, kao i od sadržaja ljekovite supstance.

Aktiviranje vlaknaste površine se može vršiti i plazmom, pri čemu se mogu dobiti aktivni centri [7,8], koji služe za vezivanje ljekovitih preparata.

Posebnu oblast biološki aktivnih vlakana čine aktivni sistemi hemijski modifikovano vlakno-ljekoviti preparat [9-11]. Različiti aktivni agensi kao što su analgetici, anestetici, antibiotici, enzimi, antikancerogeni lijekovi, kontraceptivna sredstva mogu biti imobilisani na polimernu matricu [12,13]. Za izradu ovih sistema moguće je koristiti veliki broj različitih polimernih vlakana. Prednost biološki aktivnih vlakana je mogućnost lokalne primjene, sigurno i kontinualno otpuštanje lijeka i duži period korisnog djelovanja [14, 15].

Polimeri u obliku jonoizmjenjivačkih vlakana imaju veliku specifičnu površinu, koja je od 200 do 300 puta veća po jedinici mase nego kod zrnastih polimera iste vrste.

Dijele se na one koji se koriste kao hemijski reagensi-vlakna povećane hemijske aktivnosti, i one koji se koriste u biologiji i medicini-vlakna povećane biološke aktivnosti. Zajedničko za ova vlakna je poboljšanje specifične aktivnosti i postupak njihovog dobijanja.

Polimerna vlakna se mogu dalje dijeliti prema mehanizmu dejstva i području primjene.

Jonoizmjenjivačka polimerna vlakna se prema vrsti suprotno naelektrisanog jona koje se vezuje na vlakno i stepenu disocijacije mogu podijeliti na [16]:

- slabo kisela katjonizmjenjivačka vlakna sa COOH , $\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$ i SH grupama
- jako kisela katjonizmjenjivačka vlakna sa SO_3H i $\text{PO}(\text{OH})_2$ grupama
- jako bazna anjonizmjenjivačka vlakna sa $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}$ i $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ grupama
- amfoterna jonoizmjenjivačka vlakna koja istovremeno sadrže i kisele i bazne grupe
- kompleksni sorbenti baznog ili amfoternog karaktera koji obrazuju kompleksna jedinjenja sa jonima bakra, kadmijuma, kobalta, gvožđa, cinka i dr.

- redoksiti - vlaknasti sorbenti koji sadrže redukcione (oksidacione) grupe i koje se prenosom elektrona pretvaraju u svoj redoksni par kao što su: hidrohinon-hinon, tiol-disulfid i hidropiridin-piridin.

Od svih vrsta hemisorpcionih vlakana za sada se najviše koriste vlakna sa jonoizmjenjivačkim svojstvima. Jonoizmjenjivački mehanizam zasniva se na sposobnosti jonoizmjenjivača da svojim naelektrisanim grupama privuče i veže suprotno naelektrisane grupe drugog molekula. Prednosti jonoizmjenjivačkih polimernih vlakana su brojne. Jonoizmjenjivačke grupe su locirane na površini što olakšava inkorporiranje većih molekula i omogućava brži i efikasniji jonoizmjenjivački proces. Takođe, ova vlakna posjeduju dobru mehaničku i termičku otpornost, hemijsku inertnost i mogućnost postizanja velikog kapaciteta postupkom kalemljenja.

Za njihovo dobijanje kao polazni materijal mogu se koristiti tekstilna vlakna prirodnog porijekla ili sintetska vlakna: vunena, pamučna, lanena, celulozna i celuloznih derivata, polietilenska, polipropilenska, poliamidna i druga [17].

Aktuelna istraživanja biološki aktivnih vlakana se vrše na biodegradabilnim vlaknima, jer sisteme polimer-lijek nakon prestanka djelovanja nije potrebno uklanjati iz organizma [18].

U ovom istraživanju je korišteno selektivno oksidovano celulozno vlakno, koje spada u katjonizmjenjivačka biodegradabilna vlakna sa aktivnim COOH grupama u položaju C-6.

Jonoizmjenjivačka vlakna kao nosači ljekovitih preparata sa kontrolisanim otpuštanjem lijekova razvijaju se na nekoliko mjesta u svijetu [19-23], u našem okruženju [24-26], kao i na katedri za Organsku hemiju Tehnološkog fakulteta u Banjoj Luci [27,28].

Postupci dobijanja jonoizmjenjivačkih vlakana mogu se podijeliti u tri osnovne grupe:

- hemijsko modifikovanje gotovih vlakana
- formiranje vlakana iz polimera ili kopolimera koji već sadrže funkcionalno aktivne grupe
- formiranje vlakana iz smjese polimera za vlakna koja ne sadrže funkcionalne grupe, i polimera koji sadrže funkcionalne grupe ali nisu polimeri za formiranje vlakana [3].

Polimerne vlaknaste materijale karakterišu sljedeće osobine [12,13]:

- netoksična
- nekancerogena
- dobra apsorpciona svojstva
- nealergijska
- propustljiva za vazduh i vlagu

- biokompatibilna
- laka za manipulaciju
- dobra mehanička svojstva.

Od savremenih biološki aktivnih vlakana najpoznatija su antimikrobna, analgetska, anestezijska, hemostatička, fermentativna, vlakna sa antikoagulativnim djelovanjem, radioaktivna, vlakna kao depoi hormona itd.

Od pomenutih vlakana, u ovom radu su dobijena i ispitana antimikrobna i analgetska vlakna.

2.1.1.1. Antimikrobna vlakna

Antimikrobna vlakna imaju za cilj da suzbiju razmnožavanje ili da potpuno unište patogene mikroorganizme koji se razvijaju na površini vlaknastih materijala ili da postepenim otpuštanjem antimikrobnog sredstva zaštite površinu koju pokrivaju od patogene mikroflore. Za dobijanje i produžavanje trajnosti antimikrobnog djelovanja koriste se različite metode obrade vlakana [29] :

- insolubilizacija aktivne supstance na/u vlaknu
- tretiranje vlakna sa agensima za kondenzaciju ili umrežavanje
- mikroinkapsuliranje antimikrobnog agensa sa vlaknastim matriksom
- prevlačenje površine vlakna zaštitnim slojem
- hemijsko modifikovanje vlakna stvaranjem kovalentnih veza
- korištenje polimera za kalemljenje, homopolimera i/ili kopolimerizacije na vlaknu.

Danas je u upotrebi širok spektar antimikrobnih sredstava koja se koriste za dobijanje antimikrobnih vlakana. To su antibiotici širokog spektra dejstva [30], N-halamin [31], jedinjenja na bazi difenil-etera (triklosan) [32], kvarterna amonijumova jedinjenja [33], bigvanidini, metalni joni (srebra, bakra, cinka, žive) [34,35], zeolit [36], hitozan [37] i ekstrakti biljaka, bilobe, sibirske jele, ruzmarina i kantariona [38,39].

Veliki broj postupaka za dobijanje biološki aktivnih vlakana sa baktericidnim djelovanjem zasniva se na vezivanju antimikrobnih agenasa hemijskom vezom za vlakno. Najčešće korišteni polimeri za dobijanje antimikrobnih vlakana su polivinilalkohol-PVA [40], poliakrilonitril-PAN [41], poliamid-PA [42], poliestar-PES [43], polietilenteraftalat-PET [44] i celuloza i njeni derivati [45,46].

Veliku pažnju istraživača u posljednje vrijeme zaokuplja takođe primjena novih biodegradabilnih polimera za dobijanje antimikrobnih vlakana, alginata [47] i hitozana [48].

Celulozna vlakna, prvenstveno pamučna, odavno se koriste u medicinske svrhe zbog svojih dobrih karakteristika. Predloženi su mnogi postupci za dobijanje antimikrobnih celuloznih vlakana, od kojih se neki već koriste u praksi.

Za dobijanje ovih vlakana celulozni materijal se podvrgava predtretmanu radi uvođenja funkcionalnih grupa koje će zatim vezati baktericidne i fungicidne preparate. Celuloza se takođe može direktno tretirati preparatima koji sadrže funkcionalne grupe koje mogu reagovati sa hidroksilnim grupama celuloze. Biološka aktivnost obezbeđuje se postepenim otpuštanjem manjih količina baktericidnog ili fungicidnog sredstva. Tako su poznati derivati celuloze koji sadrže hemijski vezane baktericidne katjone, antibiotike, jod i organometalna jedinjenja. Među novijim tretmanima antimikrobne obrade su i postupci koji se zasnivaju na tzv. halaminskoj hemiji. Ovako dobijeni materijali su netoksični, ekološki prihvatljivi i pokazuju baktericidna svojstva prema širokom spektru patogenih mikroorganizama a naročito prema *E. coli* [49].

Dobijanje celuloznih materijala sa antimikrobnim djelovanjem moguće je i pomoću 1,2,3,4-butanetetrakarboksilne kiseline i limunske kiseline. Zadnjih godina istražuju se postupci za postizanje efikasne antimikrobne zaštite "prirodnim" sredstvima. Veliki broj radova bavi se različitim načinima tretiranja pamučnih vlakana hitozanom, prirodnim polisaharidom, kojim se obezbeđuje dugotrajna antimikrobna zaštita [50,51].

2.1.1.2. Analgetska vlakna

Analgetska vlakna imaju za cilj lokalno uklanjanje ili umanjivanje bola. Za dobijanje ili produžavanje trajnosti analgetskog djelovanja koriste se neke od metoda obrade korištenih i kod antimikrobnih vlakana:

- insolubilizacija aktivne supstance na/u vlaknu
- mikroinkapsuliranje analgetskog agensa sa vlaknastim matriksom
- hemijsko modifikovanje vlakna stvaranjem kovalentnih veza.

Analgetska vlakna uglavnom se dobijaju vezivanjem analgetika kao što su diklofenak [52], tramadol [14], ibuprofen [53], paracetamol [54], aspirin [6]. Takođe, analgetska vlakna se mogu dobiti i vezivanjem lokalnih anestetika [55].

Veliki broj postupaka za dobijanje biološki aktivnih vlakana sa analgetskim djelovanjem zasniva se na vezivanju analgetskih agenasa hemijskom vezom za vlakno. Za dobijanje ovih

vlakana najčešće se koriste polimeri kao što su lateks [56], hitozan [52], alginat [57], polivinilalkohol-PVA [58] kao i celuloza i njeni derivati [59, 60].

2.1.2. MEHANIZAM KONTROLISANOG OTPUŠTANJA

Kontrolisano otpuštanje lijekova podrazumijeva postepeno oslobađanje lijekova ili drugih aktivnih agenasa iz polimera. Svrha kontrolisanog otpuštanja lijekova je u tome da se ostvari što efikasnija terapija i da se eliminišu nuspojave oralnog ili intravenoznog uzimanja terapije. Idealni sistemi sa kontrolisanim otpuštanjem ljekovitog preparata trebali bi biti inertni, biokompatibilni, mehanički jaki, komforni za pacijenta, sposobni da vežu velike doze lijeka, bezbjedni u smislu slučajnog, odnosno nekontrolisanog otpuštanja i jednostavni za apliciranje. Kontrolisano otpuštanje zavisi od prirode polimera i načina kombinovanja lijeka i polimera u biološki aktivnom kompleksu, i može se vršiti preko tri osnovna mehanizma [4]:

- difuzija
- degradacija polimera
- hidroliza koja se dešava pod uticajem bubrenja koje može izazvati eroziju polimera.

Difuzija se dešava kada aktivna supstanca prolazi kroz makro i mikrostrukturne parametre (pore) polimernog sistema i na taj način se oslobađa iz matrice.

Degradacija polimera predstavlja reakciju na tjelesne fluide koji ih okružuju, pri čemu dolazi do bubrenja polimerne matrice, otvaranja unutrašnje površine i difuzije aktivne supstance.

Većina biodegradabilnih polimera je dizajnirana tako da se degradacija javlja kao rezultat hidrolize polimernog lanca. Brzina degradacije polimera uslovljava otpuštanje i kontroliše brzinu otpuštanja lijeka.

2.2. CELULOZA

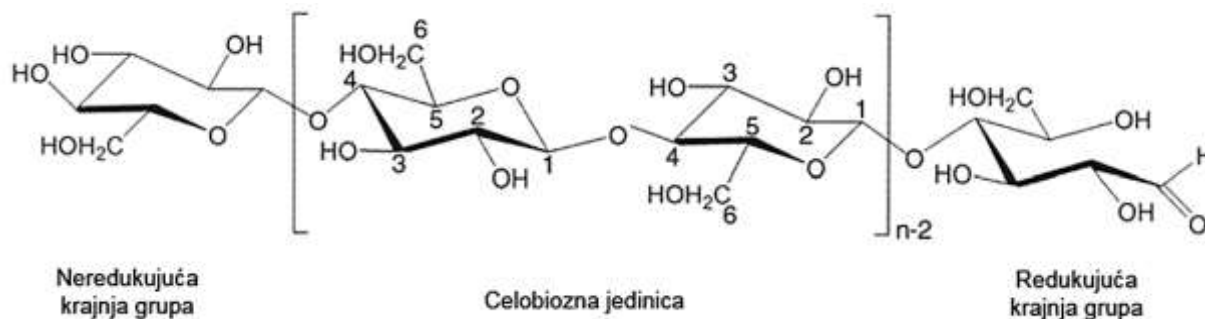
Celuloza je najrasprostranjeniji prirodni polimer. Ukupna količina celuloze u biljnom svijetu iznosi od 10^{11} do 10^{12} tona [61]. Pošto predstavlja osnovnu gradivnu supstancu ćelijskog zida svih biljaka (smještena je u sekundarnom ćelijskom zidu), celuloza je osnovni izvor obnovljivih polimera. Najveći sadržaj celuloze ima pamučno vlakno, oko 90% [62]. Nativna celuloza nastaje kao produkt biosinteze u biljkama, djelovanjem kompleksa enzima celuloza-sintaza. Monomer glukoze se vezuje za neredukujući kraj sljedećeg molekula glukoze, dolazi do produženja lanca i nastaje celuloza.

Elementarni sastav celuloze odredio je 1838. godine Anselme Payen, koji je i dao naziv celuloza [63]. Utvrdio je da se celuloza sastoji od 44-45% C, 6-6,5% H i ostatak je kiseonik. Na osnovu ovih podataka zaključio je da je empirijska formula celuloze $(C_6H_{10}O_5)_n$.

2.2.1. STRUKTURA CELULOZE

2.2.1.1. Molekulska struktura

Celuloza (slika 2.1.) je prilično krut homopolimer sastavljen od D-glukoze gdje su monomeri povezani β -glikozidnom vezom između C1 i C4. U makromolekulu celuloze pojedinačne glukozne jedinice okrenute su u odnosu na susjednu glukoznu jedinicu za 180° . Tako dvije glukozne jedinice predstavljaju osnovni motiv, koji je ustvari ostatak disaharida celobioze [64]. U celulozi se pored glukoznih monomera (čine 99%) mogu naći i ostaci manoze, ksiloze i glukuronskih kiselina [65].

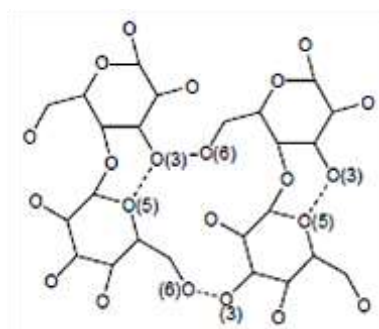


Slika 2.1. Struktura celuloze [65]

Krajnje glukozne jedinice celuloznog lanca razlikuju se od ostalih unutar celulozne molekule kao i jedan od drugog. Jedan krajnji glukozidni ostatak sadrži četiri hidroksilne grupe (tri sekundarne i jednu primarnu hidroksilnu grupu). Na drugom kraju celuloznog lanca glukozidni ostatak sadrži poluacetalnu grupu (redukujuću) koja je u ravnoteži sa aldehidnom (otvorenom) strukturom [66,67]. Spada u stereoregularne sindiotaktne polimere jer su OH grupe na C6 atomu dvije susjedne glukozne jedinice u trans položaju [68].

Glukozni prsten smješten u unutrašnjosti molekula celuloze se javlja u konformaciji stolice, kao termodinamički najstabilnijoj konformaciji [68]. U ovoj poziciji, ima tri slobodne hidroksilne grupe (postavljene ekvatorijalno) dvije sekundarne (C2 i C3) i jednu primarnu (C6). Pored izvjesnih razlika u karakteru sve tri hidroksilne grupe glukozidnih ostataka sposobne su za tipične reakcije OH grupa [69].

Celuloza je hidrofilni materijal [70]. Njena hidrofilnost je posljedica velikog broja vodoničnih veza celuloznih lanaca, u čijem formiranju učestvuju hidroksilne grupe (slika 2.2.). Vodonične veze mogu biti intramolekulske između glukozidnih ostataka i intermolekulske koje se obrazuju između dva susjedna molekula [65,71].



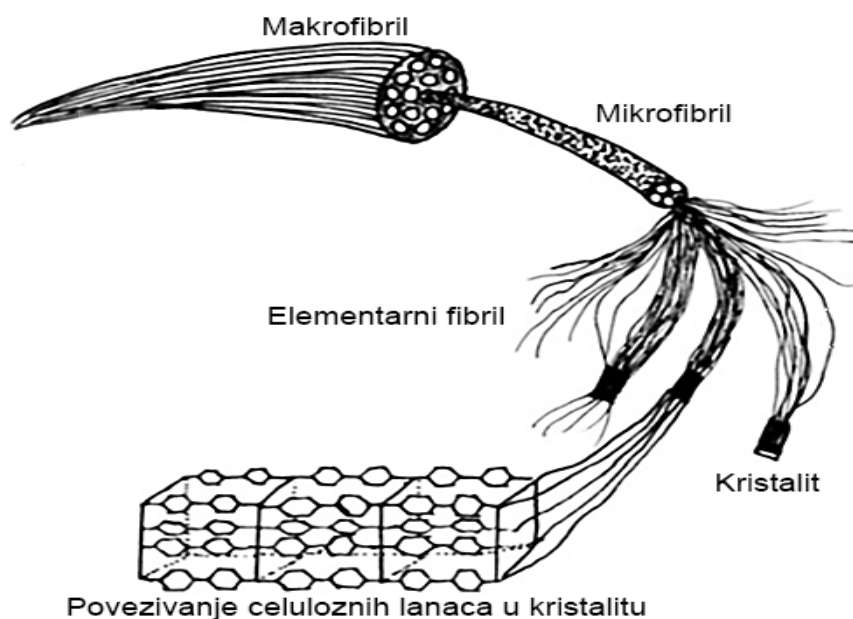
Slika 2.2. Ilustracija intra i intermolekulskih vodoničnih veza celuloze I [72]

Ispitivanjem celuloze koja potiče iz različitih izvora zaključeno je da među njima ne postoji nikakva razlika, kako u pogledu sastava tako i u pogledu uspostavljenih veza. Celuloza je polidisperzna kao i svi prirodni polimeri, pa se javljaju razlike u dužini njenih makromolekulskih lanaca, odnosno u molekulskoj masi. Molekulska masa, kao i broj anhidroglukoznih jedinica po molekulu celuloze (stepen polimerizacije, DP) zavisi od porijekla celuloze i kreću se od 300 do 30000 [73].

2.2.1.2. Nadmolekulska struktura

Određivanje nadmolekulske strukture na morfološkom nivou omogućeno je tek korištenjem elektronskog mikroskopa (SEM, TEM), korištenjem difrakcije x-zraka, širokougaonim rendgenskim snimanjem (XRD) i korištenjem spektroskopskih metoda (FTIR, NMR).

Nativna celuloza je izgrađena od spiralno formiranih makromolekulskih lanaca složenih u monomolekulske slojeve. Povezivanje monomolekulskih slojeva se odvija preko vodoničnih veza (slika 2.3.) ali i preko Van der Valsovih privlačnih sila [74] čime nastaju kristaliti. Kristaliti mogu biti efikasnog pakovanja i pravilne kristalne strukture-kristalna područja, i manje efikasnog pakovanja i manje pravilne strukture-amorfna područja. U kristalnim područjima makromolekuli su paralelno poredani i obrazuju kristalnu rešetku. U amorfnim područjima dolazi do promjene pravca jednog ili više makromolekula (nasumične orijentacije) zbog čega su celulozni lanci povezani preko izotropnih vodoničnih veza u položaju C2 i C3 [75]. Povezivanjem kristalita preko vodoničnih veza nastaju najmanje jedinice vlakana-elementarni fibrili. Elementarni fibril po faznom sastavu nije jednorodan, već se sastoji iz amornih i kristalnih područja. Amorfna područja se takođe mogu nalaziti i između elementarnih fibrila. Ona predstavljaju tzv. slaba mjesta, kako u hemijskom, tako i u mehaničkom pogledu, jer najlakše bubre i hemijski reagensi u njih najlakše prodiru. Povezivanjem elementarnih fibrila nastaju mikrofibrili. Više povezanih mikrofibrila grade makrofibrile, koji povezani grade "resasti fibril" [65].



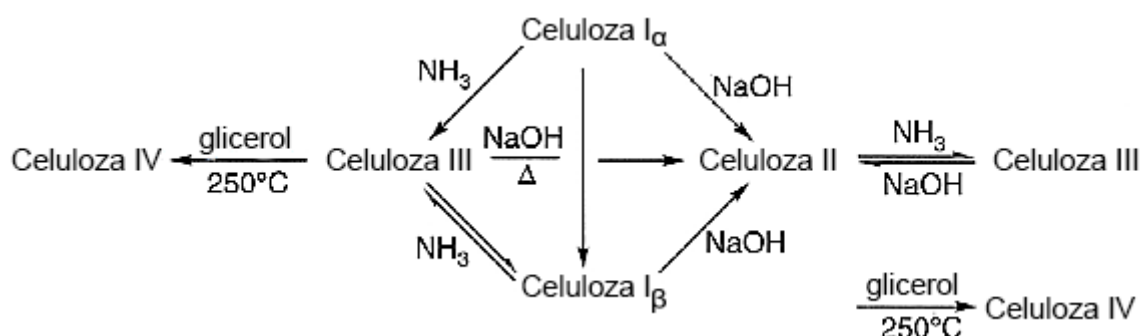
Slika 2.3. Nadmolekulska struktura vlakna celuloze [61]

U Tabeli 2.1. prikazane su dimenzije strukturnih elemenata celuloze. Prikazane su prosječne vrijednosti koje mogu odstupati za različite izvore celuloze.

Tabela 2.1. Dimenzije strukturnih elemenata celuloze (61)

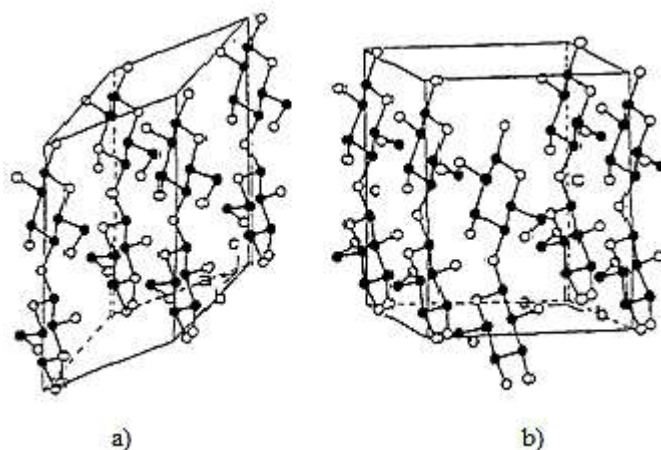
Element celuloze	Dužina	Visina	Širina
Molekula	0,52	0,82	0,39
Kristalit	1,03	0,82	0,78
Elementarni fibril	15-20	6-10	3-5
Mikrofibril	50-80	20-30	8-10
Makrofibril	Više od 3000	Više od 400	Više od 100

Prema tipovima kristalne rešetke mogu se razlikovati kristalna struktura native celuloze (celuloza I) i regenerisane celuloze (celuloza II, III, IV i V) [71]. Od celuloze I se hemijskim tretmanima dobijaju ostali tipovi celuloze (slika 2.4).



Slika 2.4. Transformacija celuloze u različita polimorfna stanja [61]

Celuloza I sreće se u prirodnim vlaknima. Karakterišu je paralelni lanci celuloze tj. redukcionni krajevi se nalaze na istom kraju. Javlja se u dva kristalna oblika, Ia koji je dominantan kod nekih morskih algi i bakterijske celuloze i Iβ koji je dominantan kod pamuka, konoplje i drugih likastih vlakana [76,77]. Ia i Iβ oblici celuloze su skoro identični po svojoj sekundarnoj strukturi i imaju istu konformaciju molekulskih lanaca [78] a razlikuju se u građenju vodonične veze u strukturi njihovih uzoraka [79]. Celuloza Ia se djelovanjem visokih temperatura može prevesti u Iβ oblik i taj proces je ireverzibilan [80]. Polimorfi celuloze I se razlikuju i po načinu pakovanja lanaca u jediničnoj ćeliji, tako da celulozi Ia odgovara triklinična jedinična ćelija a celulozi Iβ monoklinična jedinična ćelija (slika 2.5.).



Slika 2.5. Jedinična ćelija a) celuloza Ia (triklinična), b) celuloza Ib (monoklinična) [81]

Karakteristično je da oba kristalna oblika celuloze I grade iste tipove vodonične veze (slika 2) intramolekulsku između O2-H – O6 i O3-H – O5 i intermolekulsku između O3 jedne molekule i O6-H druge molekule. U prirodi nije pronađen čisti oblik Ia celuloze, te se u pamuku i ramiji nalazi oko 20% [82]. Takođe, oblik Ia celuloze je metastabilan i znatno je reaktivniji [83].

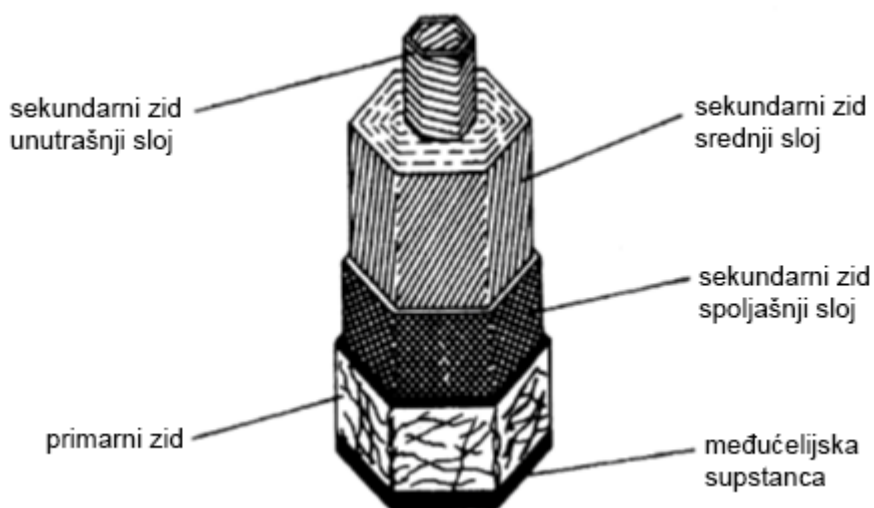
Celuloza II se dobija obradom celuloze I alkalijama (mercerizacija) ili regenerisanjem iz rastvora. Karakterišu je suprotno postavljeni lanci celuloze, odnosno redukcioni krajevi se ne nalaze na istom kraju. Viskozna vlakna, celofanski filmovi i šuplja vlakna za dijalizu bubrega su neki od komercijalnih proizvoda regenerisane celuloze i imaju kristalnu strukturu celuloze II, sa 20-60% kristaličnosti i djelimičnom orijentacijom celuloznih molekula duž ose vlakna. Celuloza II ima monokliničnu jediničnu ćeliju od dva celulozna lanca [84].

Celuloza III, IV i V Celuloza III se dobija obradom celuloze I ili celuloze II tečnim amonijakom ili organskim aminima kao što je etilendiamin. Celuloza IV (visokotemperaturni oblik) nastaje zagrijavanjem etilendiaminskog kompleksa celuloze I, II ili III sa dimetilformamidom na 160 °C ili zagrijavanjem celuloze III u glicerinu na 250° C. Celuloza V se dobija obradom pamuka ili drvene pulpe sa jakom fosfornom ili hlorovodoničnom kiselinom.

2.2.1.3. Morfološka struktura

Morfološki nivo prikazan na slici 2.6. odražava međusobni raspored fibrila i građu samih vlakana, tj. njihov geometrijski oblik i prisustvo slojevite strukture. U prirodnim vlaknima postoje relativno velike razlike u gustini slaganja strukturnih elemenata i njihovoj orijentisanosti po pojedinim slojevima koji leže upravno na osu vlakna [65]. Morfologija vlakna je u prirodnim vlaknima određena uslovima rasta ćelije.

Celuloza izgrađuje ćelijske zidove koji se sastoje iz dva sloja, primarnog i sekundarnog. Na slici 2.6. dat je šematski prikaz rasporeda slojeva u ćelijskom zidu, kao i orijentacije mikrofibrila u njima. U primarnom sloju fibrili celuloze su nasumično isprepletani. U sekundarnom sloju mikrofibrili su paralelno raspoređeni i on je osnovni izvor celuloze.



Slika 2.6. Šematski prikaz strukture ćelijskog zida biljnog svijeta [62]

Na površini celuloznih vlakana prisutne su pore, šupljine i pukotine [85], koje nisu uniformne po dimenzijama i obliku. Zbog postojanja sistema pora i šupljina, ukupna površina celuloznih vlakana u velikom stepenu prevazilazi spoljašnju geometrijsku površinu [86]. Struktura pora određuje unutrašnju pristupačnu oblast površine celuloze, a time utiče i na njenu reaktivnost.

2.2.2. REAKTIVNOST CELULOZE

Reaktivnost native celuloze zavisi od njene nadmolekulske strukture (stepena kristaličnosti i stepena polimerizacije), kao i od vrste, rasporeda i položaja funkcionalnih grupa pa su potrebni i različiti reakcioni uslovi [87].

Reaktivni centri makromolekula celuloze su hidroksilne grupe i glikozidna veza. Većina reakcija na nativnoj celulozi je heterogena, i prvo dolazi do reakcije na manje uređenim (amornim) oblastima, koje se uglavnom nalaze na površini elementarnih fibrila ili njihovih agregacija, kao i u oblastima povezivanja kristalita u elementarne fibrile. Glikozidne veze u amornim područjima, podliježu reakciji 1000-5000 puta brže od glikozidnih veza unutar kristalne strukture [61]. Sve reakcije počinju na manje uređenoj površini elementarnih fibrila ili njihovih agregacija, a zatim se pod povoljnim uslovima, nastavljaju unutar kristalita. Dakle, sve dok su reakcije ograničene na amornu oblast nema vidljivih efekata na kristalnu strukturu.

Pristupačnost hidroksilnih grupa zavisi od stepena kristaličnosti [88]. Hidroksilne grupe u kristalnim regionima koji se odlikuju bliskim pakovanjem i jakim međusobnim vezivanjem su potpuno nepristupačne i nereaktivne, dok su u amornim područjima veoma pristupačne i lako reaguju. Dakle, reaktivnost i kristaličnost celuloze su obrnuto proporcionalni, pa se pod reaktivnošću podrazumijeva mogućnost pristupa hidroksilnim grupama [89].

Za mjerenje reaktivnosti celuloze, najčešće se koriste metode zasnovane na određivanju pristupačnosti hidroksilnim grupama, tj. sposobnosti zadržavanja vode i određivanju jednog broja.

Sve reakcije celuloze mogu se klasifikovati u dvije grupe. Prvu grupu čine reakcije na hidroksilnoj grupi a drugu čine reakcije koje dovode do degradacije celuloznih lanaca [90].

Reakcije celuloze sa vodom, alkalijama, kiselinama, reakcije eterifikovanja i esterifikovanja, posljedica su reaktivnosti dvije sekundarne hidroksilne grupe na drugom i trećem ugljenikovom atomu (HO-2 i HO-3) i jedne primarne hidroksilne grupe na šestom ugljenikovom atomu (HO-6) β -D-glukopiranozne jedinice u makromolekuli celuloze. Pri tome hidroksilne grupe pokazuju individualnu reaktivnost [91]. Na primjer, primarne hidroksilne grupe su reaktivnije od sekundarnih, osim u slučaju steričkog ometanja primarnih grupa kada sekundarne grupe reaguju brže. U reakcijama esterifikovanja najveću reaktivnost pokazuje hidroksilna grupa na šestom ugljenikovom atomu [92].

Celuloza je hemijski veoma rezistentna supstanca nerastvorna u vodi, zbog toga što se veliki broj njenih hidroksilnih grupa nalazi u unutrašnjosti vlakna, i nepristupačne su za hemijske

reakcije. Naime, hidroksilne grupe uspostavljaju vodonične veze unutar jednog makromolekula i između samih makromolekula. Iako se sama celuloza ne rastvara u vodi, prisustvo -OH grupa u amorfnim područjima omogućava da se na ovim mjestima vežu molekuli vode preko vodoničnih veza. Ispitivanja su pokazala da pored vode vezane u amorfnim područjima (hidratna voda) celuloza može sadržavati i kapilarnu i adsorpcionu vodu [65].

Djelovanje alkalija na celulozu, (prije svega NaOH) zavisi od koncentracije, temperature i vremena djelovanja. Takođe i stepen polimerizacije i kristaličnosti utiču na djelovanje alkalija na celulozu [93]. Pored toga, rastvori natrijum-hidroksida sa različitim dodacima rastvaraju celulozu efikasnije od samog binarnog sistema NaOH/H₂O. Korišteni dodaci su polietilenglikol [94], urea [95] i/ili tiourea [96,97].

Vodeni rastvori kiselina dovode do degradacije celuloznog lanca odnosno do hidrolize glikozidne veze. Djelovanje kiselina zavisi od njihove koncentracije, vremena djelovanja i temperature. Koncentrovane mineralne kiseline, kao što su fosforna ili miješane kiseline, dovode do umjerene degradacije lanaca i nastajanja anizotropskog rastvora celuloze izuzetne izdržljivosti sa DP od 700-800 [98].

Ranije su za rastvaranje celuloze korišteni rastvarači na bazi kompleksa metalnih jona prelaznih metala. Njihov nedostatak je što daju obojenja, pa su teško primjenjivi u optičkim metodama analize [99]. Otkrivanje brojnih metal-kompleksnih jedinjenja dovelo je do primjene novih celuloznih rastvarača, a najvažniji su ferinatrijum-tartarat (FeTNa) i rastvori kadoksena (kadmijum-tetraetilendiamin-hidroksid). Od konvencionalnih rastvarača na bazi neorganskih soli, korišteni su rastvarači na bazi nikla (Ni-tren), magnezijuma (MgCl₂ • 6H₂O), litijuma (LiCl • 5H₂O, LiSCN) i cinka (ZnCl₂ • 4H₂O) [100].

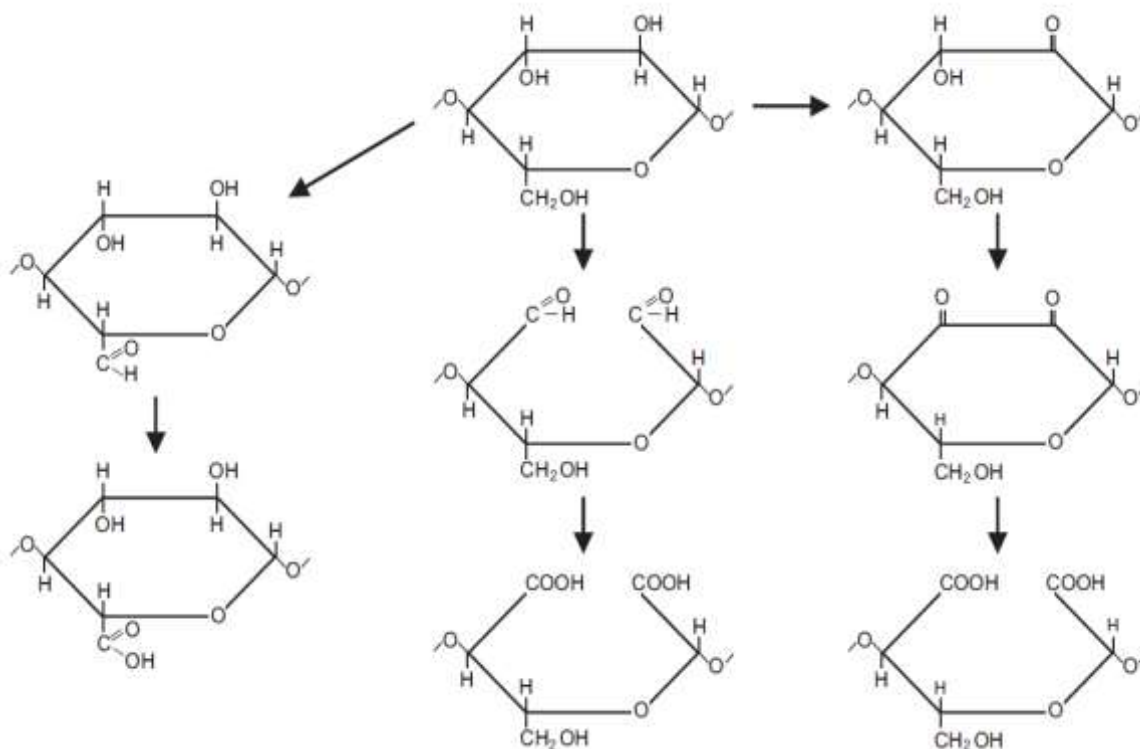
Od organskih rastvarača najčešće korišten jednokomponentni rastvarač je N-metilmorfolin-N-oksidi-NMMO [101]. Rastvara celulozu direktno i bez promjene hemijskih svojstava lanca celuloze i može se reciklirati više od 99% otpadnog rastvora rastvarača.

Od dvokomponentnih organskih rastvarača najviše je korišten N,N-dimetilacetamid-litijum-hlorid - DMA-LiCl [102], a od trokomponentnih, smjesa dimetilsulfoksida (DMSO) - DMSO/SO₂/DEA [103]. Kao rastvarači za celulozu koriste se i jonske tečnosti a najčešće se koristi so1-butil-3-metilimidazol hlorid (BMIMCl) [104].

2.2.2.1. Djelovanje oksidacionih sredstava na celulozu

Oksidacija celuloze je proces u kome djelovanjem oksidacionih sredstava dolazi do njenog oštećenja i razgradnje. Produkt dobijen oksidacijom celuloze naziva se oksidovana celuloza (oksiceluloza).

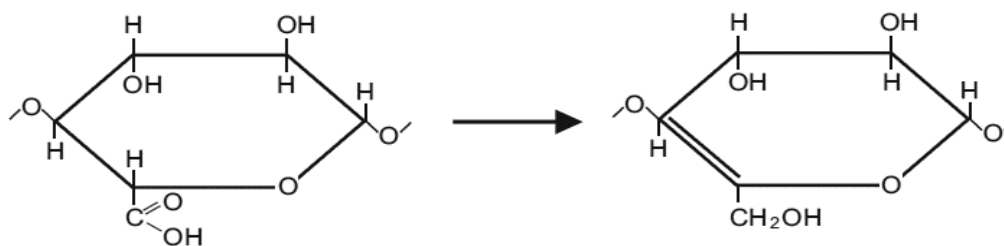
Djelovanjem oksidacionih sredstava dobija se heterogena smjesa celuloznih frakcija oksidovanih do različitog stepena. Oksidacija celuloze predstavlja djelovanje oksidacionih sredstava na hidroksilne grupe (slika 2.7.) uz nastajanje karboksilnih i karbonilnih (aldehidnih i keto) grupa. Proces oksidacije započinje na hidroksilnim grupama na površini vlakna, a zatim se pomijera ka „unutrašnjosti“ vlakna. Zbog veće pristupačnosti prvo se oksiduju amorfna područja.



Slika 2.7. Mogući načini oksidacije celuloze [65]

Hidroksilne grupe na drugom i trećem C-atomu oksiduju se pojedinačno ili istovremeno u karbonilnu grupu. Daljom oksidacijom ovih grupa može doći do otvaranja prstena kidanjem veze između drugog i trećeg C atoma i do stvaranja aldehidnih i karboksilnih grupa. Ako se oksidacija odvija na šestom C atomu, tada $-\text{CH}_2\text{OH}$ grupa prelazi u $-\text{CHO}$ ili $-\text{COOH}$ grupu.

Kidanju glikozidne veze koja dovodi do depolimerizacije tokom oksidacije prethodi prelazak enolne u keto formu u piranoznom prstenu (slika 2.8.).



Slika 2.8. Šema prevođenja enolne u keto formu [65]

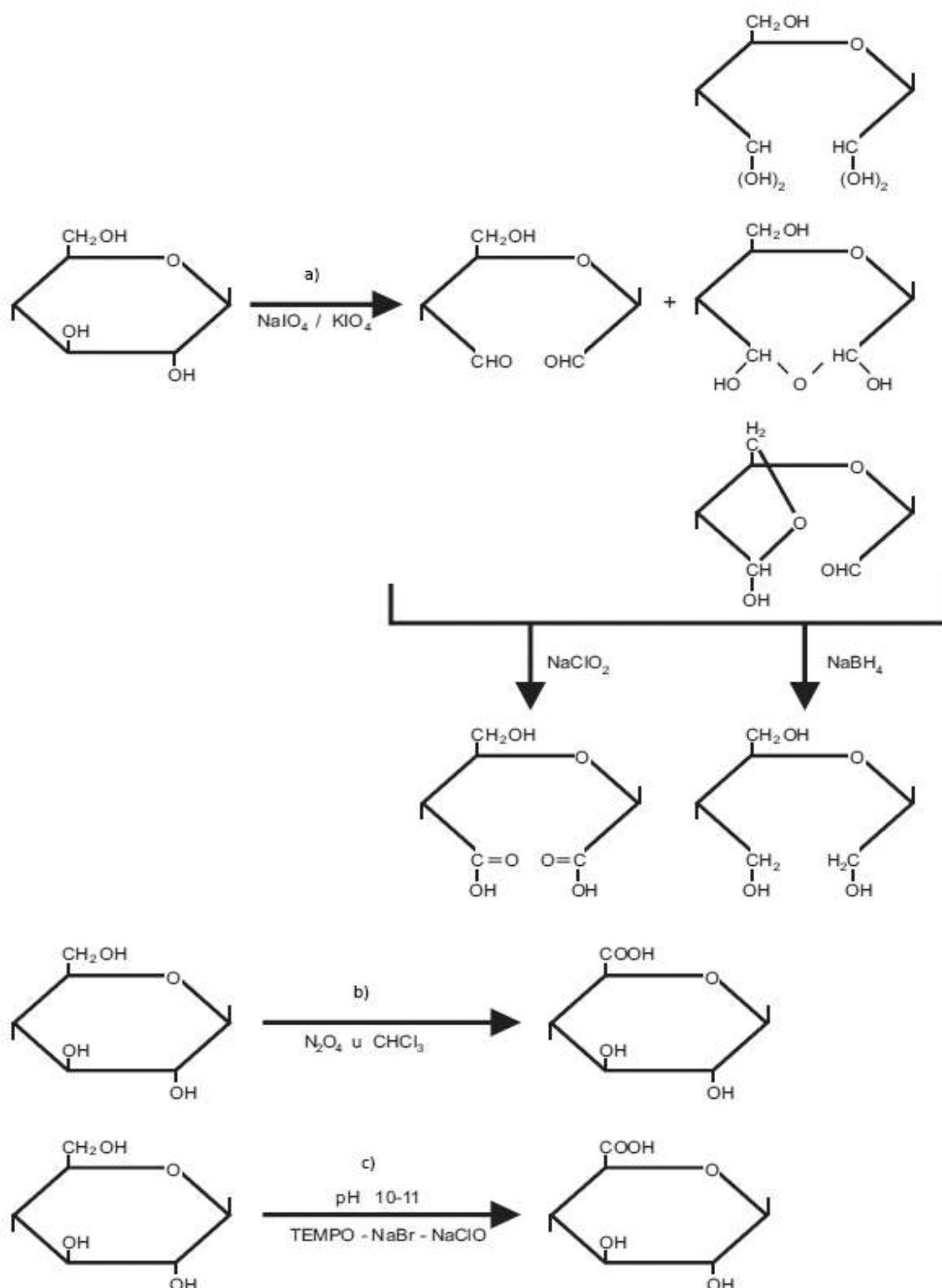
Obrazovana dvostruka veza enolne forme između C4 i C5, koja se nalazi u susjedstvu glikozidne veze, uzrokuje njeno kidanje i depolimerizaciju celuloze.

Za oksidovanje celuloze koristi se veliki broj oksidacionih sredstava, koji se na osnovu načina djelovanja mogu podijeliti na neselektivna (hlor, vodonik-peroksid, persirćetna kiselina, kalijum-permanganat) i selektivna (azot-dioksid, dinitrogen-tetraoksid), hipohlorična kiselina, perjodati i TEMPO).

Od neselektivnih oksidacionih sredstava najčešće se koriste vodonik-peroksid i kalijum-permanganat [105]. Djelovanjem neselektivnih oksidacionih sredstava dolazi do istovremene oksidacije i primarnih i sekundarnih hidroksilnih grupa na različitim glukopiranoznim jedinicama lanca celuloze uz nastajanje i karboksilnih i karbonilnih grupa. Njihov odnos zavisi od uslova izvođenja oksidacije, odnosno od korištenog oksidacionog sredstva i njegove koncentracije, kao i od temperature, dužine trajanja procesa i pH vrijednosti. Na kraju oksidacije dolazi do kidanja glikozidnih veza i smanjenja DP celuloze [106].

Od selektivnih oksidacionih sredstava najčešće se koriste azot-dioksid i perjodati. Selektivna oksidaciona sredstva oksiduju hidroksilne grupe na određenim ugljenikovim atomima uz nastajanje samo jednog tipa funkcionalne grupe. Djelovanjem perjodata (slika 2.9. a)) dolazi do istovremene oksidacije obje sekundarne hidroksilne grupe (C2 i C3) do aldehidnih, uz otvaranje piranoznog prstena. U sljedećem koraku se aldehidne grupe oksiduju do karboksilnih natrijum-hloritom ili redukuju do hidroksilnih natrijum-bor hidridom [107].

Djelovanjem azot-dioksida (NO_2) odnosno diazot-tetraoksida (N_2O_4), (slika 2.9. b)) na celulozu dolazi do oksidacije primarnih hidroksilnih grupa (C6) i nastanka karboksilnih grupa [108].



Slika 2.9. Selektivna oksidacija celuloze a) perjodatom, b) azot-dioksidom c) TEMPO [109]

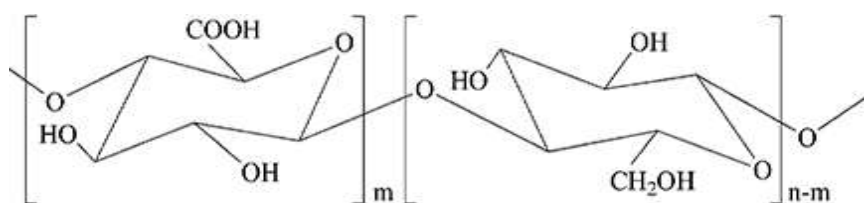
U posljednje vrijeme aktuelno je korištenje TEMPO oksidacionog sredstva. TEMPO oksidacija (slika 2.9. c)) je metoda selektivne oksidacije primarnih hidroksilnih grupa (C6) celuloze koja se postiže upotrebom u vodi rastvorljivih i stabilnih nitroksil-radikala, kao što je

2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oksi radikal (TEMPO) [110]. Ovim postupkom moguće je pod blagim reakcionim uslovima uvesti karboksilne grupe na površini celuloznih mikrofibrila uz očuvanje kristalne strukture native celuloze, pri čemu ne dolazi do drastičnog smanjenja jačine vlakna i stepena polimerizacije.

Djelovanjem smjese $\text{H}_3\text{PO}_4/\text{HNO}_3/\text{NaNO}_2$ na celulozu dolazi do selektivne oksidacije po mehanizmu oksidacije azot-dioksidom (NO_2). Pošto je u eksperimentalnom radu ove doktorske disertacije oksidacija vršena smjesom $\text{H}_3\text{PO}_4/\text{HNO}_3/\text{NaNO}_2$, detaljan pregled njenog mehanizma, primjene i karakteristika dat je u posebnom poglavlju.

2.2.2.2. Oksidacija celuloze smjesom $\text{H}_3\text{PO}_4/\text{HNO}_3/\text{NaNO}_2$

Oksidovana celuloza (OC) ili 6-karboksiceluloza je derivat koji se dobija selektivnom oksidacijom celuloze uz uvođenje karboksilne grupe u položaju 6 piranoznog prstena (slika 2.10.).



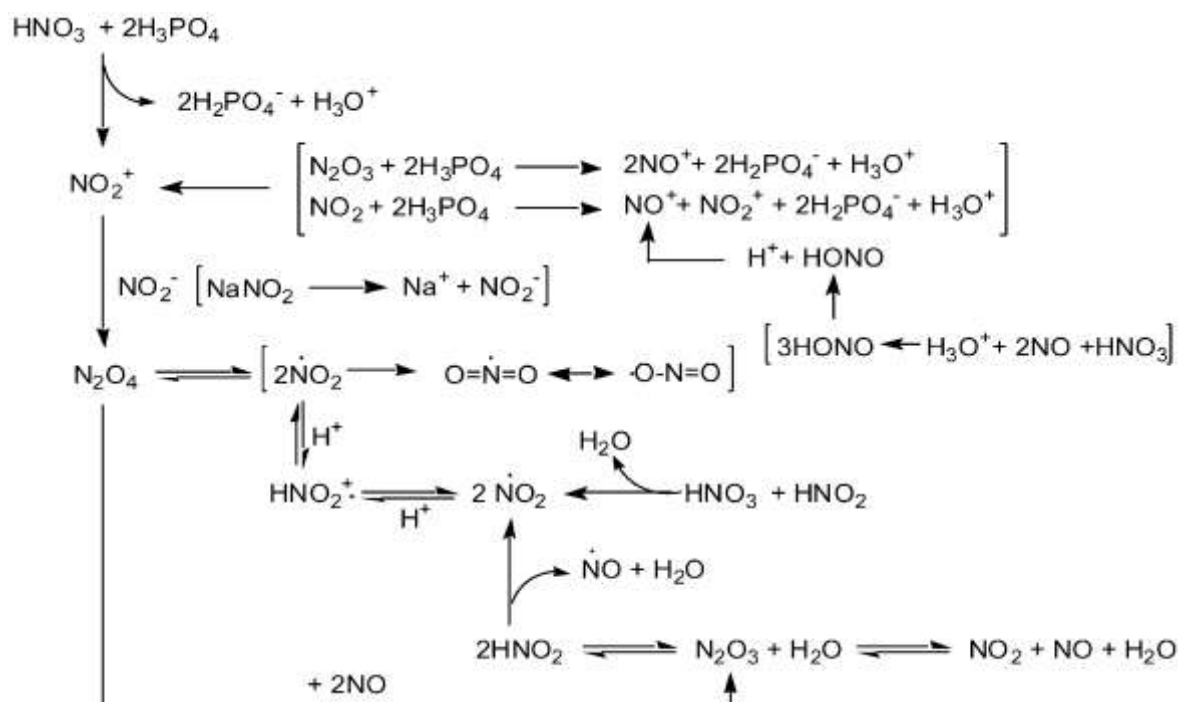
Slika 2.10. Struktura oksidovane celuloze [111]

Komercijalno, OC se proizvodi reakcijom celuloze sa azot-dioksidom (NO_2) ili diazot-tetraoksidom (N_2O_4). Ovi azotni oksidi egzistiraju u ravnoteži i mogu se upotrijebiti u gasovitoj formi ili kao rastvor u odgovarajućem organskom rastvaraču [112]. Ostali oksidansi koji se koriste u proizvodnji OC uključuju bihromat/ N_2O_4 , HNO_3 , smjese $\text{HNO}_3/\text{NaNO}_2$, $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4/\text{NaNO}_2$, $\text{H}_3\text{PO}_4/\text{NaNO}_2$, $\text{H}_3\text{PO}_4/\text{NaNO}_2/\text{NaNO}_3$ [113].

Jedan od novijih postupaka za dobijanje oksidovane celuloze niske kristaličnosti, pogodne za upotrebu u farmaceutskoj industriji je oksidacija smjesom sumporne i fosforne kiseline u kombinaciji sa NaNO_2 [114]. Ovako dobijena OC pokazala se kao efikasan imobilizirajući matriks za kontrolisano otpuštanje lijekova i proteina [111,115,116].

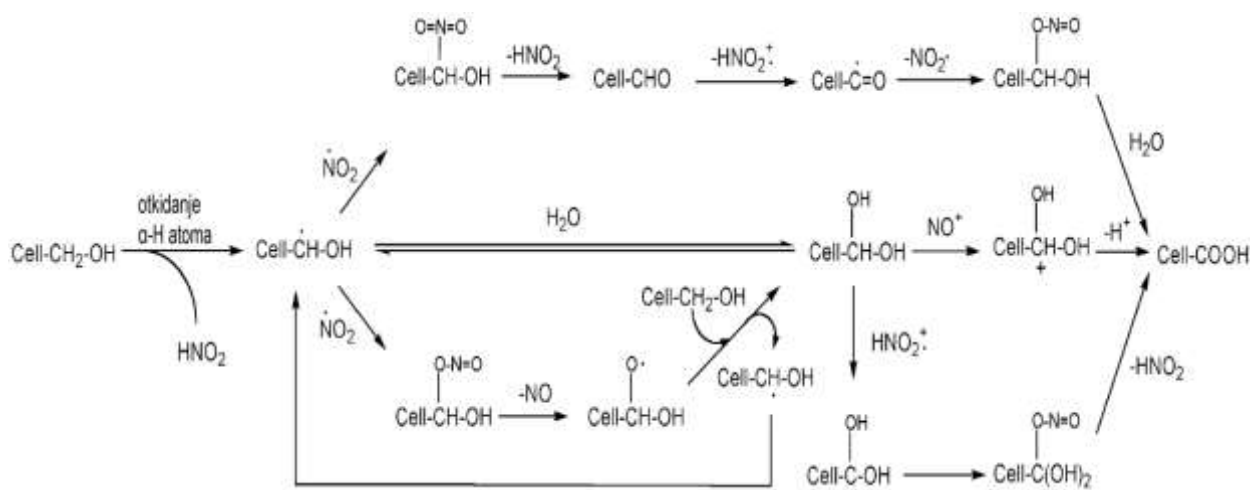
Azotni oksidi kao oksidansi često se susreću kod oksidacije organskih jedinjenja samom azotnom kiselinom, ili u kombinaciji sa drugim kiselinama i NaNO_2 [117]. Nekoliko različitih reakcionih puteva (slika 2.11.) vodi ka stvaranju reaktivnih vrsta koje učestvuju u oksidaciji

celuloze. Do njihovog nastajanja može doći reakcijom: (I) jake kiseline i NaNO_2 , (II) N_2O_4 i H_2O ili (III) HNO_3 , H_3O^+ i NO .



Slika 2.11. Mogući putevi generisanja azotnih oksida *in situ* [111]

Može se pretpostaviti da proces oksidacije započinje uklanjanjem atoma vodonika u položaju C-6 pomoću reaktivnih vrsta sa nesparenim elektronima NO_2 i NO . Tako dolazi do stvaranja $\text{Cel-CH}(\cdot)\text{-OH}$ (slika 2.12.), u skladu sa mehanizmom oksidacije sa HNO_3 u prisustvu azotnih oksida opisanim za alkohole. Daljim napadom NO_2 i potom otpuštanjem NO i HNO_2 nastaju intermedijeri Cel-CH(OH)_2 i Cel-CHO , respektivno.



Slika 2.12. Mehanizam oksidacije celuloze [111]

Intermedijer Cel-CH(OH)₂ također može nastati uklanjanjem hidridnog jona sa α -C-atoma celuloze pomoću nitrozonijum jona NO⁺, iza kojeg slijedi hidroliza Cel-CH($\cdot$)-OH. Nakon toga intermedijer Cel-CH(OH)₂ može dati Cel-COOH na dva načina. Jedan reakcijski put uključuje oduzimanja atoma vodonika, potom napad NO₂ $\cdot$, te eliminaciju HNO₂. Drugi put za dobijanje Cel-COOH uključuje otkidanje hidridnog jona sa NO⁺, a zatim eliminisanje protona.

U slučaju Cel-CHO, stvaranje Cel-COOH vodi preko eliminacije vodonika pomoću NO₂ $\cdot$ i potom hidrolize adicionog proizvoda.

Oksidovano celulozno vlakno korišteno u ovom radu dobijeno je selektivnom oksidacijom celuloznog vlakna u obliku zavoja smjesom HNO₃/H₃PO₄/NaNO₂, prema opisanom mehanizmu.

2.3. CELULOZNI MATERIJALI SA MEDICINSKOM NAMJENOM

Tradicionalno, celulozna vlakna koriste se u medicinskoj praksi u obliku vate, gaze, zavoja, tampona, hirurških maski i sl. Postupci modifikovanja celuloze radi dobijanja biološki aktivnih materijala za liječenje i preventivu u medicinskoj praksi, predstavljaju jedan od najinteresantnijih trendova u hemijskom modifikovanju celuloze.

Celulozni derivati zauzimaju posebno mjesto u proizvodnji materijala za previjanje rana sa neprijanjajućim, antimikrobnim i zacjeljujućim svojstvima.

Savremeni materijali za previjanje rana osim što štite ranu od prodora bakterija, obezbjeđuju ujednačenu vlažnost, temperaturu i odgovarajuću pH vrijednost. Terapeutske obloge dobijene su modifikovanjem pamučne gaze oksidacijom, fosforizacijom i sulfonovanjem. Aktivno pospješuju prirodne procese zarastanja tako što za sebe vežu elastaze, enzime koji ometaju zacjeljivanje kod hroničnih rana [118].

Od 1960 godine mikrokristalna celuloza (MCC) koristi se kao inertno punilo prilikom pravljenja tableta. Uvođenjem silicijum dioksida u MCC dobija se silifikovana mikrokristalna celuloza (SMCC), koja je pokazala bolje osobine i veću primjenu od MCC [119].

Celulozni acetat-ftalat (sadrži oko 20% acetil grupa, kao i oko 35% ftalil grupa) u kiseloj formi je rastvorljiv u organskim rastvaračima i nerastvorljiv u vodi. Njegove soli su lako rastvorljive u vodi. Ova kombinacija svojstava ga čini korisnim u oblaganju tableta jer je otporan na kiselu sredinu želuca, ali se rastvara u crijevnom traktu, odnosno u alkalnoj sredini.

Najčešća primjena celuloznih materijala u medicini je na području membrana za hemodijalizu [120]. Nove modifikacije celuloznih materijala za hemodijalizu usmjerene su ka poboljšanju efikasnosti filtracije i smanjenja neželjenih pojava tokom korištenja. Poboljšanje je postignuto supstitucijom hidroksilnih grupa ili prevlačenjem kontaktnih površina sa polietilenglikolom i vitaminom E [121].

Među novijim tretmanima antimikrobne obrade celuloznih materijala, u cilju dobijanja medicinskog tekstila, nalaze se postupci koji se zasnivaju na tzv. halaminskoj hemiji. Ovako dobijeni materijali pokazuju baktericidna svojstva prema širokom spektru patogenih mikroorganizama, a pri tome su netoksični i ekološki prihvatljivi. Kod ovog postupka vezivanjem celuloze i heterocikličnih jedinjenja N-halamina, a zatim tretiranjem rastvorom izbjeljivača, postiže se baktericidni efekat. Pri tome se baktericidna aktivnost obnavlja sa svakim ispiranjem rastvorom aktivnog hlora [118].

Značajan potencijal u zacjeljivanju rana pokazala je mikrobnna celuloza koju sintetizuje *Acetobacter xylinum*. Ova bakterijska celuloza ima osobine slične hidrogelovima koji se proizvode od sintetičkih polimera. Ima odlična sorpcijska svojstva i lako se sterilise uz očuvanje svojih karakteristika. Pretpostavlja se da je mehanizam djelovanja bakterijske celuloze povezan sa njenom jedinstvenom nanostrukturom, koja obezbjeđuje optimalnu vlažnost potrebnu za zacjeljivanje rane i regeneraciju kože. Bakterijska celuloza koju sintetizuje *Acetobacter xylinum* pokazala je značajan potencijal u prevazilaženju problema vezanih za vaskularne bolesti, odnosno kao rekonstruktivni materijal koji se koristi za tkiva krvnih sudova [122].

Modifikovanje bakterijske celuloze prirodnim polisaharidom hitozanom tokom njene biosinteze, rezultiralo je dobijanjem kompozitnog materijala sa glukozaminskim i N-acetilglukozaminskim jedinicama inkorporiranim u celulozni lanac. Tako dobijen materijal za previjanje rana ima bakteriostatsko djelovanje protiv gram negativnih i gram pozitivnih bakterija i baktericidno djelovanje na gram pozitivne bakterije [123].

Karboksimetilceluloza, sama ili u kombinaciji sa drugim aktivnim agensima takođe predstavlja pogodan supstrat za proizvodnju biomaterijala u formi gaze, filmova i hidrogelova za tretiranje hroničnih i teško zarastajućih rana [124].

Interesantan pravac u hemijskom modifikovanju celuloze je modifikovanje usmjereno ka dobijanju struktura sličnih prirodnom polisaharidu heparinu, koji se nalazi u endotelnim ćelijama krvnih sudova. Tako se regioselektivnim uvođenjem N-sulfo, O-sulfo, N-acetil i N-karboksimetil grupa u celulozu mogu dobiti hemokompatibilni derivati sa antikoagulacijskim svojstvima pogodni za presvlačenje površina različitih medicinskih uređaja [125].

Na kraju treba spomenuti implantabilne celulozne materijale koji se koriste u hirurgiji i inženjeringu tkiva. Jedan pravac inženjeringa tkiva odnosi se na rast ćelija tkiva na resorbujućoj podlozi, koja se ugrađuje na bolesnom ili oštećenom mjestu. Tokom vremena, podloga resorbuje biomaterijal i zamijeni živim tkivom [91]. Tako se za regeneraciju koštanog tkiva koristi celuloza regenerisana viskoznim postupkom (CRV[®]), celulozni fosfat i oksidovana regenerisana celuloza [126].

Zbog svoje dostupnosti, jednostavnog dobijanja te karakteristične molekulske strukture, celulozna vlakna obezbjeđuju pogodan matriks za dizajniranje novih biokompatibilnih i inteligentnih materijala.

Celuloza i njeni derivati se sve više koriste u farmaceutskoj industriji kao nosači aktivnih sastojaka u sistemu polimer-lijek. Ovako dizajnirani sistemi polimer-ljekoviti preparat imaju

sposobnost postepenog i kontrolisanog otpuštanja lijeka u organizam i naročito su korisni za liječenje dugotrajnih i hroničnih bolesti.

Prednosti celuloze i njenih derivata su niska cijena, hidrofilni karakter, laka dostupnost i značajan broj hidroksilnih grupa na površini pogodnih za hemijsku reakciju.

Celulozni materijali se trenutno široko koriste za vezivanje aktivnih supstanci (lijekova), a primjenjuju se celulozni acetat [127], celulozni acetat propionat [128], celulozni acetat butirat [128], karboksimetilceluloza [129], etilceluloza [130], hidroksipropilmetilceluloza [131] i bisulfatna celuloza [132].

2.3.1. FARMACEUTSKA I MEDICINSKA PRIMJENA OKSIDOVANE CELULOZE

Oksidovana celuloza (OC) sa manje od 3% karboksilnih grupa koristi se kao ekscipijent u farmaceutskoj industriji, dok OC sa 3-25 % karboksilnih grupa predstavlja biokompatibilni i biorazgradivi polimer koji se najviše koristi kao hemostatik i sredstvo za sprečavanje posthirurških adhezija [133]. Ispitivanja su pokazala da OC posjeduje antibakterijska [134], antikancerogena [135], imunostimulativna [136] i zacjeljujuća svojstva [137].

Oksidovana celuloza, najčešće dobijena selektivnom oksidacijom primarnih hidroksilnih grupa pamučne ili regenerisane celuloze, koristi se kao hemostatik i na tržištu je dostupna u formi gaze, flastera, spužve i u praškastoj formi [138]. Komercijalni preparat Surgicel® (firme Johnson and Johnson), je oksidovana regenerisana celuloza u obliku gaze koja u kontaktu sa krvlju bubri i postaje želatinozna, i osim hemostatskog djelovanja, blagotvorno utiče na regeneraciju koštanog i mekog tkiva.

Oksidovana regenerisana celuloza (ORC) se dobija kontrolisanom oksidacijom celuloznih vlakana vrlo ujednačenog hemijskog sastava. Ova celulozna vlakna su dobijena rastvaranjem prirodne celuloze u pogodnom rastvaraču i ekstruzijom. Rezultat ovakve oksidacije je vlakno sa manjim varijacijama u stabilnosti i dobrim apsorpcionim svojstvima oksidacionog proizvoda.

Svi ORC materijali sa sadržajem karboksilnih grupa u rasponu od 16 do 24%, predstavljaju važne biokompatibilne i bioabsorбилne polimere sa hemostatičkim djelovanjem (apsorbuje krv i pretvara je u gel) koji su dostupni u formi gaze, pletene tkanine ili u praškastom obliku [139].

Pored hemostatičkog djelovanja ORC u kontaktu sa vlagom snižava pH do 3,4-3,7 čime djeluje baktericidno i izaziva lokalizovanu vazokonstrikciju. ORC je takođe pokazala nekoliko mana, slabu biorazgradljivost kao i štetno djelovanje na nervni sistem ako se ORC

sa sadržajem karboksilnih grupa u rasponu od 16% do 24% i pH od 3,1 implantira u ljudsko tijelo. Da se prevaziđu pomenuti nedostaci i poboljšaju hemostatske performanse, ORC se neutrališe. Neutralizacija se najčešće vrši prevođenjem u natrijumovu so, a kao produkt se dobija oksidovana regenerisana celuloza natrijum karboksilat (ORC–Na) čija su prvobitna ispitivanja pokazala odlične rezultate.

Novi postupci proizvodnje OC većinom su usmjereni ka dobijanju proizvoda različitog stepena oksidacije u visokom prinosu, pogodnih za upotrebu u farmaceutskoj industriji u proizvodnji sistema za postepeno i/ili kontrolisano otpuštanje lijekova i drugih hemijskih agenasa.

Kao nosači lijekovitih preparata koriste se dialdehidna celuloza [140], dialdehidna mikrokristalna celuloza [141] i 6-oksiceluloza [142].

Zahvaljujući prisustvu slobodnih karboksilnih grupa, 6-oksiceluloza je pokazala sposobnost vezivanja različitih lijekova, enzima i proteina [143-145].

Vezivanje aktivnih komponenti na oksidovanu celulozu može se postići preko kovalentne veze [146], jonske veze [147], hidrofobnih interakcija [148] kao i amidnom vezom [91].

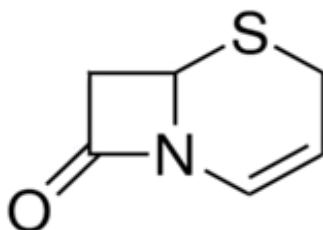
2.4. STRUKTURA I SVOJSTVA ANTIBIOTIKA I ANALGETIKA KORIŠTENIH ZA DOBIJANJE BIOLOŠKI AKTIVNIH VLAKANA

2.4.1. CEFALOSPORINSKI ANTIBIOTICI

Cefalosporini su baktericidni β -laktamski antimikrobni lijekovi. U upotrebi je oko 50 različitih cefalosporinskih antibiotika. Spektar djelovanja je sličan penicilinima širokog spektra, uz nešto veću otpornost prema β -laktamazama [149]. Cefalosporini se dijele u četiri generacije [150]. Prva generacija cefalosporina djeluje na gram pozitivne aerobe dok ne djeluju na gram negativne anaerobe. Druga generacija cefalosporina ima proširen spektar dejstva prema gram negativnim bakterijama, ali su manje otporni na gram pozitivne aerobe nego prva generacija. Treća generacija primarno djeluje na gram negativne bakterije i neke anaerobe. Noviji cefalosporini uvedeni u terapiju krajem prošlog vijeka se označavaju kao četvrta generacija. Imaju veoma širok antimikrobni spektar. Strukturno svi cefalosporini su derivati 7-aminocefalosporanske i 7 α -metoksi-7 β -amino-cefalosporanske kiseline [151]. Uopšteno posmatrano, cefalosporini su hemijski stabilniji od penicilina i manje su podložni inaktivaciji u prisustvu β -laktamaza [151].

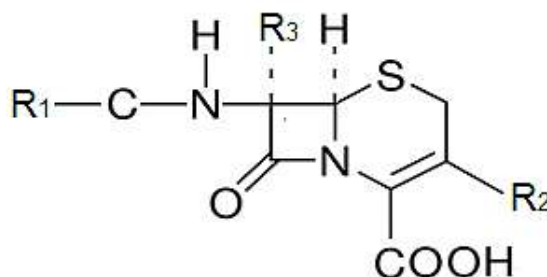
2.4.1.1. Hemijska struktura i mehanizam djelovanja

Cefalosporini su beta-laktamski (laktam je unutrašnji četveročlani ciklični amid, azetidinon) antibiotici, derivati cefema 3 prema Chemical Abstract nomenkalturi, odnosno 8-okso-5-tia-1-azabicyklo[4.2.0]-2-oktena prema IUPAC nomenklaturi (slika 2.13.). Način kondenzacije, hemijska struktura i obilježavanje bicikličnog heterocikla prikazani su planarno.



Slika 2.13. Struktura cefema 3 [151]

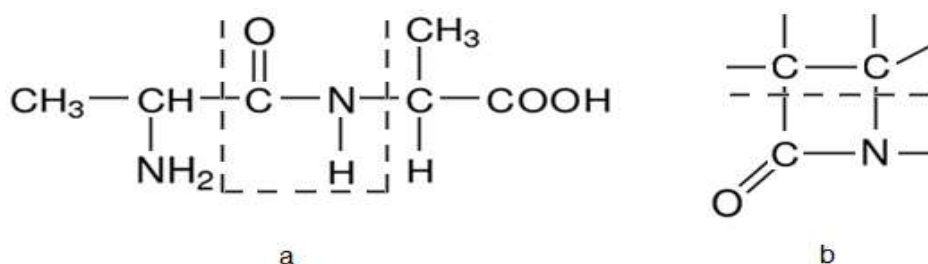
Strukturno svi cefalosporini su derivati cefalosporanske kiseline, odnosno acil derivati 7-amino-cefalosporanske kiseline (slika 2.14.).



Slika 2.14. Opšta formula cefalosporina [152]

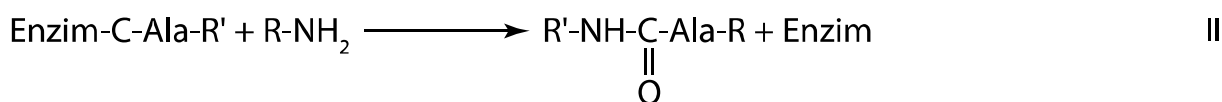
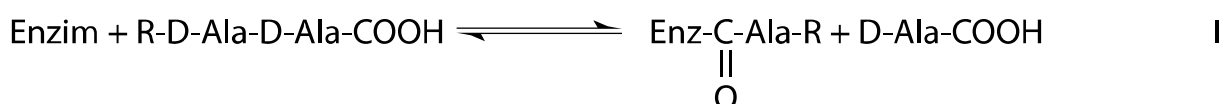
Prisustvo dvostruke veze u bicikličnom prstenu je uslov za antimikrobnu aktivnost. Izomerizacijom položaja dvostruke veze npr. u položaj 3 dovodi do potpunog gubitka antimikrobne aktivnosti. U svojoj strukturi imaju azetidonski prsten kondenzovan na dihidrotiazinski prsten kao i funkcionalne grupe na poziciji R2 bicikličnog prstena. Ovo dozvoljava da se na poziciju grupe R3 uvide molekulske varijacije kao i da se utiče na promjene osobina mijenjajući grupe na poziciji R1. Mijenjanjem supstituenata u poziciji R2, dobijeni su korisni lijekovi sa širim antibakterijskim spektrom. Pored toga, mnogi od ovih novih lijekova pokazali su veliku otpornost na enzim β -laktamazu. Varijacija supstituenata na poziciji R3 uticala je na faktore kao što su nivo i brzina apsorpcije, distribucija kroz tkivo i metaboličke osobine.

Svi cefalosporini imaju sličan mehanizam antimikrobne aktivnosti. Prodiru u unutrašnjost bakterijske ćelije kroz kanale (porine) i vezuju se za specifične bakterijske proteine, poznate pod nazivom *penicilin vezujući proteini* (PBP) odnosno enzime *peptidil-transferaze*. Osnovna biološka uloga ovih proteina je stvaranje *peptidoglikana* [153] koji učestvuju u izgradnji ćelijskog zida bakterija. Strukturna istraživanja pokazuju da cefalosporini imaju stereohemijsku sličnost sa dipeptidom D-alanil-D-alaninom, koji je zastupljen u strukturi peptidoglikana. Utvrđena je korelacija rastojanja između prisutnih heteroatoma i funkcionalnih grupa, slobodne karboksilne grupe dipeptida i antibiotika. Strukturna sličnost beta-laktamskih antibiotika i navedenog dipeptida prikazana je na slici 2.15.



Slika 2.15. Stereohemijski odnos između a) D-alanil-D-alanina i b) β -laktamskih antibiotika [153]

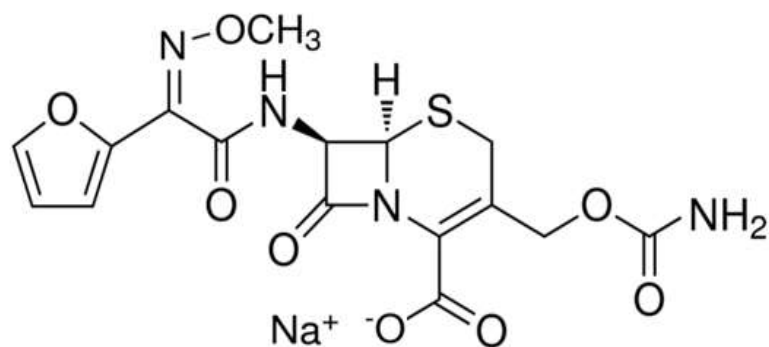
Baktericidni efekat β -laktamskih antibiotika postiže se prekidanjem sinteze ćelijskog zida, inhibiranjem grupa enzima koji omogućavaju spajanje D-alanil peptida u peptidoglikanski lanac. Inhibiranje se vrši na način da cefalosporini zbog sličnosti u strukturi sa D-alanil peptidom, reaguju sa PBP i tako sprečavaju biosintezu peptidoglikana [154]. Proces izgradnje ćelijskog zida bakterija uključuje dva koraka, a to su karboksipeptizacija (I) i transpeptizacija (II) [151].



Beta-laktamski lijekovi inhibiraju ove reakcije zbog analogije u strukturi sa D-alanil-D-alaninom koji je dio peptidoglikana. Remecenje integriteta ćelijskog zida bakteriju čini podložnom prekomjernom ulasku vode, a konačan efekat je (uz nagomilavanje prekursora peptidoglikana) baktericidan.

2.4.1.2. Struktura i karakteristike cefuroksima

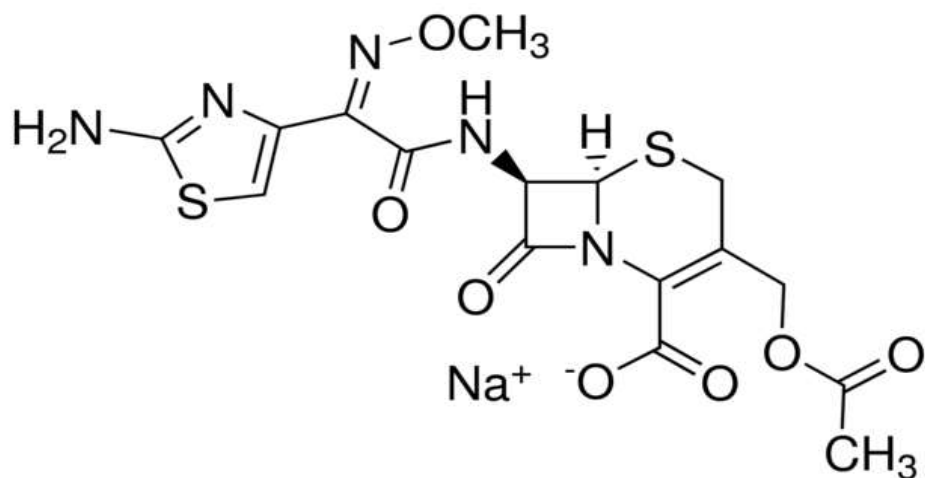
Cefuroksim (slika 2.16.) je amorfni bijeli prah, temperature topljenja 240-245 °C, dobro je rastvorljiv u vodi, teško u alkoholu a praktično nerastvorljiv u etru, acetonu i hloroformu. U vodenom rastvoru ima $\text{pK}_a=2,5$ [155]. Djelotvoran je protiv gram pozitivnih koka i gram negativnih bacila, kao što je *E. coli* [156].



Slika 2.16. Hemijska struktura cefuroksima

2.4.1.3. Struktura i karakteristike cefotaksima

Cefotaksim (slika 2.17.) je bijeli prah, temperature topljenja 162-163 °C, dobro je rastvorljiv u vodi a teško u alkoholu. U vodenom rastvoru ima sljedeće pKa vrijednosti: pKa₁=2,1, pKa₂=3,4 i pKa₃=10,9 [157]. Djelotvoran je protiv gram negativnih mikroorganizama [157].



Slika 2.17. Hemijska struktura cefotaksima

2.4.2. ANALGETICI

Analgetici smanjuju ili potpuno otklanjaju bol pri čemu ne utiču na svijest i receptore osjećaja. Dije se na [158]:

- opioidne -“narkotičke” analgetike
- antipiretičke -“nenarkotičke” analgetike.

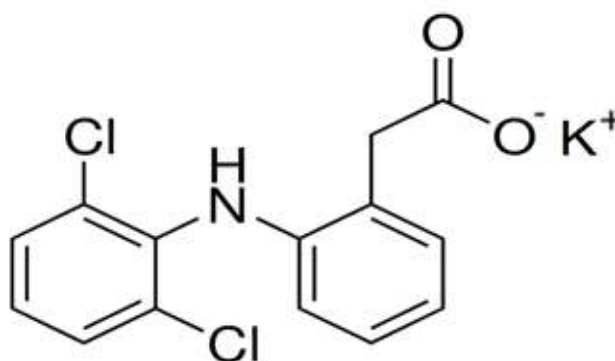
Svi opioidni analgetici stvaraju zavisnost u manjoj ili većoj mjeri, dok antipiretički analgetici ne stvaraju zavisnost. Takođe, razlikuju se prema mehanizmu djelovanja.

Antipiretički analgetici se samostalno koriste za ublažavanje slabijeg bola, dok se u slučaju jakog bola kombinuju sa opioidnim analgeticima.

2.4.2.1. Struktura i karakteristike diklofenaka

Diklofenak spada u antipiretičke (neopioidne) analgetike, odnosno spada u grupu nesteroidnih antiinflamatornih i antireumatskih lijekova (NSAIL) prema ATC klasifikaciji [159]. Izraz nesteroidni koristi se kako bi se ova grupa lijekova razlikovala od steroida koji imaju slično djelovanje [160]. Pored analgetskog djelovanja pokazuje i antipiretičko, antiinflamatorno i antireumatsko djelovanje. Komercijalno je dostupan u obliku natrijumove ili kalijumove soli (rastvorljiviji oblik) kao i u obliku dietilamina. Jedan je od najčešće korištenih analgetika iz ove grupe.

Strukturno diklofenak je derivat aminofenilsirćetne kiseline (slika 2.18.).



Slika 2.18. Hemijska struktura diklofenaka

Djelovanje diklofenaka se zasniva na neselektivnoj inhibiciji ciklooksigenaze (COX), enzima koji katalizuje biosintezu prostaglandina-molekula glasnika u procesu inflamacije [161]. Ciklooksigenaza se javlja kao izoenzim COX-1 (normalno prisutan u organizmu i reguliše fiziološke funkcije) i izoenzim COX-2 (javlja se u organizmu pri upalnim procesima). Zbog svoje neselektivne blokade COX-1 i COX-2 diklofenak izaziva brojne smetnje pri dužoj primjeni.

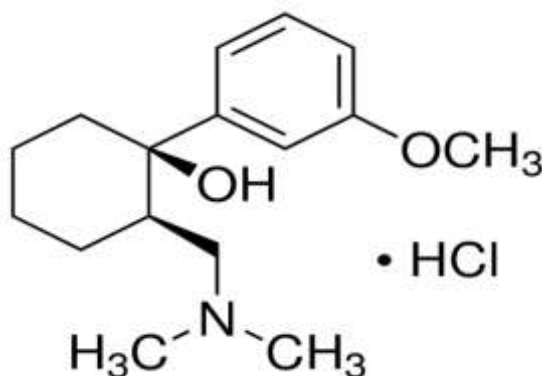
Pored inhibicije COX-a, nedavno su identifikovani još neki mehanizmi djelovanja koji mogu doprinijeti smanjenju bolova [162]:

- Blokiranje naponsko-zavisnih natrijumskih kanala (posle aktivacije kanala, diklofenak inhibira njegovu reaktivaciju poznatu i kao inhibicija faze)
- Blokada ionskih kanala senzornih kiselina
- Pozitivna alosterna modulacija kanala KCNK i BK-kalija (diklofenak otvara ove kanale, što dovodi do hiperpolarizacije ćelijske membrane).

Diklofenak je bijeli prah, temperature topljenja 246 °C [163], dobro je rastvorljiv u etanolu i metanolu a nešto slabije u vodi [164]. U vodenom rastvoru ima $pK_a=4$ [165].

2.4.2.2. Struktura i karakteristike tramadola

Tramadol (slika 2.19.) spada u opioidne (“narkotičke”) analgetike, odnosno spada u grupu ostali opioidi prema ATC klasifikaciji [166]. Centralno djelujući je analgetik sa niskim afinitetom za opioidne receptore i koristi se za liječenje umjerenog do jakog bola. Komercijalno je dostupan u obliku racemske smjese, odnosno mješavine R- i S-stereoizomera [167].



Slika 2.19. Hemijska struktura tramadola

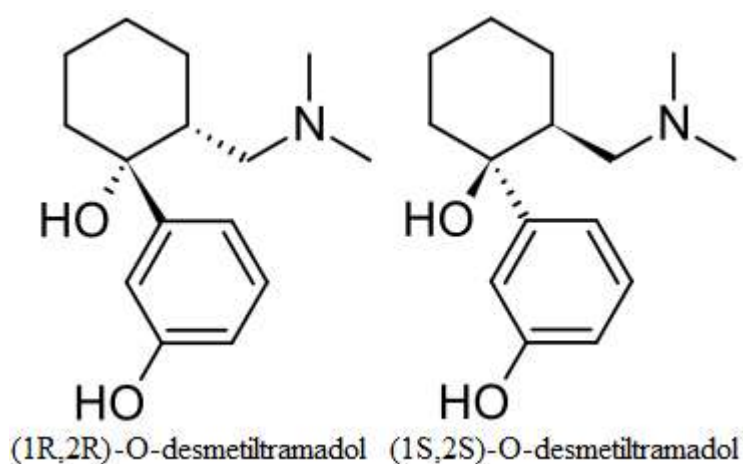
Iako spada u opioidne analgetike, prema istraživanju Svjetske zdravstvene organizacije o zavisnosti od droga u 2014. godini tramadol je svrstan u grupu lijekova sa niskim potencijalom za zloupotrebu i zavisnost [168].

Strukturno tramadol je sintetički 4-fenil piperidinski analog kodeina (slika 2.19.).

Tramadol kao i svi opioidni analgetici djeluje vezujući se za tzv. opioidne receptore u centralnom nervnom sistemu. Opioidni receptori se klasifikuju kao OP_1 (delta), OP_2 (kapa) i OP_3 (mi). Tramadol kao racemska smjesa pokazuje različite afinitete za različite receptore. Tako je (+) - tramadol selektivni agonist OP_3 (mi) receptora i prije svega inhibira ponovno

uzimanje serotonina, dok je (-) tramadolu daleko manjoj mjeri agonist OP_1 (delta) opioidnog receptora i OP_2 (kapa) receptora i inhibira ponovno uzimanje noradrenalina. Djelovanje ova dva enantiomera je komplementarno i njihovim sinergijskim djelovanjem dolazi do analgetičkog djelovanja ($\pm$) –tramadola [169,170].

Tramadol deluje na opioidne receptore kroz svoj glavni aktivni metabolit desmetiltramadol (slika 2.20.), koji ima čak 700 puta veći afinitet prema OP_3 (μ) receptoru u odnosu na tramadol [171]. U testovima funkcionalne aktivnosti, desmetiltramadol aktivira receptor aktivnošću kao morfin [172]. Kao takav, desmetiltramadol je isključivo odgovoran za opioidne efekte tramadola [173].



Slika 2.20. Hemijska struktura desmetiltramadola [173]

Tramadol je bjeličasti kristalni prah [174], temperature topljenja je 181-182 °C [175], dobro je rastvorljiv u etanolu i metanolu a nešto slabije u vodi (174). U vodenom rastvoru ima $pK_{a1}=8,3$ i $pK_{a2}=9,41$ [176].

3. MATERIЈAL I METODE

3.1. MATERIJAL

3.1.1. PAMUČNI ZAVOJ

Selektivno oksidovana celulozna vlakna, dobijena su oksidacijom komercijalnog kaliko zavoja (100% celuloza) proizvođača „Niva“, (Žabalj, Srbija). Dimenzije zavoja su 8cm x 5m, finoća pređe Nm 50/1, a gustina tkanja 24 niti/cm².

3.1.2. HEMIHALIJE

- Azotna kiselina, HNO₃ - Lach:ner, Češka
- Fosforna kiselina, H₃PO₄ - Lach:ner, Češka
- Natrijum-nitrit, NaNO₂ - Lach:ner, Češka
- Natrijum-hidroksid, NaOH - Lach:ner, Češka
- Kalcijum-acetat, C₄H₆O₄Ca x H₂O – Acros, Njemačka
- Fenoltalein, C₂H₁₄O₄ – Merck, Njemačka
- Etanol, C₂H₅OH, apsolutni - Zorka Pharma, Srbija
- Aceton, C₃H₆O – J.T. Baker, Holandija
- Hidroksil-amin hidrohlorid, NH₄ x HCl - Lach:ner, Češka
- Hlorovodonična kiselina, HCl - Lach:ner, Češka
- Natrijum-hlorit, NaClO₂ – Acros, Njemačka
- Sirćetna kiselina, glacijska, CH₃COOH - Zorka Pharma, Srbija
- Natrijum-hlorid, NaCl - Lach:ner, Češka
- Kalijum-jodid, KI – Alkaloid, Makedonija
- Skrob, (C₆H₁₀O₅)_n – Alkaloid, Makedonija
- Natrijum-tiosulfat, Na₂S₂O₃ - Fisher Scientific, UK
- Natrijum-sulfat, Na₂SO₄ - Zorka Pharma, Srbija
- Jod, I₂ – Fulka AG, Švajcarska

3.1.3. ANTIBIOTICI I ANALGETICI KORIŠTENI ZA DOBIJANJE BIOLOŠKI AKTIVNOG VLAKNA

Za eksperiment su korišteni sljedeći lijekovi: antibiotici cefuroksim i cefotaksim, i analgetici diklofenak i tramadol. Svi lijekovi su bili u praškastom obliku kao čista aktivna supstanca.

3.1.3.1. Cefuroksim

Cefuroksim je korišten u obliku cefuroksim-natrijuma ($C_{16}H_{15}N_4O_8SNa$), proizvođača Alkaloid, Makedonija, molekulske mase $M=446,37$ g/mol. Pakovanje cefuroksima (komercijalni naziv Furexa) je u obliku praška za injekciju kao čista aktivna supstanca.

3.1.3.2. Cefotaksim

Cefotaksim je korišten u obliku cefotaksim-natrijuma ($C_{16}H_{16}N_5O_7S_2Na$) proizvođača MN pharmaceuticals, Turska, molekulske mase $M=477,48$ g/mol. Pakovanje cefotaksima (komercijalni naziv Betaksim) je u obliku praška za injekciju kao čista aktivna supstanca.

3.1.3.3. Diklofenak

Diklofenak u obliku diklofenak kalijuma ($C_{14}H_{11}ClNO_2K$) proizvođača Amoli Organics PVT LTD, Indija, molekulske mase $M= 334,23$ g/mol, nabavljen je iz veleprodaje, u obliku bijelog praha kao čista aktivna supstanca.

3.1.3.4. Tramadol

Tramadol je korišten u obliku tramadol hidrohlorida ($C_{16}H_{26}NO_2Cl$) proizvođača Sun Pharmaceuticals industries LTD, Indija, molekulske mase $M= 229,84$ g/mol. Tramadol je nabavljen direktno iz veleprodaje, u obliku bijelog praha kao čista aktivna supstanca.

3.1.4. HRANLJIVE PODLOGE I TEST MIKROORGANIZMI

Korištene su sljedeće hranljive podloge:

- Miler hinton agar (MHA) -Liofilchem
- Miler hinton bujin (MHB) -Liofilchem
- Hranljivi agar (HA)-Torlak
- Hranljivi bujon (HB) -Torlak

Kao testni mikroorganizmi korištene su sljedeće kulture:

- *Escherichia coli* WDCM 00013
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- *Bacillus cereus* WDCM 00151

3.2. METODE

3.2.1. OKSIDACIJA CELULOZNOG ZAVOJA

Oksidacija celuloznog zavoja u cilju dobijanja oksidovane celuloze (OC) vršena je smjesom HNO_3 i H_3PO_4 u odnosu 2:1 i NaNO_2 (1,43%), prema postupku koji su predložili Kumar i Yang [111,113].

Podešavanjem vremena i temperature oksidacije, dobijena je oksidovana celuloza sa različitim sadržajem karboksilnih grupa i različitim fizičkim karakteristikama, pogodna za vezivanje analgetika i antibiotika.

60 g celuloznog zavoja uroni se u smjesu 560 ml azotne i 280 ml fosforne kiseline i potom se doda 14 g natrijum-nitrita. Dolazi do burne reakcije, nakon čijeg smirivanja se reakciona smjesa promiješa, poklopi satnim staklom i ostavi na temperaturi 25°C u trajanju od 5 i 10 časova. Tokom trajanja oksidacije, smjesa se povremeno promiješa. Nakon isteka zadanog vremena, proces oksidacije se zaustavlja dodavanjem destilovane vode u suvišku, zatim se oksidovana celuloza ispira hladnom destilovanom vodom do postizanja pH vrijednost približno 4. Na kraju se uzorci isperu sa malo acetona.

3.2.2. ODREĐIVANJE SADRŽAJA KARBOKSILNIH GRUPA

Sadržaj karboksilnih grupa određen je kalcijum-acetatnom metodom, opisanoj u literaturi [177].

Uzorak oksidovane celuloze se defibrira, odvaže 0,5 g i potopi u 50 ml 2% rastvora kalcijum-acetata u trajanju od 30 minuta. Pripremljena smjesa se nakon isteka vremena titrira 0,1 mol/L rastvorom natrijum-hidroksida uz fenolftalein kao indikator.

Sadržaj karboksilnih grupa se izračunava prema formuli:

$$\text{COOH} = \frac{0,1\text{M} \cdot V(\text{NaOH})}{m \cdot \left(1 - \frac{w}{100}\right)}, \text{ mmol/g}$$

gdje je: 0,1 M – molaritet NaOH, mmol/ml
 V (NaOH) – zapremina rastvora NaOH utrošena za titraciju, ml
 m – masa vlakna koje se tretira, g
 w – sadržaj vlage, %

3.2.3. ODREĐIVANJE SADRŽAJA KARBONILNIH GRUPA

Sadržaj karbonilnih grupa određen je hidrosilaminskom metodom, opisanoj u literaturi [178]. Uzorak oksidovane celuloze se defibrira, odvaže 1,0 g i potopi u 100 ml reagensa (rastvor hidrosilamin-hidrohlorida u rastvoru NaOH koncentracije 0,1 mol/L), pokrije folijom i zagrijava dva sata na 50 °C, a zatim ohladi na 25 °C. Uzme se 50 ml rastvora i titrira sa 0,1 mol/L rastvorom HCl, dok se ne postigne pH=3,2.

Sadržaj karbonilnih grupa se izračunava prema formuli:

$$\text{CO} = \frac{0,1\text{M} \cdot V(\text{HCl})}{m \cdot \left(1 - \frac{w}{100}\right)}, \text{ mmol/g}$$

gdje je: 0,1 M – molaritet HCl, mmol/ml
 V (HCl) – zapremina rastvora HCl utrošena za titraciju, ml
 m – masa vlakna koje se tretira, g
 w – sadržaj vlage, %

3.2.4. ODREĐIVANJE SADRŽAJA ALDEHIDNIH GRUPA

Sadržaj aldehidnih grupa određen je metodom opisanoj u literaturi [111]. Aldehidne grupe se selektivno oksiduju u karboksilne grupe sa 0,2 mol/L rastvorom natrijum-hlorita (2 % m/v), pri pH=3 (podešeno dodavanjem 0,1 mol/L rastvora sirćetne kiseline) na sobnoj temperaturi na tamnom u trajanju od 72 časa. Zatim se sadržaj karboksilnih grupa odredi modifikovanom kalcijum-acetatnom metodom [179]. Sadržaj aldehidnih grupa se dobije oduzimanjem sadržaja karboksilnih grupa OC (netretiranih natrijum-hloritom) od sadržaja karboksilnih grupa istih uzorka OC nakon tretiranja natrijum-hloritom.

3.2.5. ODREĐIVANJE SORPCIJE VLAGE

Određivanje vlažnosti u oksidovanim celuloznim uzorcima vršeno je gravimetrijskom metodom prema standardu SRPS F.S3.101. Gravimetrijska metoda se zasniva na mjerenju mase prije sušenja, sušenju uzorka OC u laboratorijskom sušioniku i mjerenju mase poslije sušenja, do konstantne mase. Sadržaj vlage se izračunava prema formuli:

$$w = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \cdot 100, \%$$

gdje je: m_1 – masa uzorka prije sušenja, g
 m_2 – masa uzorka posle sušenja, g

3.2.6. ODREĐIVANJE VRIJEDNOSTI VEZIVANJA VODE

Vrijednosti vezivanja vode (VVV) oksidovane celuloze određena je standardnom metodom centrifugiranja (ASTM D, 2402-78) koja se bazira na količini vode koju uzorci mogu da zadrže u sebi. Odvaja se 0,1 g uzorka koji se potapa u vodu 1h na sobnoj temperaturi. Uzorak se zatim prebaci u kivetu, centrifugira 5 minuta pri brzini 5000 obrtaja/min. Vrijednost vezivanja vode se izračunava prema formuli [179]:

$$VVV = \frac{m_1 - m_2}{m_2} \cdot 100, \%$$

gdje je: m_1 – masa uzorka nakon potapanja u vodu i centrifugiranja, g
 m_2 – masa suvog uzorka, g

3.2.7. ODREĐIVANJE PREKIDNE ČVRSTOĆE CELULOZNOG ZAVOJA

Određivanje prekidne sile i prekidnog izduženja vršeno je metodom prema standardu JUS F. S2. 017 na uređaju Shimadzu-autograph AGS-X (Japan). Rastojanje između klema je podešeno na 100 mm, a brzina gornje kleme je 100 mm/min. Pogon na dinamometru je pneumatski. Prekidna jačina zavoja izračunava se kao srednja vrijednost 5 mjerenja.

3.2.8. ODREĐIVANJE JODNOG BROJA I STEPENA KRISTALIČNOSTI

Određivanje jodnog broja vrši se metodom opisanom u literaturi [180] koja se zasniva na utvrđivanju količine vezanog joda u amorfnim područjima celuloznog vlakna.

Uzorak celuloznog zavoja mase 0,3 g se u boci za jodni broj prelije sa 2 ml jodnog rastvora (5 g I_2 +40g KI+50 ml H_2O), izmiješa, odstoji 3 minuta, zatim se dodaje zasićeni rastvor Na_2SO_4 i ostavi na tamnom mjestu 1h uz konstantno miješanje (poklopljena tresilica). Nakon stajanja, jodni broj se određuje indirektno, titracijom 50 ml uzorka u koji se doda 50 ml H_2O sa 0,01 mol/l rastvorom $Na_2S_2O_3$ uz skrob kao indikator. Izračunava se kao srednja vrijednost 3 mjerenja.

Jodni broj se izračunava prema formuli [181]:

$$I_{\text{broj}} = \frac{V \cdot 2,04 \cdot 2,54}{m \cdot \left(1 - \frac{w}{100}\right)}, \text{ mg } I_2/\text{g OC}$$

gdje je: v – zapremina rastvora $Na_2S_2O_3$ utrošena za titraciju, ml
 m – masa uzorka, g
 w – sadržaj vlage, %

Adsorpcija joda se odvija u amorfnim područjima [182], i preko njega možemo odrediti stepen kristaličnosti. Indeks kristaličnosti se izražava kao recipročna vrijednost jodnog broja.

Stepen kristaličnosti se izračunava prema formuli [183]:

$$\text{CrI} = 100 - \left(\frac{I_{\text{broj}}}{412} \cdot 100 \right), \%$$

3.2.9. AKTIVIRANJE CELULOZNOG VLAKNA VEZIVANJEM Na^+ KATJONA

Aktiviranje celuloznog vlakna vršeno je metodom opisanom u literaturi [184]. Uzorak celuloznog zavoja mase 1 g prelije se sa 100 ml smjese 0,1 mol/L natrijum-hidroksida i 0,1 mol/L natrijum-hlorida u odnosu 1:1 i ostavi poklopljen 30 minuta uz povremeno miješanje. Nakon isteka vremena, ispira se destilovanom vodom i spreman je za vezivanje lijeka.

3.2.10. SORPCIJA ANTIBIOTIKA I ANALGETIKA NA OKSIDOVANU CELULOZU

Vezivanjem antibiotika i analgetika na oksidovanu celulozu sa različitim sadržajem karboksilnih grupa vršeno je u statičkim uslovima. Uzorci oksidovanog zavoja (1 g) potapani su u 200 ml vodenog rastvora cefuroksima, cefotaksima, diklofenaka i tramadola, koncentracija $c=1,7 \cdot 10^{-3}$, $2,5 \cdot 10^{-3}$, $3,4 \cdot 10^{-3}$, $4,3 \cdot 10^{-3}$ i $5,1 \cdot 10^{-3}$ mol/L na sobnoj temperaturi (25 ± 1 - 26 ± 1 °C) tokom 24 časa. Spektrofotometrijsko mjerenje količine lijeka u rastvoru vršeno je nakon 5, 15 i 30 minuta, te nakon 1 i 24 sata. Nakon provedene sorpcije uzorci celuloznog materijala sa vezanim ljekovitim preparatima ispirani su destilovanom vodom, ocijeđeni i osušeni na sobnoj temperaturi.

Rezultati sorpcije su prikazani tabelarno, krivom kinetike sorpcije i fitovani za dva Lagranžova modela, pseudo-prvog i pseudo-drugog reda da bi se odredila vrsta sorpcije.

Linearna forma kinetike pseudo-prvog reda data je formulom:

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t$$

gdje je: q_t i q_e —količina vezanog lijeka u vremenu t i maksimalna količina vezanog lijeka, mmol/g OC
 k_1 —konstanta, 1/min
 t —vrijeme, min

Linearna forma kinetike pseudo-drugog reda data je formulom:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t$$

gdje je: q_t i q_e —količina vezanog lijeka u vremenu t i maksimalna količina vezanog lijeka, mmol/g OC
 k_2 —konstanta, mmol/g·min.
 t —vrijeme, min

Kinetika sorpcije koja se odvija po modelu pseudo-prvog reda ukazuje da se prilikom sorpcije dominantno dešava adsorpcija a po modelu pseudo-drugog reda da se prilikom sorpcije istovremeno dešava i adsorpcija i hemisorpcija.

3.2.11. DESORPCIJA ANTIBIOTIKA I ANALGETIKA SA OKSIDOVANE CELULOZE

Otpuštanje antibiotika i analgetika sa oksidovane celuloze vršeno je u statičkim uslovima. Uzorci oksidovane celuloze sa vezanim lijekom potapani su u 100 ml fiziološkog rastvora (0,95 % NaCl) na sobnoj temperaturi (25 ± 1 °C) tokom 24 sata. Spektrofotometrijsko mjerenje količine lijeka u rastvoru vršeno je nakon 1, 2, 3,4 i 24 sata.

3.2.12. ODREĐIVANJE SADRŽAJA VEZANIH I OTPUŠTENIH ANTIBIOTIKA I ANALGETIKA SA OKSIDOVANE CELULOZE

Količine vezanih i otpuštenih antibiotika i analgetika sa oksidovanog celuloznog vlakna određene su spektrofotometrijski u rastvorima u kojima je vršena sorpcija i desorpcija, kod apsorpcionog maksimuma ispitivanih antibiotika i analgetika.

Mjerenja su vršena na UV-VIS spektrofotometru Perkin Elmer model Lambda 25 (SAD), na karakterističnoj talasnoj dužini. Cefuroksim je određen kod $\lambda_{\max}$ 274 nm, cefotaksim kod $\lambda_{\max}$ 233 nm, diklofenak kod $\lambda_{\max}$ 276 nm i tramadol kod $\lambda_{\max}$ 271 nm.

3.2.13. FTIR

FTIR spektroskopija je korištena za praćenje hemijske strukture OC i uticaja trajanja oksidacije na sadržaj karboksilnih grupa, kao i praćenje interakcija polimernog matriksa sa

vezanim antibioticima i analgeticima. FTIR spektri su snimljeni na spektrofotometru FTIR-BRUKER, Tensor 27 (SAD), u području $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$, primjenom ATR PLATINUM modula sa rezolucijom od 4 cm^{-1} i 16 skenova.

3.2.14. SEM

Skenirajućom elektronskom mikroskopijom snimljene su morfološke karakteristike OC, kao i OC sa vezanim lijekovima. Skenirajući mikroskop služi za dobijanje uvećane slike difrakcijom visokoenergetskih elektrona. Uzorci veličine $1\times 1\text{ cm}$ se zalijepe na nosač preko obostrano ljepljive karbonske trake i naparavaju zlatom u uređaju za katodno naparavanje 3ΔL-TEC SCD005 tokom 4 minuta sa udaljenosti od 50 mm pomoću struje od 30 mA, čime se dobija provodna površina. Snimanje je vršeno SEM mikroskopom tipa JEOL-JSM-5300 (Japan). Kao izvor elektrona korišćeno je volframsko vlakno, a upotrijebljena je emisiona struja od 20 V.

3.2.15. TESTIRANJE ANTIBAKTERIJSKOG DJELOVANJA OKSIDOVANOG CELULOZNOG VLAKNA SA VEZANIM ANTIBIOTICIMA

Testiranje antimikrobnog djelovanja OC sa vezanim antibioticima vršeno je *in vitro* određivanjem inhibitorne aktivnosti modifikovanom metodom difuzije na agarnoj ploči [185] i prema standardu JIS L 1902:1990 [186].

Kulture mikroorganizama koje su korištene u testiranju su sa hranljivog agara (HA) na kojem su čuvane, presijane na hranljivi bujon (HB) i stavljene na inkubaciju na 37°C u trajanju od 24 sata. Nakon toga su presijane na Miler hinton agar (MHA) i ponovo stavljene na inkubaciju 24 sata na 37°C . Priprema kultura za inokulaciju je vršena direktnom suspenzijom kolonija sa MHA u Miler hinton bujonu (MHB) (*S. aureus*) ili iz logaritamske faze u MHB (*E. coli* i *B. cereus*). Početni broj mikroorganizama za testiranje antibakterijskog djelovanja podešen je spektrofotometrijski na apsorbanciju koja se podudara sa 0.5 McFarland standardom na 620 nm što odgovara $1,5\cdot 10^8\text{ CFU/ml}$ [185].

3.2.15.1. Određivanje inhibitorne aktivnosti metodom difuzije na agarnoj ploči

Uzorci OC sa hemijski vezanim antibioticima isječeni su na kvadratiće veličine $1\times 1\text{ cm}$ i tretirani UV lampom (45 minuta na 254 nm). Pripremljene kulture mikroorganizama su

sterilnim vatenim štapićem zasijavane na Petri šolje sa MHA [185]. Sterilisani kvadratići OC sa vezanim antibiotikom su nanošeni na zasijanu podlogu sa mikroorganizmima i stavljeni na inkubaciju 24 (48) sati na 37°C. Kao negativna kontrola (slijepa proba) služili su uzorci oksidovanog celuloznog vlakna bez vezanog antibiotika, a kao pozitivna diskovi antibiotika: Eritromicin (15 µg), Ciprofloksacin (5 µg), Ampicilin (10 µg) i Gentamicin (10 µg). Širina zone inhibicije je mjerena nakon inkubacije i izračunavana prema formuli:

$$W = \frac{d_1 - d_2}{2}, \text{ mm}$$

gdje je: W- zona inhibicije, mm
 d_1 - širina zone inhibicije, mm
 d_2 - širina uzorka OC, mm

Ispitivanje antimikrobnog djelovanja vršeno je na 12 uzoraka i rezultati su dati kao dijametar zone inhibicije ± standardna devijacija.

3.2.15.2. Određivanje stabilnosti veze vlakno-antibiotik

Stabilnost veze vlakno-lijek testirana je stavljanjem uzoraka OC sa vezanim antibiotikom na sterilnu agarnu podlogu (MHA) u periodu od 24 sata na 37 °C, nakon čega su uzorci premješteni u Petri šolje zasijane test mikroorganizmima i inkubirani na 37 °C tokom 24 sata. Poslije ovog vremena vršeno je mjerenje zone inhibicije.

Ispraznjene Petri šolje sa sterilnim MHA nakon vađenja uzoraka takođe su zasijavane kulturama i termostatirane na 37 °C tokom 24 sata. Na njima je praćena inhibicija rasta mikroorganizama i izražavana procentualno u odnosu na pokrivenost podloge izraslim kolonijama. Na ovaj način su dobijeni podaci o otpuštanju aktivne supstance odnosno antibiotika sa OC u agarnu podlogu u toku 24 sata.

Za određivanje stabilnosti veze OC-antibiotici na sterilnoj hranljivoj podlozi nakon skidanja uzorka OC vršena su 3 mjerenja i rezultati su prikazani kao procenat inhibicije ± standardna devijacija.

4. REZULTATI I DISKUSIJA

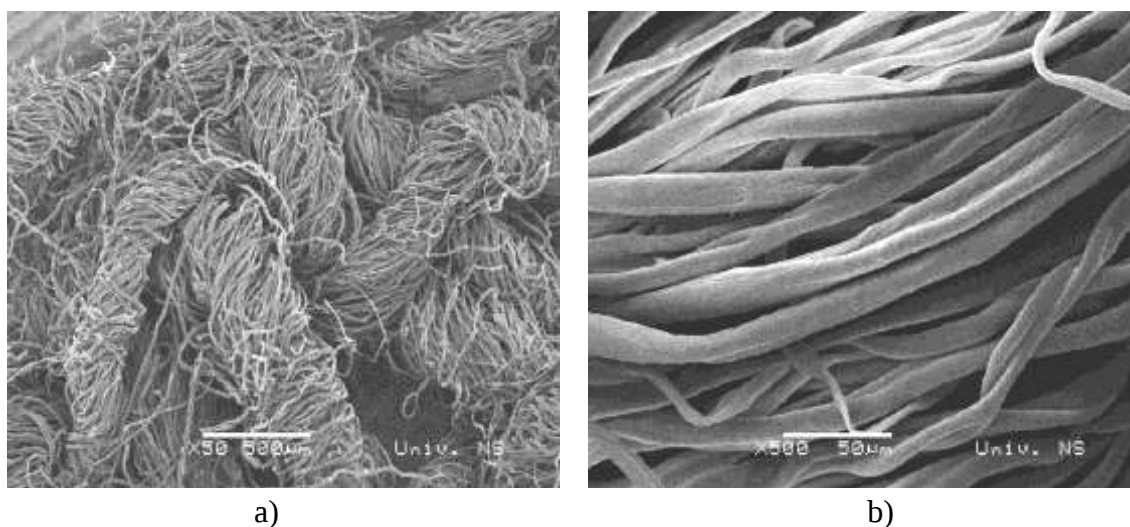
4.1. KARAKTERISRTIKE NEMODIFIKOVANE CELULOZE

Kao polazni materijal u radu korištena je nemodifikovana celuloza u obliku zavoja, čije su karakteristike prikazane u tabeli 4.1.

Tabela 4.1. Karakteristike nemodifikovane celuloze

Karakteristike nemodifikovane celuloze	Vrijednost
Finoća pređe, Nm	50/1
Sorpcija vlage, %	3,03
Vrijednosti vezivanja vode, %	35,64
Vrijednost prekidne čvrstoće, N	170,58

Na slici 4.1. prikazan je izgled nemodifikovanog pamučnog zavoja a) i njegove morfološke karakteristike b).

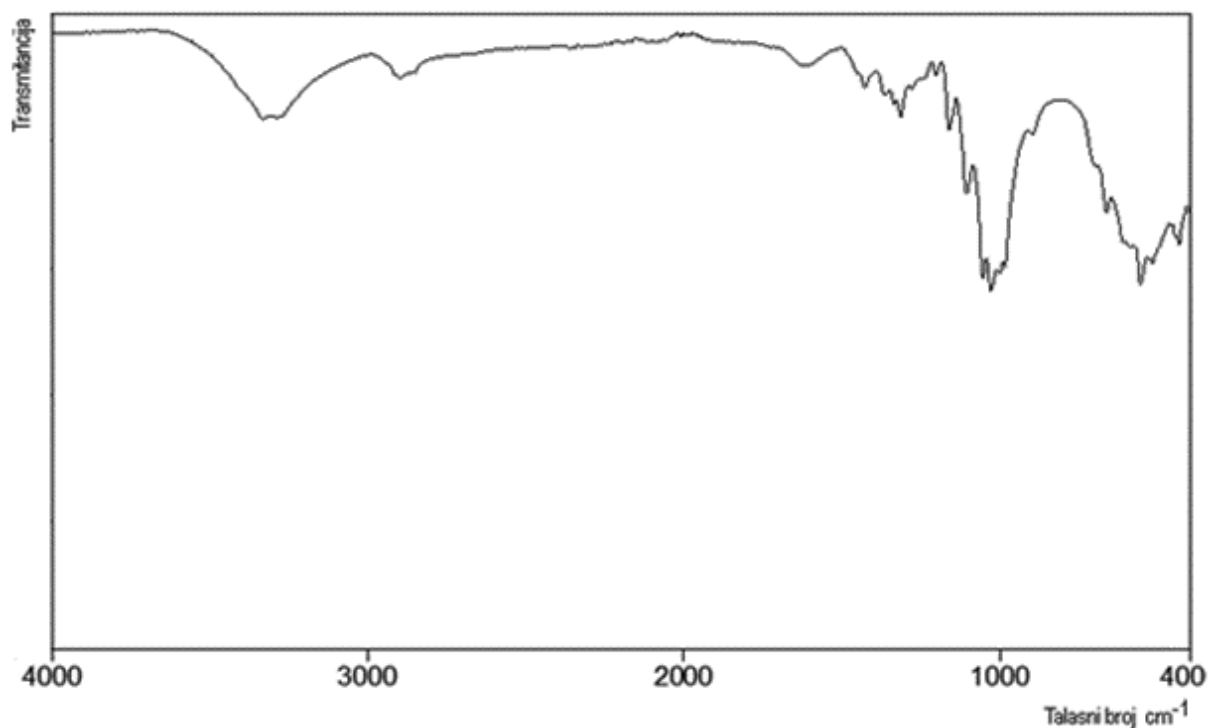


Slika 4.1. SEM mikrofografija a) izgled nemodifikovane celuloze, razmjernik: 500 μm i b) morfološke karakteristike nemodifikovane celuloze, razmjernik: 50 μm

Nemodifikovana celuloza se karakteriše mikrohrapavošću i uvijenošću. Na površini vlakna se nalaze uporedno postavljene žljebovi i brazde koji su spiralno raspoređeni oko uzdužne ose vlakna.

Na slici 4.2. prikazan je FTIR spektar nemodifikovane celuloze, koji odgovara literaturnim spektrima celuloze [86,187].

Celuloza ima karakteristične pikove kod 3300 cm^{-1} za vibracije istezanja O–H grupe, 2910 cm^{-1} za vibracije istezanja C–H, 1610 cm^{-1} za C=O istezanje karbonilne grupe, 1360 i 1430 cm^{-1} za vibracije istezanja C–OH grupe u ravni, i kod 1053 cm^{-1} za vibracije istezanja C–O grupe.



Slika 4.2. FTIR spektar nemodifikovane celuloze

4.2. KARAKTERISTIKE OKSIDOVANE CELULOZE (OC)

Selektivnom oksidacijom celuloznog vlakna u obliku zavoja smjesom $\text{HNO}_3/\text{H}_3\text{PO}_4/\text{NaNO}_2$ oksiduju se primarne hidroksilne grupe u položaju C6 i kao proizvod se dobija 6-karboksiceluloza (slika 2.10.).

Oksidacija celuloze smjesom $\text{HNO}_3/\text{H}_3\text{PO}_4/\text{NaNO}_2$ je složen proces na koji utiče više faktora kao što su: omjer reaktanata u smjesi, vrijeme trajanja oksidacije, temperatura na kojoj se proces vrši kao i miješanje tokom procesa.

Proces oksidacije se odvija postepeno, prvo u amorfnim a zatim u kristalnim područjima celuloze. Na početku dolazi do nasumične oksidacije u amorfnim područjima celuloze, zatim se oksiduju površine kristalita. Do oksidacije unutrašnjih oblasti celuloze dolazi dužim trajanjem reakcije.

Stepen hidratacije amorfne celuloze je znatno veći u odnosu na hidrataciju kristalne celuloze, što utiče na brzinu hidrolize. Kod amorfne celuloze većina glikozidnih veza može biti hidrolizovana jer je visoko hidratizovana u vodi i vodenim rastvorima, dok su kod kristalne celuloze hidratizovani i pristupačni za hidrolizu samo lanci površinskih slojeva.

Oksidacijom zavoja na temperaturi $25 \pm 1^\circ\text{C}$ u trajanju od 5, 10 i 20 sati dobijeni su uzorci OC sa 0,547, 1,163 i 2,199 mmol/g OC karboksilnih grupa, respektivno. Pored karboksilnih grupa, oksidacijom se dobiju i karbonilne grupe. Sadržaj funkcionalnih grupa u dobijenim uzorcima OC dat je u tabeli 4.2. Određivanje aldehidnih grupa oksidacijom OC sa natrijum-hloritom pokazalo je da su sve karbonilne grupe keto grupe, što je u skladu sa prethodnim istraživanjima [111,113].

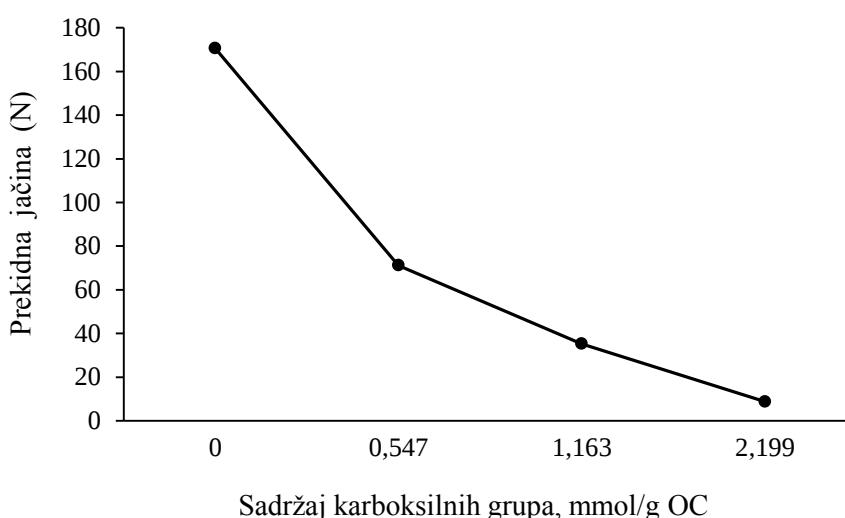
Tabela 4. 2. Karakteristike dobijene oksidovane celuloze

Reakcioni sistem $\text{HNO}_3/\text{H}_3\text{PO}_4$ (2:1 v/v) i NaNO_2 (1,43 % m/v)			
Temperatura $25 \pm 1^\circ\text{C}$			
Vrijeme oksidacije, h	Sadržaj karboksilnih grupa, mmol/g OC	Sadržaj karbonilnih grupa, mmol/g OC	Sadržaj aldehidnih grupa, mmol/g OC
5	0,547	0,312	--
10	1,163	0,609	--
20	2,199	1,191	--

Produžavanje procesa oksidacije preko 20 h i oksidacija na temperaturama iznad 25°C nije vršeno jer se pokazalo da pod tim uslovima dolazi do prekomjerne destrukcije vlakna [91].

Uporedo sa oksidacijom hidroksilnih grupa, dolazi i do kidanja glikozidnih veza polimernih lanaca celuloze i depolimerizacije molekule, odnosno do promjena u molekulskoj i nadmolekulskoj strukturi celuloze [188]. Do depolimerizacije dolazi usljed kiselosti smjese korištene za oksidaciju [189].

Posljedica depolimerizacije je smanjenje prekidne čvrstoće dobijenih uzoraka OC u odnosu na nemodifikovanu celulozu. Na slici 4.3. data je promjena prekidne čvrstoće uzoraka oksidovane celuloze.



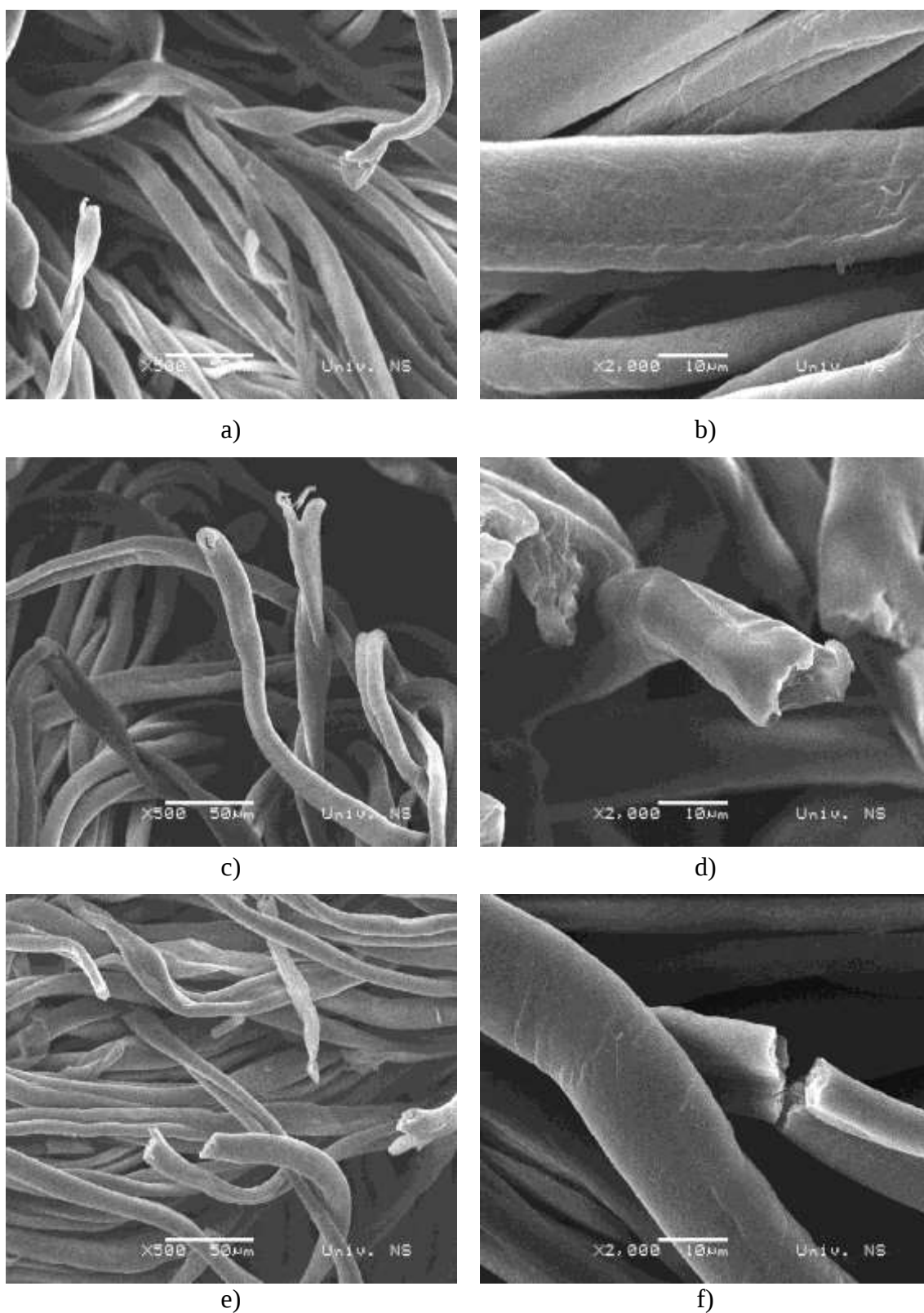
Slika 4.3. Uticaj vremena oksidacije na prekidnu čvrstoću

Prekidna čvrstoća uzoraka OC u odnosu na nemodifikovanu celulozu je značajno smanjena. Kod uzorka sa najmanjim sadržajem karboksilnih grupa 0,547 mmol/g OC dolazi do smanjenja za više od 50% u odnosu na nemodifikovani materijal.

Prekidna čvrstoća uzoraka OC mjerena je 10 mjeseci nakon njihovog dobijanja, jer su prvo rađeni eksperimenti sa vezivanjem ljekovitih preparata. Prema literaturnim podacima, skladištenjem OC dobijene oksidacijom sa N_2O_4 dužim od dva mjeseca dolazi do promjene boje i slabljenja mehaničkih karakteristika oksidovane celuloze [190], što je u saglasnosti sa rezultatima mjerenja prekidne čvrstoće uzoraka OC dobijenih sa oksidacionom smjesom koja je korištena u ovom radu.

Na slici 4.4. prikazan je uticaj hemijskog modifikovanja pamučnih vlakana na morfologiju površine vlakna. Djelovanjem oksidacione smjese $HNO_3/H_3PO_4/NaNO_2$, na celulozu dolazi do karakteristične topohemijske reakcije, usljed čega prvo dolazi do oksidacije primarnih

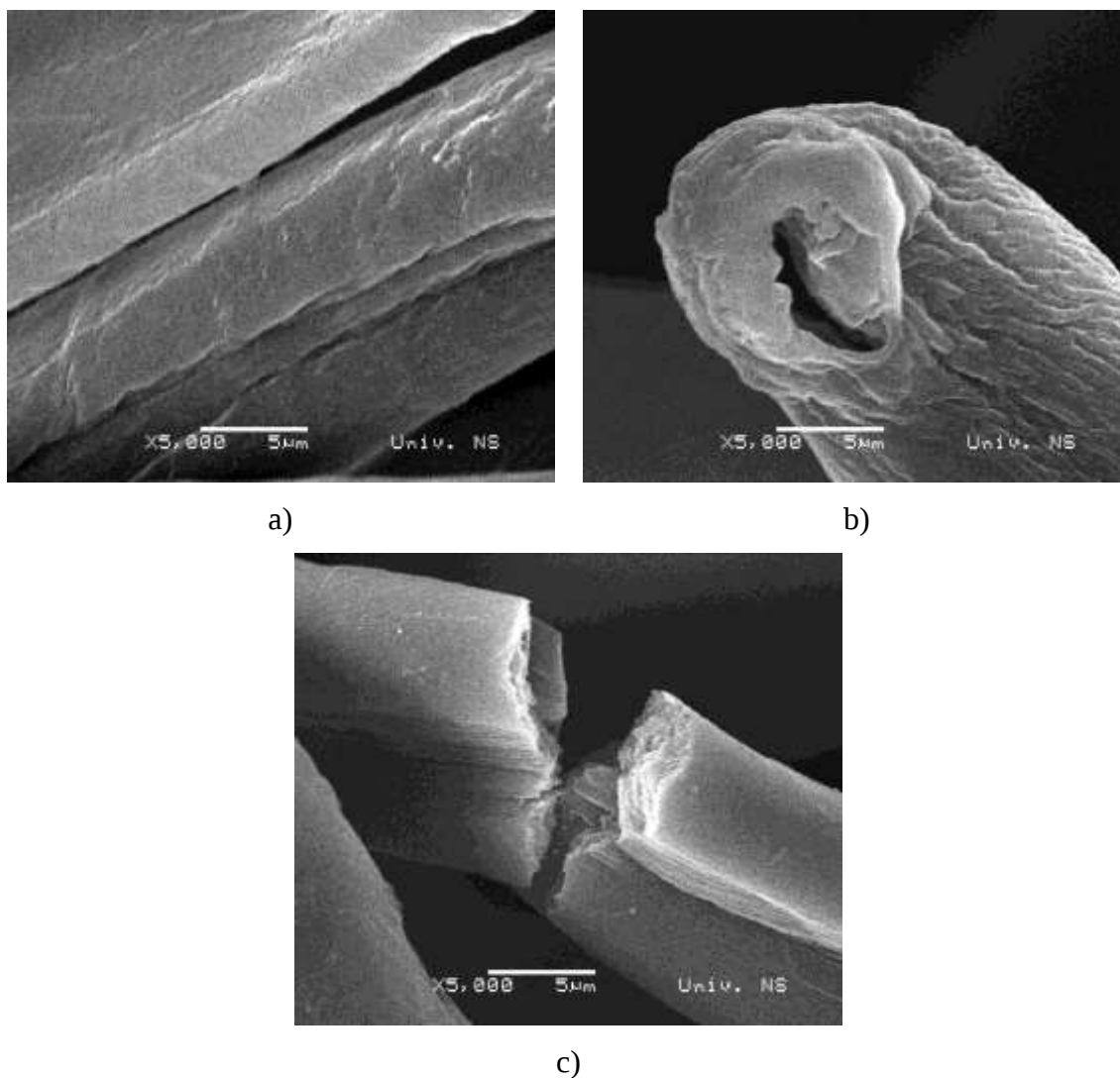
hidroksilnih grupa na glukopiranoznom prstenu. U određenim uslovima dolazi i do duboke destrukcije celuloze, koja se odvija u reakcionom površinskom sloju pamučnih vlakana.



Slika 4.4. SEM mikrografije oksidovanog celuloznog vlakna sa 0,547 (a, b), 1,163 (c, d) i 2,199 (e, f) mmol/g OC karboksilnih grupa, razmjernik: (a, c, e) 50 μm i (b, d, f) 10 μm

Kao što se može vidjeti na slici 4.4. a) i b), kod uzoraka oksidovane celuloze sa 0,547 mmol/g OC karboksilnih grupa nije došlo do značajne promjene izgleda površine ispitivanih vlakana. Međutim, sa porastom sadržaja karboksilnih grupa topografija se značajno mijenja. Kod vlakana sa 1,163 mmol/g OC karboksilnih grupa uočava se promjena u kutikularnom sloju, a kod vlakana sa 2,199 mmol/g OC karboksilnih grupa zbog dubljeg prodiranja reagensa dolazi do povećanja mikroporoznosti i u vlaknu se pojavljuju pukotine.

Promjene u morfologiji površine uzoraka OC saglasne su sa promjenama njihovih prekidnih čvrstoća. Smanjenju prekidne čvrstoće uzoraka OC sa porastom sadržaja karboksilnih grupa doprinosi povećanje broja vlakana koja imaju izraženu površinsku fibrilaciju, kao i vlakana koja su djelimično ili potpuno prekinuta.

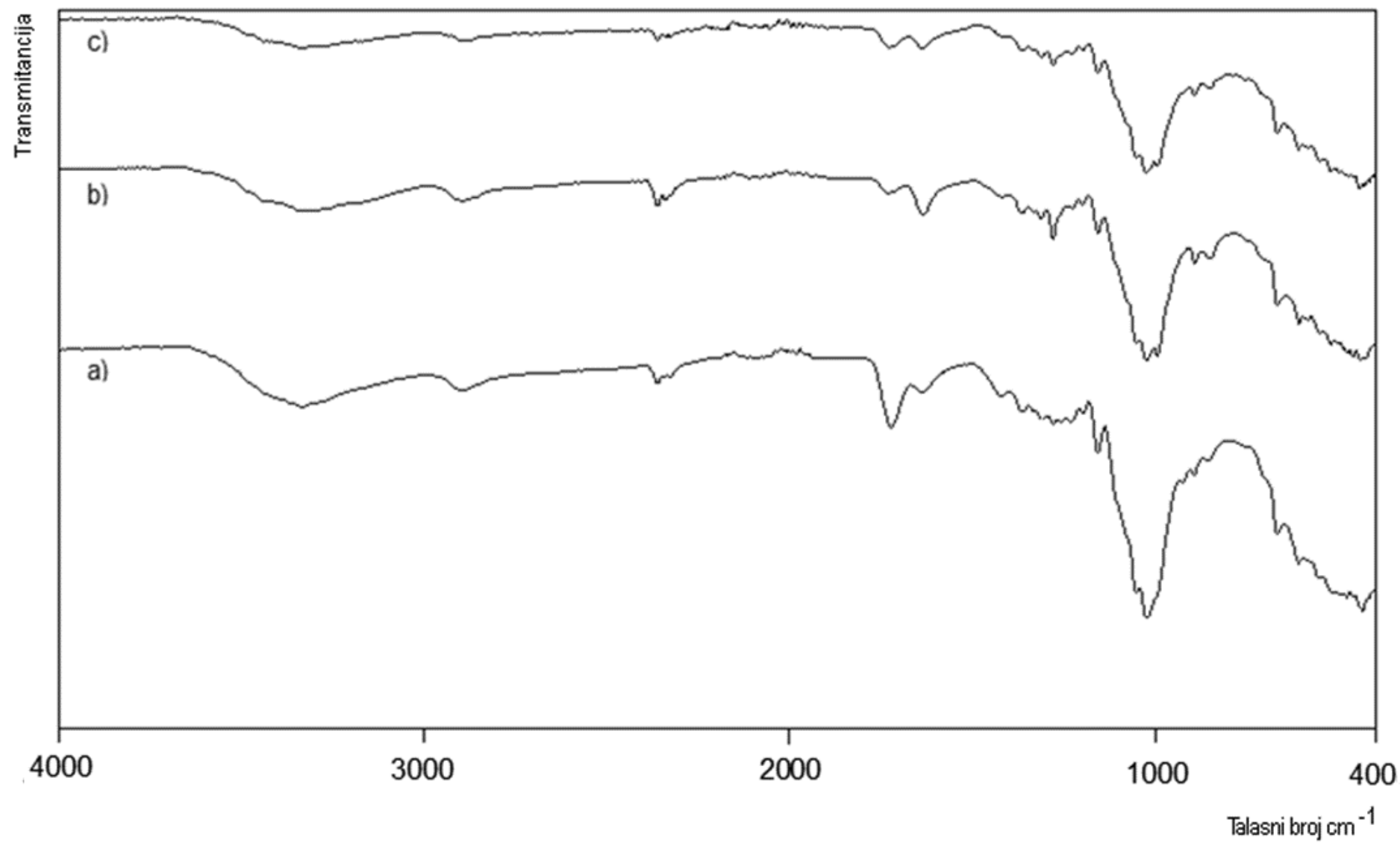


Slika 4.5. SEM mikrografije oksidovanog celuloznog vlakna sa 0,547 (a), 1,163 (b) i 2,199 (c) mmol/g OC karboksilnih grupa, razmjernik: 5 μm

Na slici 4.5. se vidi da svi uzorci vlakana OC imaju prilično izražen reljef što ih, sa stanovišta poroznosti i pristupačnosti hemijskim agensima, čini pogodnim sorbentima za dobijanje biološki aktivnog vlakna sorpcijom ljekovitih preparata.

Na slici 4.6. prikazani su IR spektri oksidovane celuloze sa 0,547, 1,163 i 2,199 mmol/g OC karboksilnih grupa. Oksidacija celuloze i uvođenje karboksilnih grupa dovodi do pojavljivanja apsorpcione trake kod 1740 cm^{-1} , koje nema na spektru nemodifikovane celuloze (slika 4.2.). Njen intenzitet se povećava sa povećanjem sadržaja karboksilnih i karbonilnih grupa u uzorcima OC.

Takođe, primijećeno je smanjenje intenziteta i proširenje pika kod 3330 cm^{-1} . Smanjenje intenziteta pomenutog pika pokazuje da se dio hidroksilnih grupa oksidovao do karboksilnih, a proširenje ukazuje da dolazi do stvaranja dimera između nastalih karboksilnih grupa susjednih lanaca celuloze.



Slika 4.6. FTIR spektar oksidovane celuloze sa a) 0,547, b) 1,163 i c) 2,199 mmol/g OC karboksilnih grupa

4.2.1. SORPCIONE KARAKTERISTIKE OC

Sorpciona svojstva vlakana OC predstavljaju bitnu karakteristiku (u primjeni) za dobijanje biološki aktivnih vlakana.

Poznato je da na sorpciona svojstva vlakana utiče njihova molekulska i nadmolekulska struktura. Oksidacijom celuloze smjesom $\text{HNO}_3/\text{H}_3\text{PO}_4/\text{NaNO}_2$ dolazi do promjena u strukturi i kristaličnosti rezultujućih molekula, što utiče i na njene sorpcione karakteristike.

Razlike u molekulskoj i nadmolekulskoj strukturi OC ukazuju na njihove različite sorpcione karakteristike, koje su određene na osnovu sorpcije vlage, sposobnosti vezivanja vode i sorpcije joda.

Na sorpciona svojstva vlakana najviše utiču sadržaj amorfnih oblasti i sistemi šupljina. Ispitivanja sorpcije vode rendgenskim zracima pokazala su da se sorpcija dešava isključivo u amorfnim regionima i na površini kristala [191] odnosno, da molekuli vode ne prodiru u kristalna područja.

Uticaj dužine trajanja oksidacije celuloznih vlakana na sorpciju vlage i sposobnost vezivanja vode prikazan je u tabeli 4.3. Iz dobijenih rezultata se može vidjeti da sposobnost sorpcije vlage OC raste sa porastom vremena trajanja oksidacije, odnosno sadržaja karboksilnih grupa. Povećanje sorpcije vlage se može objasniti destrukcijom celuloze u reakcionom površinskom sloju vlakana, koji se vidi na SEM fotografijama vlakana (slika 4.5.).

Tabela 4.3. Uticaj trajanja oksidacije na sorpciju vlage i sposobnost zadržavanja vode

Određivane osobine	Vrijeme trajanja oksidacije		
	5 h	10 h	20 h
Sorpcija vlage, %	4,96	5,03	5,07
Sposobnost vezivanja vode, %	40,83	35,05	28,03

Celulozna vlakana u interakciji sa vodom u tečnom stanju upijaju veliku količinu vode, što dovodi do bubrenja vlakana i širenja amorfnih područja. Sposobnost vezivanja vode izražava se kao količina vode koja ostaje u vlaknu nakon njegovog potapanja u vodu i centrifugiranja. Sa promjenom nadmolekulske strukture vlakna mijenja se količina zadržane vode. Mjerenjem sposobnosti vezivanja vode obuhvaćene su sve površine, šupljine i pukotine u vlaknima koje apsorbuju i vezuju vodu. Uticaj trajanja oksidacije celuloznih vlakana na promjenu sposobnosti vezivanja vode (SVV) dat je u tabeli 4.3.

Iz dobijenih rezultata se vidi da sposobnost vezivanja vode oksidovanih celuloznih vlakana opada sa vremenom trajanja oksidacije, odnosno sa porastom sadržaja karboksilnih grupa. Može se pretpostaviti da do smanjenja sadržaja vezane vode dolazi zbog uvođenja karboksilnih grupa, odnosno zbog oksidacije hidroksilnih grupa u amorfnim područjima, preko kojih se voda veže vodoničnim vezama [86].

Sorpcija joda se odigrava samo u amorfnim područjima celuloze predstavlja mjeru pristupačnosti amorfnih oblasti celuloznih vlakana vodenim rastvorima. Recipročna vrijednost sorpcija joda je pokazatelj kristalnih oblasti vlakana i izražava se kao stepen kristaličnosti [192].

Mehanizam sorpcije joda razlikuje se od mehanizma sorpcije vode u celuloznim vlaknima. Prilikom prodiranja joda u amorfne oblasti celuloze dolazi do elektrostatičke interakcije između negativno naelektisanog trijodid jona i parcijalno pozitivno naelektrisanog vodonikovog atoma hidroksilne grupe. Jod se na ovaj način vezuje isključivo u monomolekulskom sloju za dostupne hidroksilne grupe. Takođe, jod ne ispunjava u potpunosti slobodnu zapreminu šupljina u vlaknima (kao voda), pa se rezultati sorpcije joda mogu iskoristiti za izračunavanje površine unutrašnjih oblasti vlakana [193].

Rezultati ispitivanja uticaja dužine trajanja oksidacije celuloznih vlakana na sorpciju joda prikazani su u tabeli 4.4. Iz dobijenih rezultata se vidi da sorpcija joda na OC opada sa povećanjem vremena trajanja oksidacije, odnosno sadržaja karboksilnih grupa. Do smanjenja vrijednosti sorpcije joda dolazi zbog smanjenja broja hidroksilnih grupa koje su sa povećanjem stepena kristaličnosti manje pristupačne odnosno blokirane u kristalnim oblastima [194].

Tabela 4.4. Uticaj trajanja oksidacije na sorpciju joda i stepen kristaličnosti

Određivane osobine	Vrijeme trajanja oksidacije		
	5 h	10 h	20 h
Sorpcija joda, mg I ₃ /g OC	135,11	84,11	71,55
Stepen kristaličnosti, %	67,21	79,58	82,63

Recipročna vrijednost sorpcije joda je proporcionalna kristalnim oblastima vlakana i izražava se kao stepen kristaličnosti. Stepem kristaličnosti oksidovanih celuloznih vlakana prikazan je u tabeli 4.4. Iz dobijenih rezultata se vidi da se stepen kristaličnosti povećava sa povećanjem

sadržaja karboksilnih grupa što pokazuje da uvedene karboksilne grupe imaju značajan uticaj na sorpciona svojstva.

Poređenjem uzoraka OC sa različitim sadržajem karboksilnih grupa može se zaključiti da sa povećanjem sadržaja karboksilnih grupa dolazi do smanjenja sorpcionih osobina, kao i do slabljena mehaničkih karakteristika. Zbog značajno smanjenih sorpcionih svojstava i pogoršanja mehaničkih karakteristika uzorak OC sa 2,199 mmol/g karboksilnih grupa nije upotrijebljen za sorpciju lijekova.

4.3. VEZIVANJE LIJEKOVA NA NEMODIFIKOVANO I OKSIDOVANO CELULOZNO VLAKNO

Sorpcija je heterogen proces u kome učestvuje više faza. Fizička i hemijska svojstva adsorbenta i adsorbata imaju najvažniju ulogu u procesima sorpcije. Za jedan vlaknasti nosač kao adsorbent neophodni su prisustvo aktivnih jonogenih grupa, razvijena mikrostruktura i statički jonoizmjenjivački kapacitet, pored obaveznih svojstava netoksičnosti i biološke inertnosti. U toku procesa sorpcije dolazi do prelaza materije iz jedne faze u drugu uz odigravanje hemijske reakcije i obrazovanja proizvoda u obliku biološki aktivnog vlakna.

Kao vlaknasti nosač za vezivanje lijekova upotrijebljeno je nemodifikovano celulozno vlakno i oksidovano celulozno vlakno u obliku zavoja.

Nemodifikovano celulozno vlakno u svojoj strukturi nema jonoizmjenjivačke grupe, ali sadrži veliki broj hidroksilnih grupa, preko kojih se mogu ostvariti vodonične veze, kao i strukture preko kojih je moguće elektrostatičko privlačenje.

Za razliku od nemodifikovane celuloze, oksidovano celulozno vlakno sadrži u svojoj strukturi jonoizmjenjivačke grupe (karboksilne), koje mogu učestvovati u građenju jonskih veza.

Oba tipa celuloze korištena su za vezivanje antibiotika cefuroksima (u obliku cefuroksim natrijuma) i cefotaksima (u obliku cefotaksim natrijuma) i analgetika diklofenaka (u obliku diklofenak kalijuma) i tramadola (u obliku tramadol hidrohlorida).

4.3.1. SORPCIJA I DESORPCIJA CEFUROKSIMA

Cefalosporinski antibiotik cefuroksim koji djeluje na veliki broj gram pozitivnih i gram negativnih bakterija upotrijebljen je za sorpciju na nemodifikovanu celulozu, OC u obliku zavoja sa 0,547 i 1,163 mmol/g OC karboksilnih grupa i na uzorke OC aktivirane Na⁺.

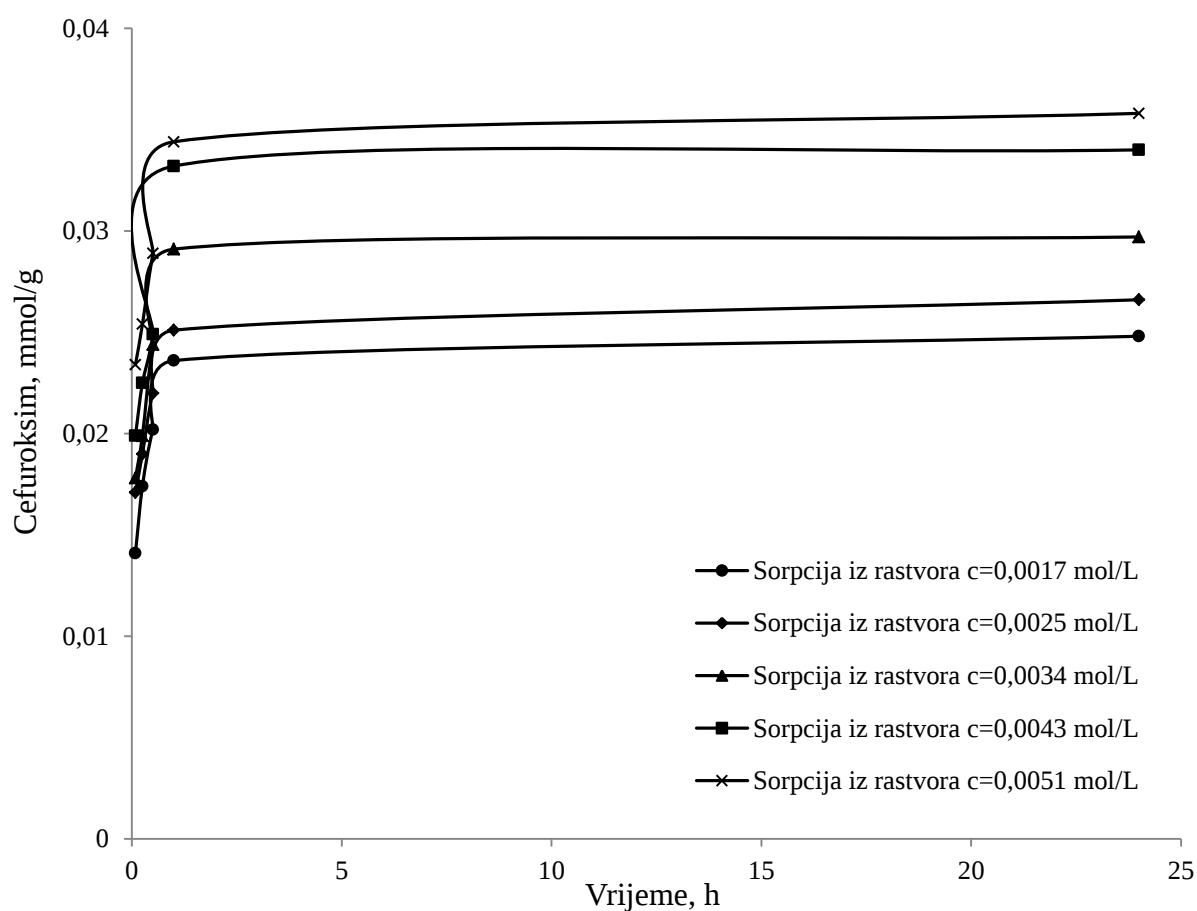
4.3.1.1. Rezultati sorpcije cefuroksima na oksidovano celulozno vlakno

Rezultati sorpcije cefuroksima na OC prikazani su u tabeli 4.5. i 4.6. kao i na slikama 4.7. i 4.8. Količina vezanog cefuroksima raste sa vremenom i nakon 24 sata sorpcije postiže se maksimalna količina vezanog antibiotika koja iznosi 0,0358 i 0,0395 mmol/g OC za uzorke sa 0,547 i 1,163 mmol/g karboksilnih grupa, respektivno.

Tabela 4.5. Količina vezanog cefuroksima na OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa, modul kupatila 1:200, temperatura 23±1°C

Trajanje sorpcije, min	Količina vezanog cefuroksima (mmol/g) na OC iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	$c=1,7 \cdot 10^{-3}$	$c=2,5 \cdot 10^{-3}$	$c=3,4 \cdot 10^{-3}$	$c=4,3 \cdot 10^{-3}$	$c=5,1 \cdot 10^{-3}$
5	0,0141	0,0171	0,0178	0,0199	0,0234
15	0,0174	0,0190	0,0199	0,0225	0,0254
30	0,0202	0,0220	0,0244	0,0249	0,0289
60	0,0236	0,0251	0,0291	0,0332	0,0344
1440	0,0248	0,0266	0,0297	0,0340	0,0358

Na osnovu podataka iz tabela 4.5. i 4.6. kao i slika 4.7. i 4.8. uočljivo je da se količina vezanog cefuroksima povećava sa vremenom sorpcije, povećanjem sadržaja karboksilnih grupa u uzorku OC i da se antibiotik veže u relativno maloj količini.

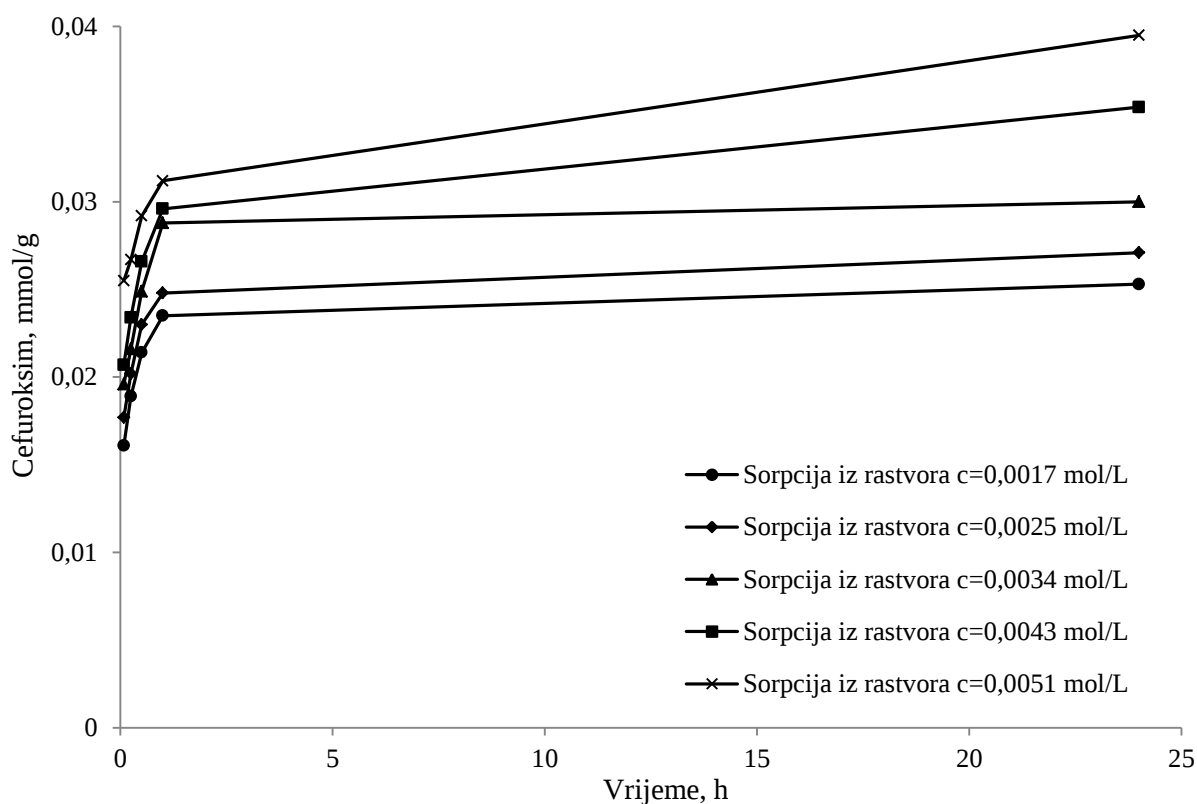


Slika 4.7. Količina vezanog cefuroksima na OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa

Tabela 4.6. Količina vezanog cefuroksima na OC sa 1,163 mmol/g COOH grupa, modul kupatila 1:200, temperatura 25±1°C

Trajanje sorpcije, min	Količina vezanog cefuroksima (mmol/g) na OC iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	$c=1,7 \cdot 10^{-3}$	$c=2,5 \cdot 10^{-3}$	$c=3,4 \cdot 10^{-3}$	$c=4,3 \cdot 10^{-3}$	$c=5,1 \cdot 10^{-3}$
5	0,0161	0,0177	0,0196	0,0207	0,0255
15	0,0189	0,0202	0,0216	0,0234	0,0267
30	0,0214	0,0230	0,0249	0,0266	0,0292
60	0,0235	0,0248	0,0288	0,0296	0,0312
1440	0,0253	0,0271	0,0300	0,0354	0,0395

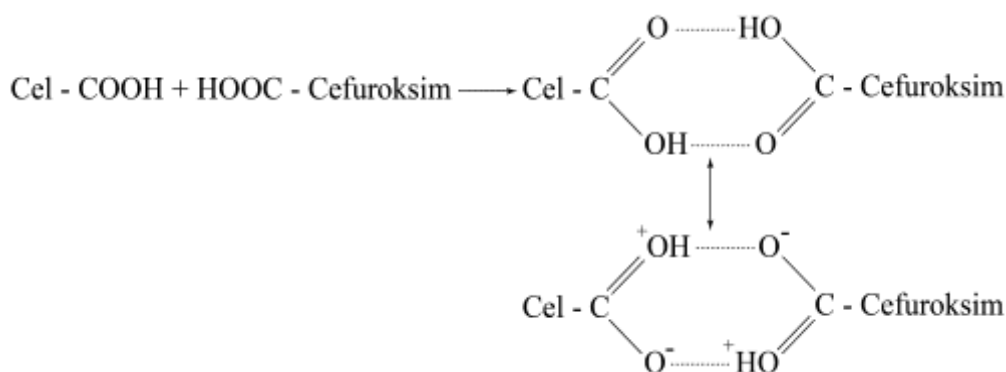
Može se pretpostaviti da je slabije vezivanje antibiotika uslovljeno strukturom cefuroksima koji posjeduje furanski prsten te karboksilnu i karbamatnu grupu vezanu za cefemsko jezgro. Odsustvo baznih funkcionalnih grupa, kao što su amino grupe, onemogućava stvaranje relativno jakih veza kao što su jonske, između OC i antibiotika.



Slika 4.8. Količina vezanog cefuroksima na OC sa 1,163 mmol/g COOH grupa

Umjesto jonskih veza struktura cefuroksima omogućava stvaranje većeg broja vodoničnih veza sa karboksilnim i hidroksilnim grupama oksidovane celuloze.

Karboksilna grupa antibiotika može ostvariti interakciju sa karboksilnim grupama oksidovane celuloze preko vodoničnih veza, pri čemu grade dimere [195] kao što je prikazano na slici 4.9.



Slika 4.9. Šematski prikaz građenja dimera

Izmjerene pH vrijednosti rastvora tokom sorpcije kretale su se od 3,36 do 3,75 za OC sa 0,547 mmol/g COOH i od 3,36 do 3,49 za OC sa 1,163 mmol/g COOH. Postignute pH vrijednosti omogućavaju potpunu disocijaciju karboksilne grupe cefuroksima ($\text{pK}_a \approx 2,5$) [155] i djelimičnu disocijaciju COOH grupa oksidovane celuloze ($\text{pK}_a \approx 4$) [16] koje međusobno mogu stvarati dimere. U ovom slučaju vezivanje preko karboksilnih grupa moglo je biti samo djelimično ostvareno zbog slabe disocijacije karboksilnih grupa OC.

Značaj karboksilnih grupa u procesu vezivanja na OC ispitan je sorpcijom benzojeve kiseline na OC [196]. Obzirom da u strukturi ima samo jednu funkcionalnu grupu, karboksilnu, preko koje može da se veže na OC, građenjem dimera, veže se značajna količina benzojeve kiseline ali formirane veze nisu dovoljno jake i dolazi do relativno brzog otpuštanja.

Pored karboksilnih grupa za građenje vodoničnih veza sa OH grupama oksidovane celuloze, cefuroksim posjeduje veći broj donora i akceptora protona preko kojih može da uspostavi vodonične veze. Ove veze mogu se formirati preko atoma kiseonika u furanskom prstenu. Nespareni elektroni na atomu kiseonika su lokalizovani i smješteni u sp^2 hibridnim orbitalama koje se nalaze u ravni prstena. Ovi elektroni mogu učestvovati u interakciji sa H atomima OH grupa oksidovane celuloze i stvarati vodonične veze kao što je prikazano na slici 4.10.



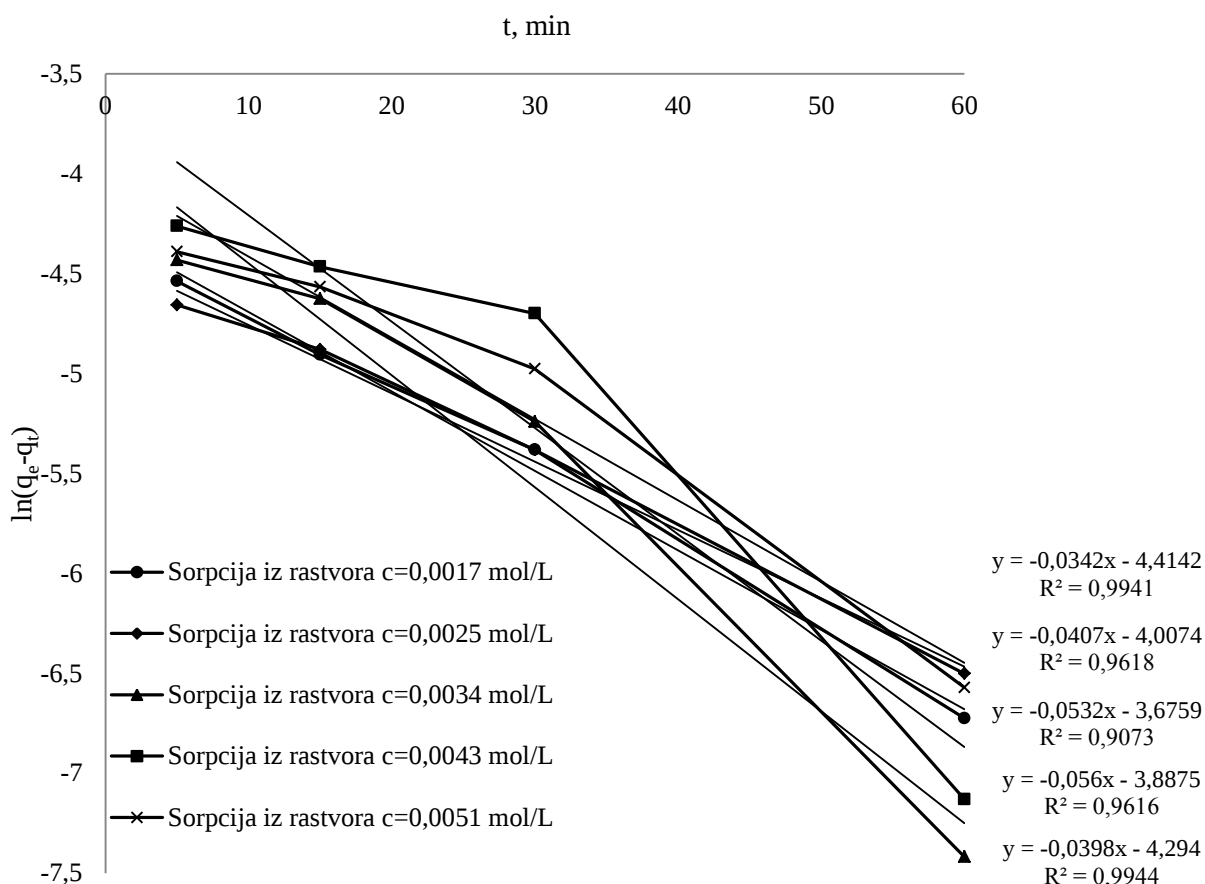
Slika 4.10. Šematski prikaz građenja vodoničnih veza preko furanskog prstena cefuroksima

Takođe, cefuroksim može ostvariti Van der Valsove interakcije sa glukoznim jedinicama celuloze (π - π interakcije) i OH grupama celuloze (π -H interakcije) [197].

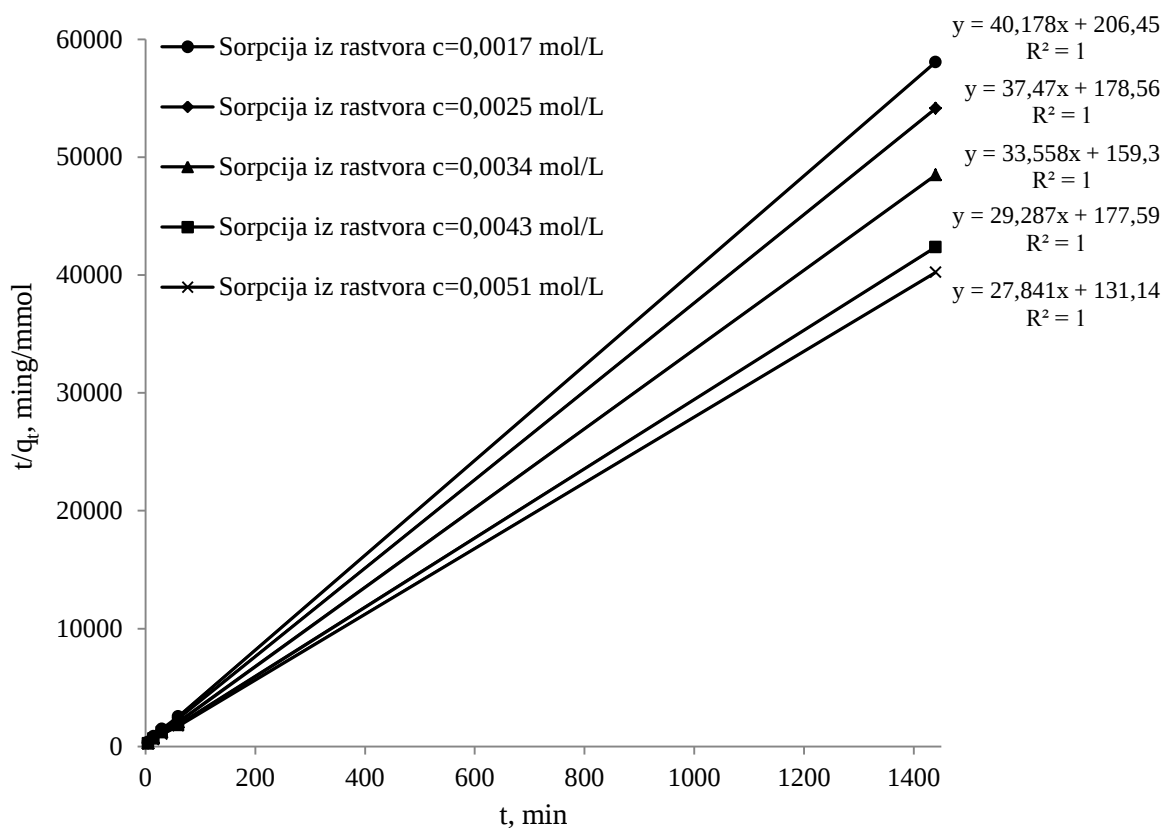
Količina vezanog lijeka raste sa porastom koncentracije i sadržaja funkcionalnih grupa. Međutim, količina vezanog lijeka ne povećava se proporcionalano sa porastom koncentracije iz koje se vrši sorpcija. Ovo se dešava zato što na količinu vezanog lijeka, pored koncentracije rastvora antibiotika, utiču i drugi faktori kao što su promjena pH rastvora tokom procesa sorpcije i pristupačnost reaktivnih mjesta na OC.

Takođe ne dolazi do značajnog povećanja količine vezanog lijeka sa porastom sadržaja karboksilnih grupa na OC. Može se pretpostaviti da sa povećanjem sadržaja COOH grupa dolazi do smanjenja sorpcionih osobina kao rezultata povećanja sadržaja kristaličnih struktura i otežanog pristupa antibiotika reakcionim centrima OC.

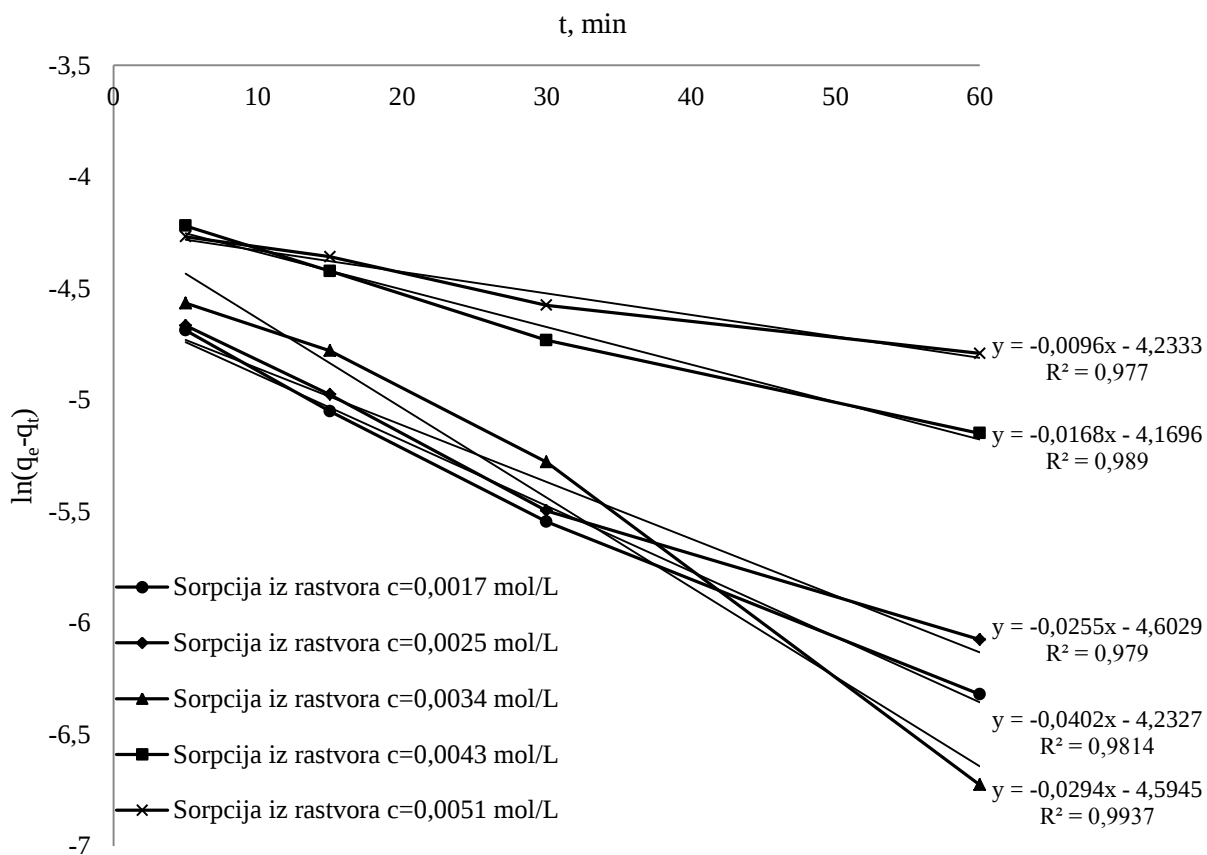
Da bi se odredio tip sorpcije cefuroksima na OC na osnovu kinetike sorpcije, dobijeni rezultati sorpcije su fitovani za dva Lagranžova modela, pseudo-prvog i pseudo-drugog reda. Fitovanje rezultata sorpcije za OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa prikazano je na slikama 4.11. i 4.12., a za OC sa 1,163 mmol/g COOH grupa na slikama 4.13. i 4.14.



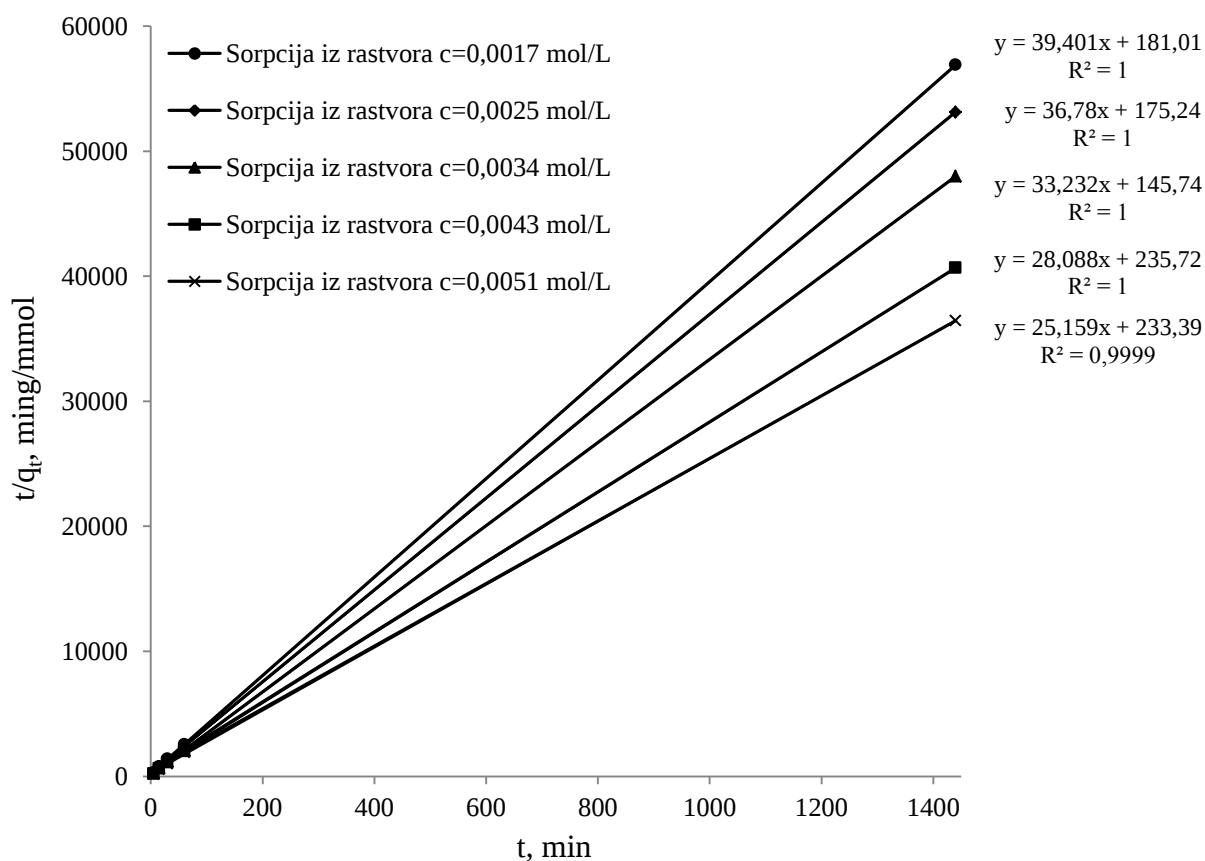
Slika 4.11. Lagranžov model pseudo-prvog reda za sorpciju na OC sa 0,547 mmol/g COOH



Slika 4.12. Lagranžov model pseudo-drugog reda za sorpciju na OC sa 0,547 mmol/g COOH



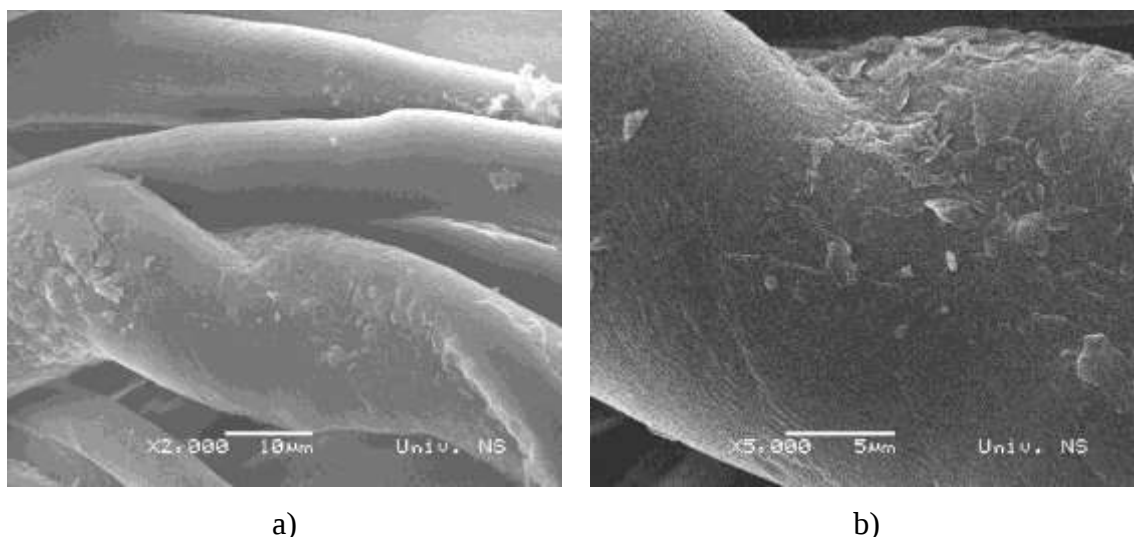
Slika 4.13. Lagranžov model pseudo-prvog reda za sorpciju na OC sa 1,163 mmol/g COOH



Slika 4.14. Lagranžov model pseudo-drugog reda za sorpciju na OC sa 1,163 mmol/g COOH

Dobijeno je da se u eksperimentalnim uslovima, za oba tipa zavoja, najbolje slaganje postiže sa Lagranžovim modelom pseudo-drugog reda ($R^2=0,9999-1$), što ukazuje da se prilikom vezivanja lijeka na OC dešava i adsorpcija i hemisorpcija, što je bilo i očekivano. Na taj način je potvrđeno da se cefuroksim vezao na OC različitim tipovima veza.

Mikrostruktura biološki aktivnih vlakana dobijenih sorpcijom cefuroksima na OC sa 1,163 mmol/g karboksilnih grupa, okarakterisana je skenirajućom elektronskom mikroskopijom. SEM snimci OC sa vezanim cefuroksimom prikazani su na slici 4.15.

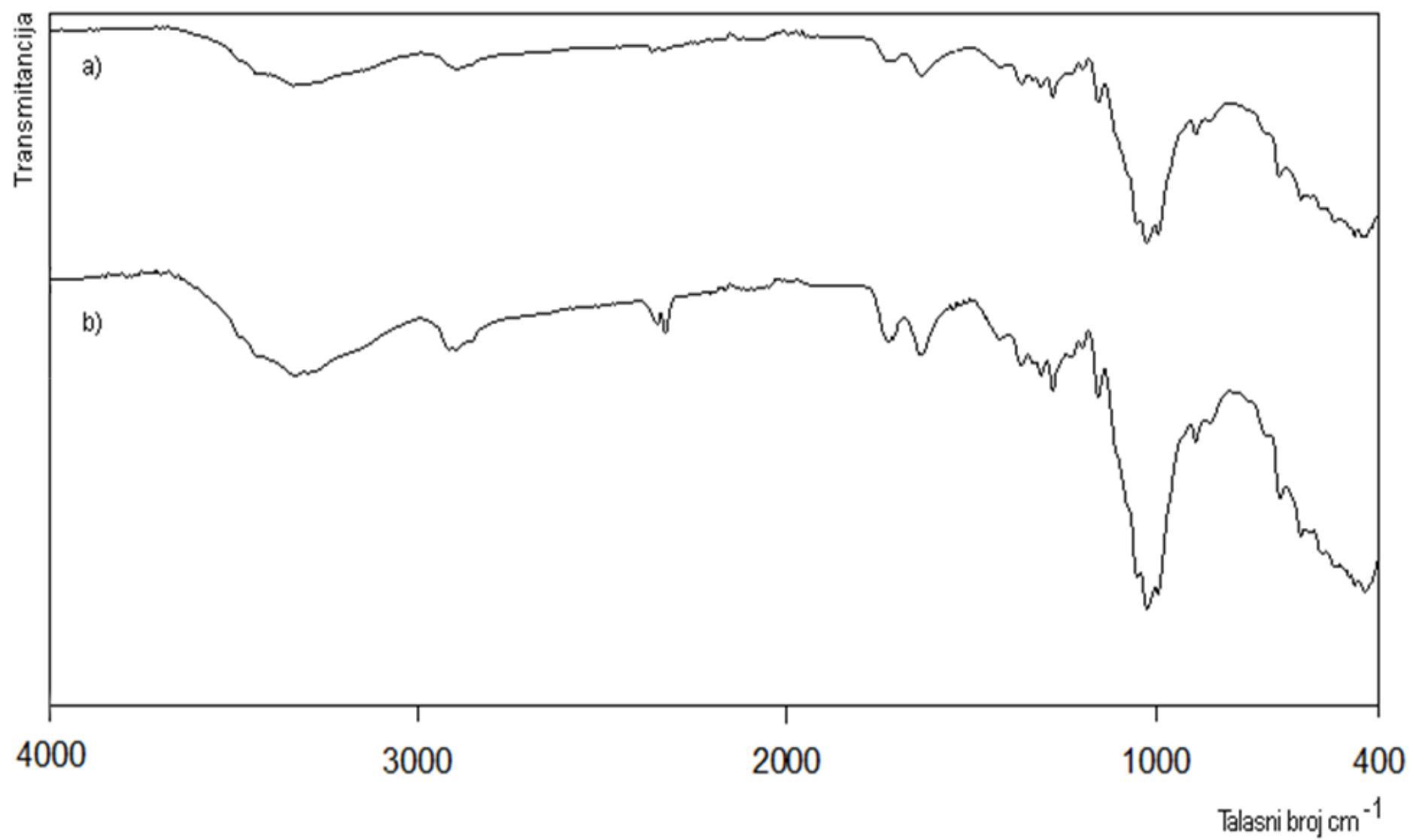


Slika 4.15. SEM mikrografije OC sa 1,163 mmol/g karboksilnih grupa sa vezanim cefuroksimom, razmjernik: a) 10 μm i b) 5 μm

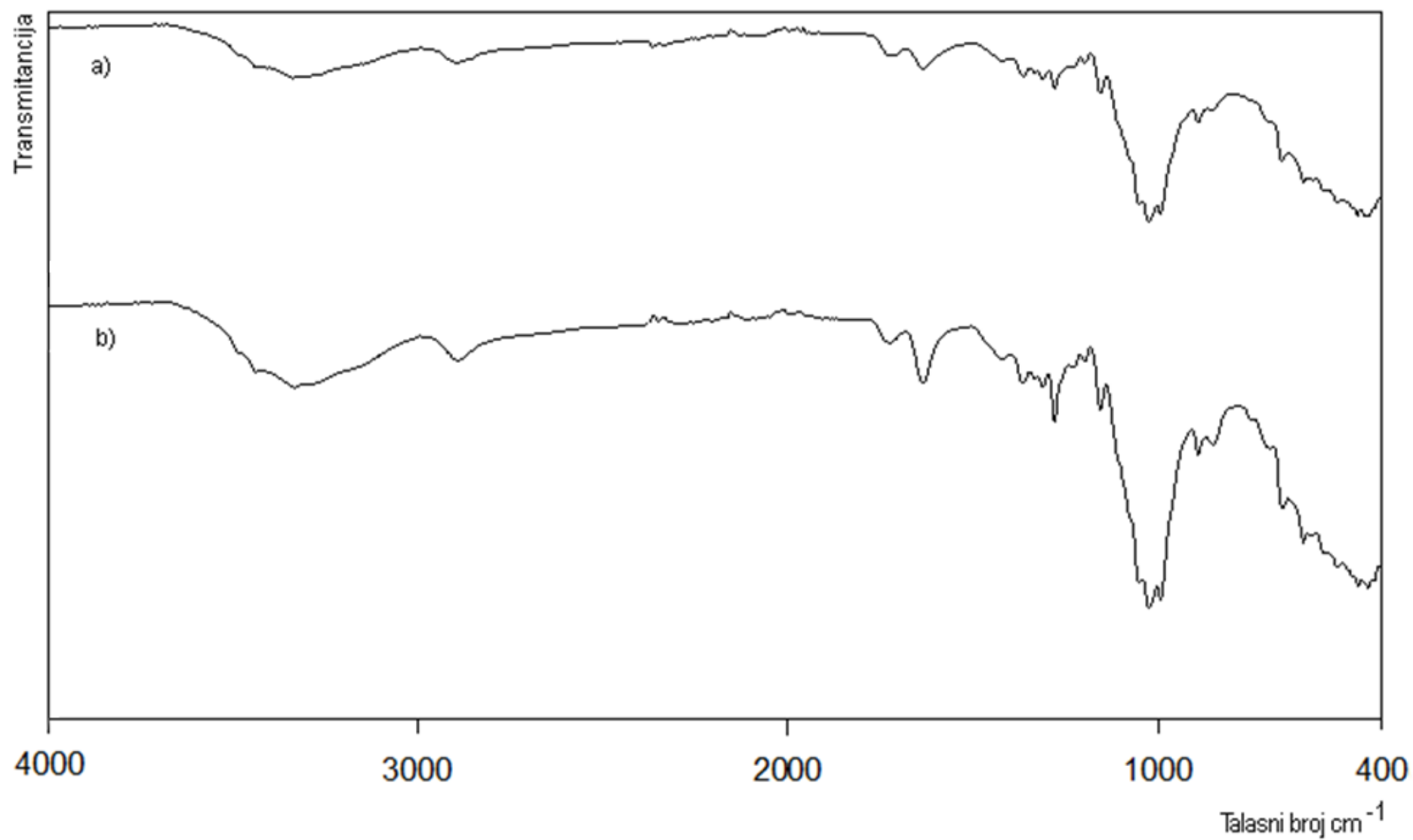
Dobijena biološki aktivna celulozna vlakna sa vezanim cefuroksimom imaju sličnu strukturu površine kao i OC vlakna, zbog čega se može pretpostaviti da vezani antibiotik obrazuje monomolekulski sloj. Čestice različitih mikrometarskih dimenzija neravnomjerno raspoređene na površini vlakana (slika 4.15. a) i b)) najvjerojatnije predstavljaju agregate molekula cefuroksima, nastale formiranjem dimera i vodoničnih veza između molekula cefuroksima.

Aktiviranje OC vezivanjem Na^+ vršeno je sa ciljem poboljšanja jonoizmjenjivačkih osobina vlakna, u svrhu povećanja sadržaja vezanog lijeka. Kod aktiviranih uzoraka OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa količina vezanog lijeka se ne povećava, ili je povećanje zanemarljivo, jer cefuroksim ne sadrži katjonsku grupu i ne dolazi do procesa jonoizmjene. Uzorak OC sa većim sadržajem COOH grupa (1,163 mmol/g) aktiviranjem sa Na^+ prevodi se u oblik soli, rastvorljiv u vodi i gubi formu zavoja, zbog čega je isključen iz eksperimenta.

Na slikama 4.16. i 4.17. dati su FTIR spektri OC sa vezanim cefuroksimom. Apsorpcioni signali za karakteristične funkcionalne grupe u spektru OC i spektru OC sa vezanim cefuroksimom skoro su identični. Može se pretpostaviti da su maksimalne količine vezanog antibiotika od 0,0358 i 0,0395 mmol/g za uzorke sa 0,547 i 1,163 mmol/g COOH, respektivno, ispod granice detekcije za FTIR uređaj. Preračunato u procenat uzorci čiji su spektri prikazani na slikama 4.16. i 4.17. sadrže 1,59 i 1,76 % vezanog antibiotika po gramu uzorka, što je nedovoljno za registrovanje vodoničnih veza i ostalih nekovalentnih interakcija OC i cefuroksima.



Slika 4.16. FTIR spektri a) OC sa vezanim cefuroksimom i b) OC sa 1,163 mmol/g karboksilnih grupa



Slika 4.17. FTIR spektri a) OC sa vezanim cefuroksimom i b) OC sa 0,547 mmol/g karboksilnih grupa

4.3.1.2. Sorpcija cefuroksima na nemodifikovano celulozno vlakno

Eksperiment sa sorpcijom cefuroksima pokazao je da netretirani celulozni zavoj u vodenom rastvoru lijeka ne vezuje antibiotik. Ovo se može objasniti slabijom hidrofilnošću odnosno slabijim sorpcionim osobinama netretirane celuloze, kao i nepostojanjem odgovarajućih reaktivnih (jonoizmjenjivačkih) centara na celuloznom zavoju.

4.3.1.3. Rezultati desorpcije cefuroksima u fiziološkom rastvoru

Iz podataka za desorpciju cefuroksima sa OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa prikazanih u tabeli 4.7. može se vidjeti da se nakon 24 h u fiziološkom rastvoru sa oksidovane celuloze otpusti od 0,0214 do 0,0316 mmol/g, odnosno od 86,25 do 88,24 % od ukupne količine vezanog antibiotika.

Tabela 4.7. Količina otpuštenog cefuroksima sa OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa, modul kupatila 1:100, temperatura $23 \pm 1^\circ\text{C}$

Trajanje desorpcije, h	Količina otpuštenog cefuroksima (mmol/g) sa OC vezanog iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	$c=1,7 \cdot 10^{-3}$	$c=2,5 \cdot 10^{-3}$	$c=3,4 \cdot 10^{-3}$	$c=4,3 \cdot 10^{-3}$	$c=5,1 \cdot 10^{-3}$
1	0,0138	0,0143	0,0162	0,0202	0,0220
2	0,0157	0,0184	0,0206	0,0230	0,0275
3	0,0181	0,0200	0,0224	0,0271	0,0289
4	0,0188	0,0204	0,0241	0,0289	0,0308
24	0,0214	0,0227	0,0259	0,0299	0,0316

Kod uzoraka sa većim sadržajem karboksilnih grupa (tabela 4.8.) nakon 24 h u fiziološkom rastvoru sa oksidovane celuloze se otpusti od 0,0217 do 0,0353 mmol/g cefuroksima, odnosno od 85,47 do 89,29 % od ukupne količine vezanog antibiotika.

Duža desorpcija pogoduje raskidanju relativno slabih veza između karboksilnih grupa OC i karboksilnih grupa antibiotika, što dovodi do otpuštanja najvećeg dijela vezanog cefuroksima. Ovo je u saglasnosti sa pretpostavkom da se između OC i antibiotika uspostavljaju vodonične veze i π - π i π -H interakcije.

Tabela 4.8. Količina otpuštenog cefuroksima sa OC sa 1,163 mmol/g COOH grupa, modul kupatila 1:100, temperatura 25±1°C

Trajanje desorpcije, h	Količina otpuštenog cefuroksima (mmol/g) sa OC vezanog iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	$c=1,7 \cdot 10^{-3}$	$c=2,5 \cdot 10^{-3}$	$c=3,4 \cdot 10^{-3}$	$c=4,3 \cdot 10^{-3}$	$c=5,1 \cdot 10^{-3}$
1	0,0142	0,0145	0,0167	0,0196	0,0231
2	0,0159	0,0164	0,0186	0,0202	0,0261
3	0,0185	0,0199	0,0205	0,0222	0,0269
4	0,0191	0,0206	0,0222	0,0252	0,0314
24	0,0217	0,0228	0,0262	0,0308	0,0353

4.3.2. SORPCIJA I DESORPCIJA CEFOTAKSIMA

Cefotaksim je cefalosporinski antibiotik koji ima mnogo širi spektar djelovanja prema gram negativnim mikroorganizmima, a manje je aktivan prema gram pozitivnim bakterijama u odnosu na cefuroksim. Cefotaksim je kao i cefuroksim upotrijebljen za vezivanje na netretiranu celulozu, OC u obliku zavoja sa 0,547 i 1,163 mmol/g karboksilnih grupa i na uzorke OC aktivirane Na^+ .

4.3.2.1. Rezultati sorpcije cefotaksima na oksidovano celulozno vlakno

Vezivanje cefotaksima vršeno je na uzorke OC sa 0,547 mmol/g i 1,163 mmol/g COOH , a rezultati sorpcije prikazani su u tabeli 4.9. i 4.10. i na slikama 4.18. i 4.19.

Tabela 4.9. Količina vezanog cefotaksima na OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa, modul kupatila 1:200, temperatura $26 \pm 1^\circ\text{C}$

Trajanje sorpcije, min	Količina vezanog cefotaksima (mmol/g) na OC iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	$c=1,7 \cdot 10^{-3}$	$c=2,5 \cdot 10^{-3}$	$c=3,4 \cdot 10^{-3}$	$c=4,3 \cdot 10^{-3}$	$c=5,1 \cdot 10^{-3}$
5	0,0155	0,0191	0,0198	0,0207	0,0219
15	0,0118	0,0125	0,0129	0,0155	0,0163
30	0,0195	0,0214	0,0239	0,0258	0,0264
60	0,0213	0,0248	0,0260	0,0293	0,0297
1440	0,0321	0,0401	0,0458	0,0489	0,0523

Rezultati sorpcije cefotaksima na uzorke OC sa 0,547 mmol/g COOH u tabeli 4.9. (i na slici 4.18.) pokazuju da količina vezanog antibiotika raste u prvih 5 minuta, a nakon 15 minuta sorpcije količina vezanog lijeka značajno opada. Nakon toga količina lijeka se postepeno povećava do isteka 24 h. Značajno smanjenje količine cefotaksima u kupatilu na početku sorpcije tumači se činjenicom da u prvim minutama dolazi samo do fizičkog procesa upijanja antibiotika na OC, a nakon 15 minuta uspostavlja se ravnoteža između količine upijenog lijeka i lijeka u rastvoru, odnosno dolazi do desorpcije antibiotika koji nije hemijski vezan.

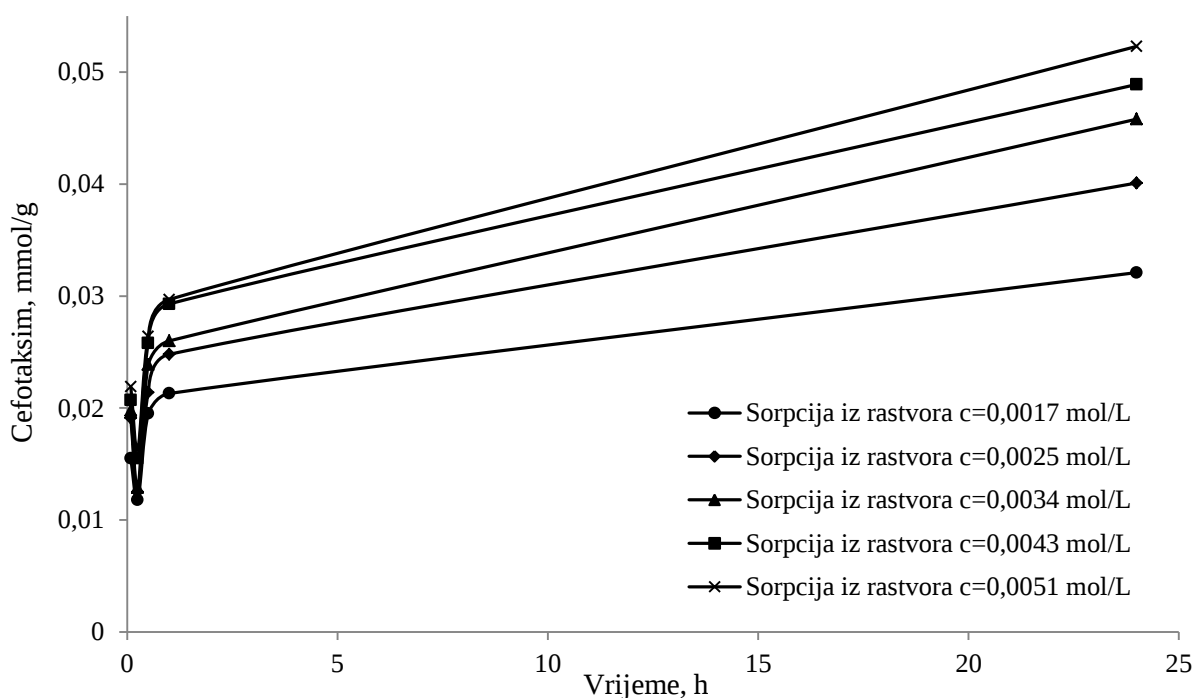
Takođe, može se pretpostaviti da na početku procesa sorpcije, kad je materijal skoro suv, male molekule vode difunduju brže unutar pora polimernog materijala od velikih molekula

lijeka, i počinje stvaranje klastera koji u početku sadrže 1-2 molekule vode, a zatim sve veći broj, dok se ne dostigne maksimalni sadržaj vode [198]. Zbog bržeg difundovanja vode i stvaranja klastera, kao i dominantno fizičkog upijanja antibiotika, nakon prvih pet minuta sorpcije dolazi do opadanja količine vezanog lijeka, a nakon 15 minuta izmjerena je najniža vrijednost. U tom periodu još nisu uspostavljene značajnije fizičke i hemijske veze lijeka sa vlaknom i labavo vezani antibiotik se desorbuje sa OC.

Tokom difundovanja većih količina vode unutar polimera, razmiču se polimerni lanci OC i olakšava pristup većih molekula lijeka, što kasnije omogućava uspostavljanje čvršćih veza između OC i antibiotika, i postepeno povećanje količine vezanog lijeka tokom 24h.

Maksimalna količina vezanog cefotaksima nakon 24 sata sorpcije iznosi 0,0523 mmol/g OC, iz rastvora koncentracije $c=5,1 \cdot 10^{-3}$.

Ispitivani uzorci OC su tokom sorpcije iz rastvora pet različitih koncentracija vezali od 51,27 do 94,71 % cefotaksima iz rastvora, pri čemu je ustanovljeno da procenat sorbovanog antibiotika opada sa povećanjem koncentracije rastvora.

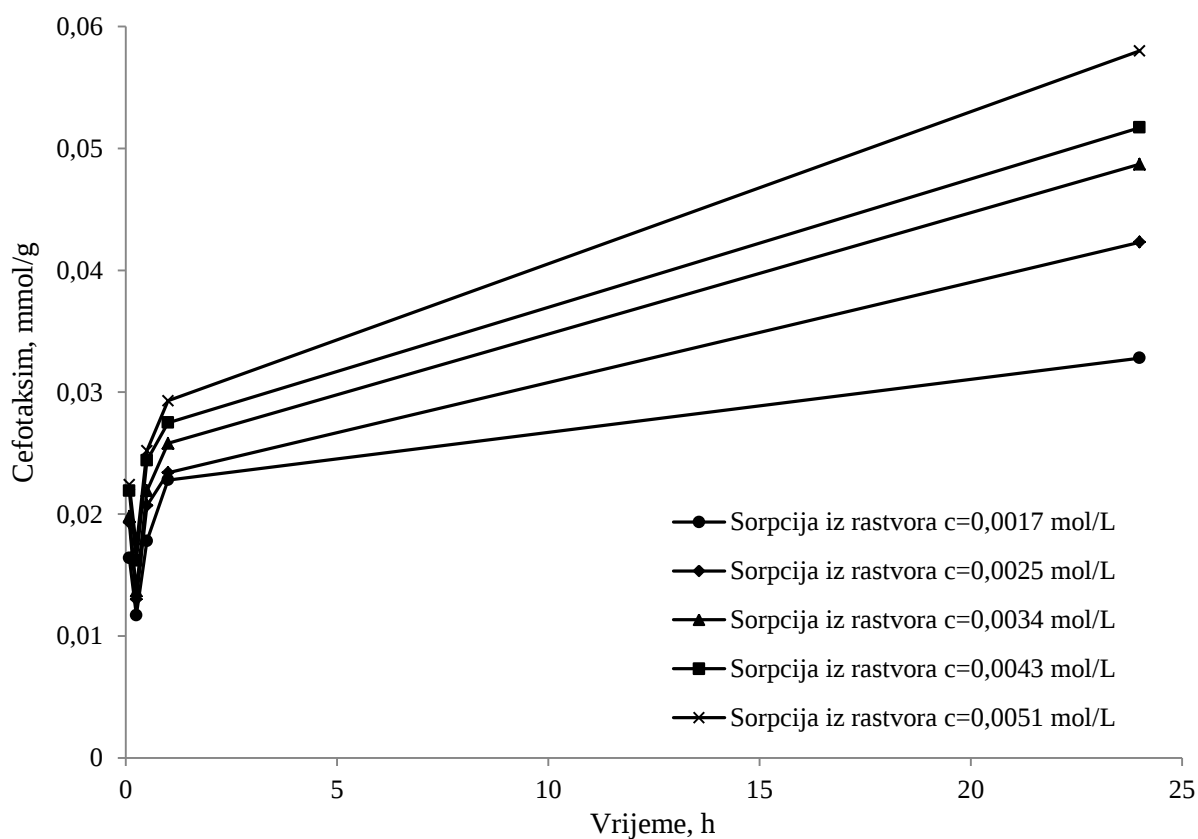


Slika 4.18. Količina vezanog cefotaksima na OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa

Rezultati sorpcije cefotaksima na OC sa 1,163 mmol/g COOH prikazani u tabeli 4.10. i na slici 4.19. pokazuju da vezivanje lijeka prati isti trend kao i vezivanje na uzorke OC sa manjim sadržajem COOH grupa (0,547 mmol/g).

Tabela 4.10. Količina vezanog cefotaksima na OC sa 1,163 mmol/g COOH grupa, modul kupatila 1:200, temperatura 26±1°C

Trajanje sorpcije, min	Količina vezanog cefotaksima (mmol/g) na OC iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	$c=1,7 \cdot 10^{-3}$	$c=2,5 \cdot 10^{-3}$	$c=3,4 \cdot 10^{-3}$	$c=4,3 \cdot 10^{-3}$	$c=5,1 \cdot 10^{-3}$
5	0,0164	0,0193	0,0198	0,0219	0,0224
15	0,0117	0,0130	0,0137	0,0162	0,0173
30	0,0178	0,0207	0,0219	0,0244	0,0252
60	0,0228	0,0234	0,0258	0,0275	0,0293
1440	0,0328	0,0423	0,0487	0,0517	0,0580



Slika 4.19. Količina vezanog cefotaksima na OC sa 1,163 mmol/g COOH grupa

Maksimalna količina vezanog cefotaksima nakon 24 sata sorpcije iznosila je 0,0580 mmol/g OC. Ispitivani uzorci OC su vezali od 56,86 do 96,47 % antibiotika iz rastvora tokom sorpcije, a procenat sorbovanog antibiotika opada sa povećanjem koncentracije rastvora.

Na osnovu podataka iz tabela 4.9. i 4.10. uočljivo je da se količina vezanog cefotaksima povećava sa povećanjem sadržaja karboksilnih grupa u uzorku OC kao i sa povećanjem koncentracije antibiotika, što je ustanovljeno i kod sorpcije cefuroksima.

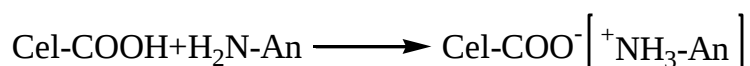
Isti uzorci OC (sa 0,547 mmol/g i 1,163 mmol/g COOH), vezali su veću količinu cefotaksima u odnosu na količinu vezanog cefuroksima. Tako je maksimalna količina vezanog cefotaksima nakon 24 sata sorpcije iznosila je 0,0580 mmol/g OC, dok je isti uzorak vezao 0,0395 mmol/g OC cefuroksima.

Cefotaksim u svojoj strukturi sadrži amino grupu na tiazolnom prstenu, koji je za cefemski nukleus vezan preko amidne grupe.

Cefotaksim takođe sadrži karboksilnu grupu u obliku Na-soli, amidnu grupu, kao i veliki broj donora i akceptora protona. Zahvaljujući prisustvu pomenutih funkcionalnih grupa i struktura cefotaksim može da gradi višestruke međumolekulske veze sa oksidovanim celuloznim zavojem.

Karboksilna grupa cefotaksima sa karboksilnim grupama oksidovane celuloze može da obrazuje dimere, slično kao i kod cefuroksima. Lijek takođe ima sposobnost građenja velikog broja vodoničnih veza preko donora i akceptora protona.

Za razliku od cefuroksima, cefotaksim može graditi jonske veze između primarnih amino grupa antibiotika i karboksilnih grupa oksidovane celuloze. Jonske veze (slika 4.20.) su jače od ostalih pomenutih međumolekulskih veza.



Slika 4.20. Šematski prikaz građenja jonskih veza OC i antibiotika

Praćenje sorpcije cefotaksima na oba uzorka OC pokazalo je da procenat sorbovanog antibiotika opada sa povećanjem koncentracije rastvora lijeka (tabela 4.7. i 4.8.) što se može tumačiti uticajem pH vrijednosti rastvora tokom vezivanja lijeka. Rezultati mjerenja pH vrijednosti rastvora tokom sorpcije prikazani su u tabelama 4.11. i 4.12. i pokazuju da pH vrijednost tokom vezivanja cefotaksima na OC opada. Nakon 24 h sorpcije izmjerene su pH vrijednosti u intervalu od 3,92 do 4,08 za uzorke OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa, i neznatno niže, u intervalu od 3,66 do 3,86 za uzorke OC sa 1,163 mmol/g COOH.

Uticaj pH vrijednosti rastvora na količinu vezanog cefotaksima na OC je višestruk. Niske pH vrijednosti (ispod pH 4) smanjuju stepen disocijacije karboksilnih grupa OC ($\text{pK}_a \approx 4$) [16] koje učestvuju u vezivanju antibiotika.

Tabela 4.11. Promjena pH tokom sorpcije cefotaksima na OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa, temperatura $26\pm 1^{\circ}\text{C}$

Trajanje sorpcije, min	Promjena pH tokom sorpcije cefotaksima na OC iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	$c=1,7\cdot 10^{-3}$	$c=2,5\cdot 10^{-3}$	$c=3,4\cdot 10^{-3}$	$c=4,3\cdot 10^{-3}$	$c=5,1\cdot 10^{-3}$
5	4,31	4,28	4,33	4,24	4,28
15	4,16	4,14	4,18	4,15	4,17
30	4,06	4,07	4,13	4,12	4,14
60	3,95	4,02	4,07	4,11	4,12
1440	3,92	3,99	4,02	4,06	4,08

Takođe, uticaj pH vrijednosti je značajan i za jonsko vezivanje preko amino grupe cefotaksima, čiji je $pK_a=3,5$ [157] .

Tabela 4.12. Promjena pH tokom sorpcije cefotaksima na OC sa 1,163 mmol/g COOH grupa, temperatura $26\pm 1^{\circ}\text{C}$

Trajanje sorpcije, min	Promjena pH tokom sorpcije cefotaksima na OC iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	$c=1,7\cdot 10^{-3}$	$c=2,5\cdot 10^{-3}$	$c=3,4\cdot 10^{-3}$	$c=4,3\cdot 10^{-3}$	$c=5,1\cdot 10^{-3}$
5	4,47	4,48	4,48	4,52	4,58
15	4,14	4,17	4,20	4,26	4,27
30	3,96	4,04	4,13	4,12	4,12
60	3,82	4,00	4,07	4,09	4,02
1440	3,66	3,73	3,73	3,78	3,86

Očekivano, manja količina lijeka vezana je na OC sa 0,547 mmol/g COOH u odnosu na OC sa 1,163 mmol/g COOH. Međutim, osim sadržaja COOH grupa, na količinu vezanog antibiotika utiče i pH vrijednost rastvora tokom sorpcije. Iako su izmjerene pH vrijednosti tokom sorpcije na OC sa 0,547 mmol/g COOH nešto više nego za uzorke OC sa većim sadržajem COOH, u oba slučaja pH vrijednosti su iznad pK_a amino grupe tiazolnog prstena, čime je onemogućena značajnija jonizacija amino grupa neophodna za jonsko vezivanje. Takođe, porastom pH vrijednosti znatno iznad pK_a vrijednosti amino grupe tiazolnog prstena može se tumačiti i procentualno smanjenje količine vezanog lijeka sa porastom koncentracije

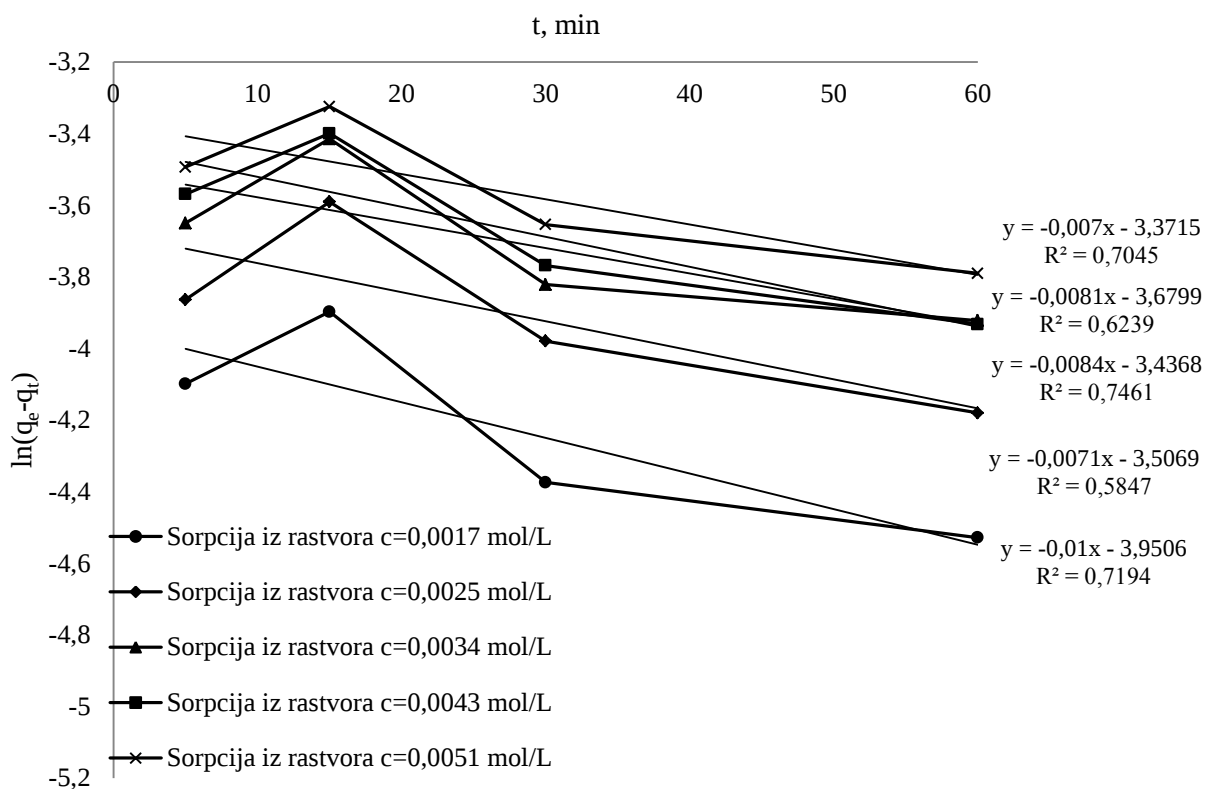
rastvora antibiotika. Tako je nakon 24 h sorpcije najviše antibiotika procentualno vezao uzorak OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa u kojem je izmjerena pH vrijednost 3,66 koja je najbliža pK_a vrijednosti amino grupe antibiotika. To znači da je prilikom sorpcije na ovaj uzorak OC bio prisutan najveći procenat jonizovanih amino grupa.

Pored toga, pH vrijednost tokom sorpcije utiče i na stvaranje vodoničnih veza i formiranje dimera između karboksilnih grupa antibiotika ($pK_a=2,1$) [157] i karboksilnih grupa OC ($pK_a \approx 4$) [16]. Sa porastom izmjerenih pH vrijednosti raste stepen jonizacije karboksilnih grupa i lijeka i OC. Pri tome su pH vrijednosti tokom sorpcije na uzorak OC sa 0,547 mmol/g COOH povoljnije za građenje dimera, čime se može tumačiti malo povećanje sadržaja vezanog cefotaksima na uzorcima OC sa većim sadržajem karboksilnih grupa (1,163 mmol/g).

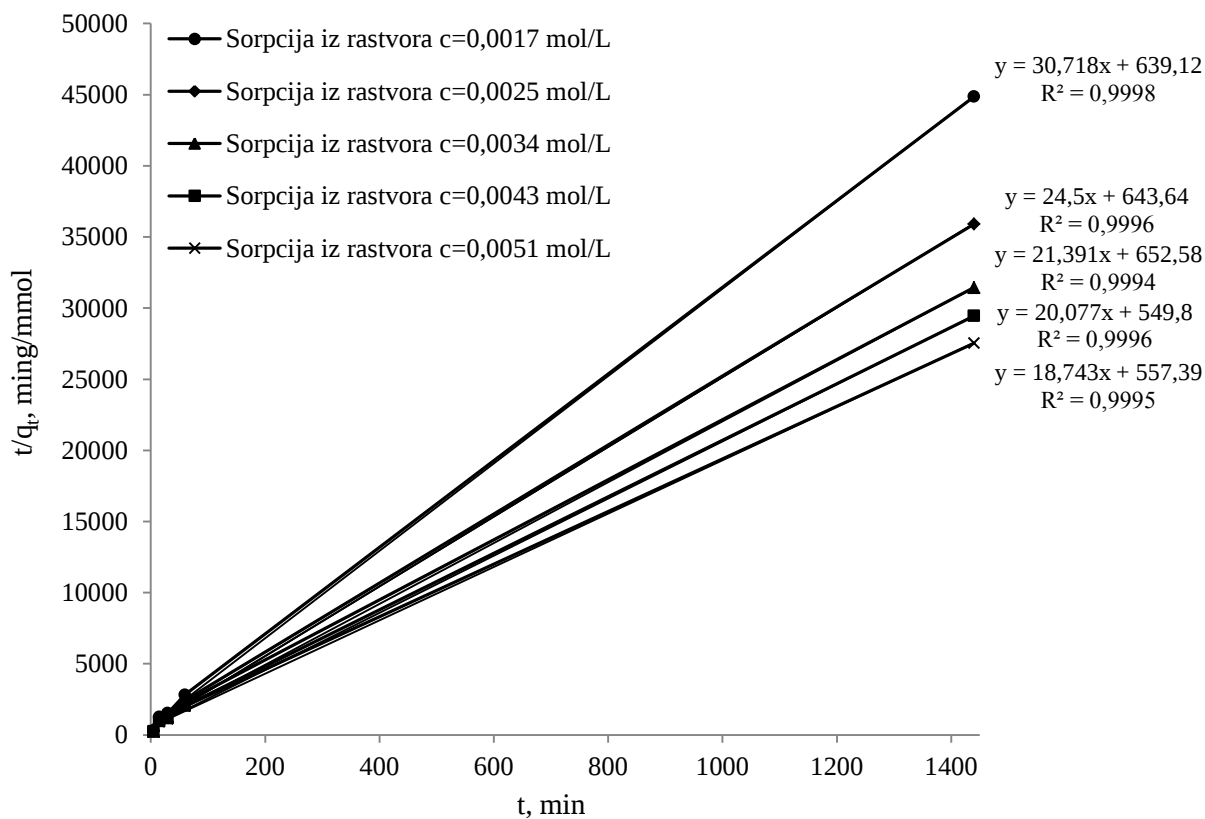
Takođe, benzenski i tiazolni prsten cefotaksima mogu učestvovati u stvaranju slabih Van der Valsovih interakcija slično kao i kod cefuroksima.

Uzevši u obzir sve pomenute faktore, može se pretpostaviti da je procentualno smanjenje vezivanja sa porastom koncentracije antibiotika prije svega rezultat slabije jonizacije NH_2 grupa lijeka. Izmjerene pH vrijednosti nisu omogućile značajnije prevođenje NH_2 grupa u katjonsku formu neophodnu za jonsko vezivanje, ali su pogodovale jonizaciji karboksilnih grupa antibiotika i OC, i stvaranju vodoničnih veza.

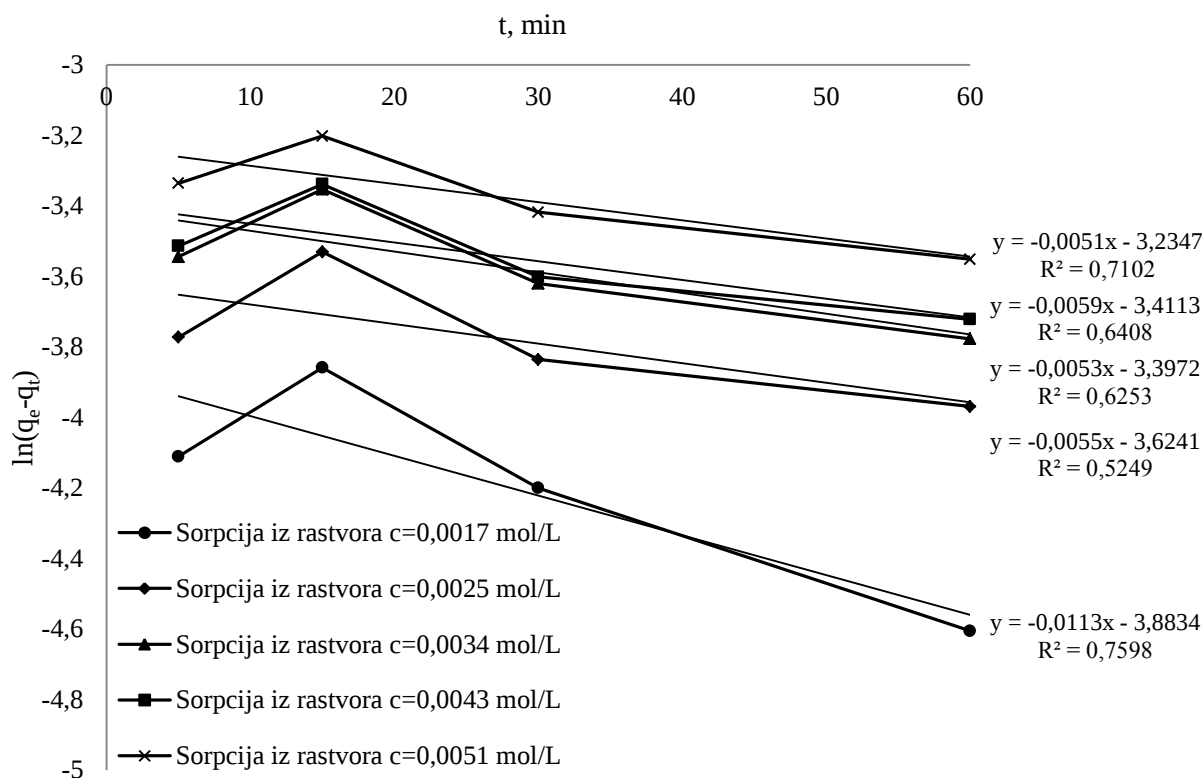
Kao i kod cefuroksima, dobijeni rezultati sorpcije su fitovani za dva Lagranžova modela, pseudo-prvog i pseudo-drugog reda da bi se odredio tip sorpcije. Ovi rezultati prikazani su na slikama 4.21. i 4.22. za uzorak OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa i na slikama 4.23. i 4.24. za uzorak OC sa 1,163 mmol/g COOH grupa.



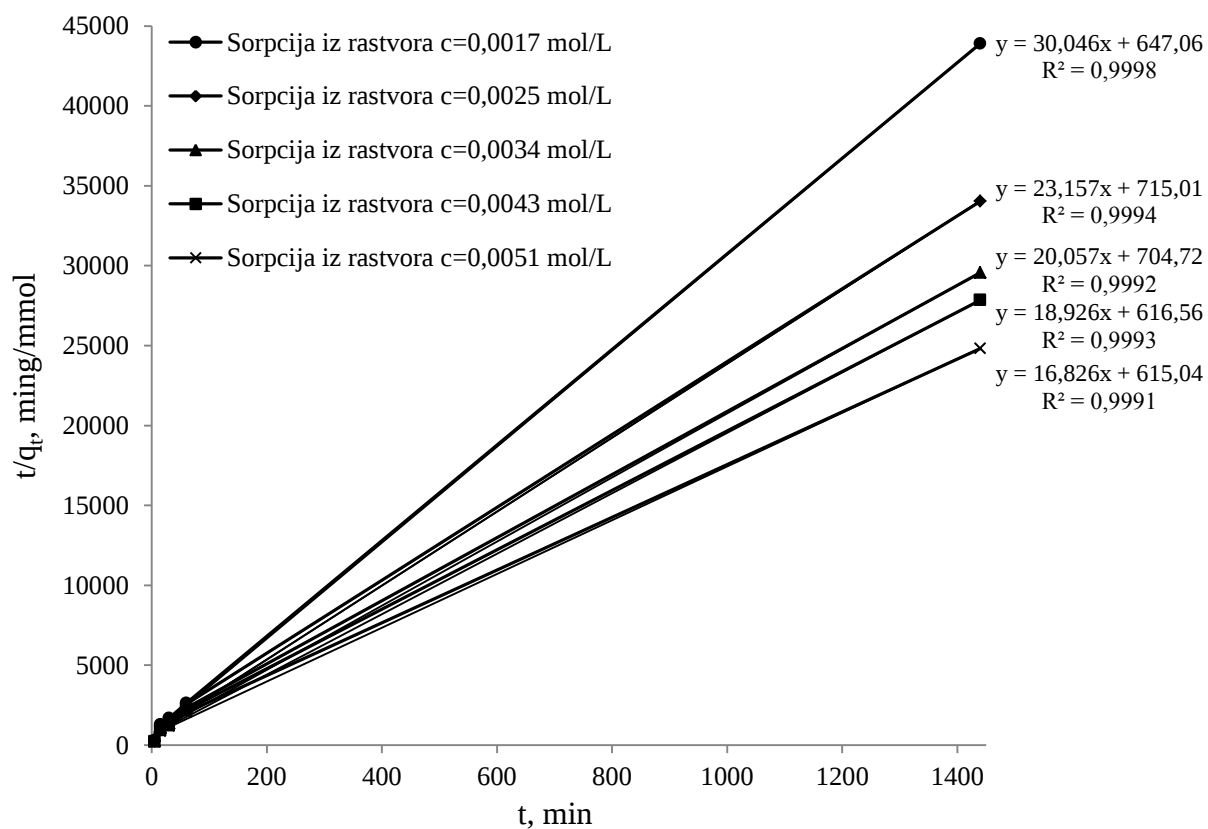
Slika 4.21. Lagranžov model pseudo-prvog reda za sorpciju na OC sa 0,547 mmol/g COOH



Slika 4.22. Lagranžov model pseudo-drugog reda za sorpciju na OC sa 0,547 mmol/g COOH



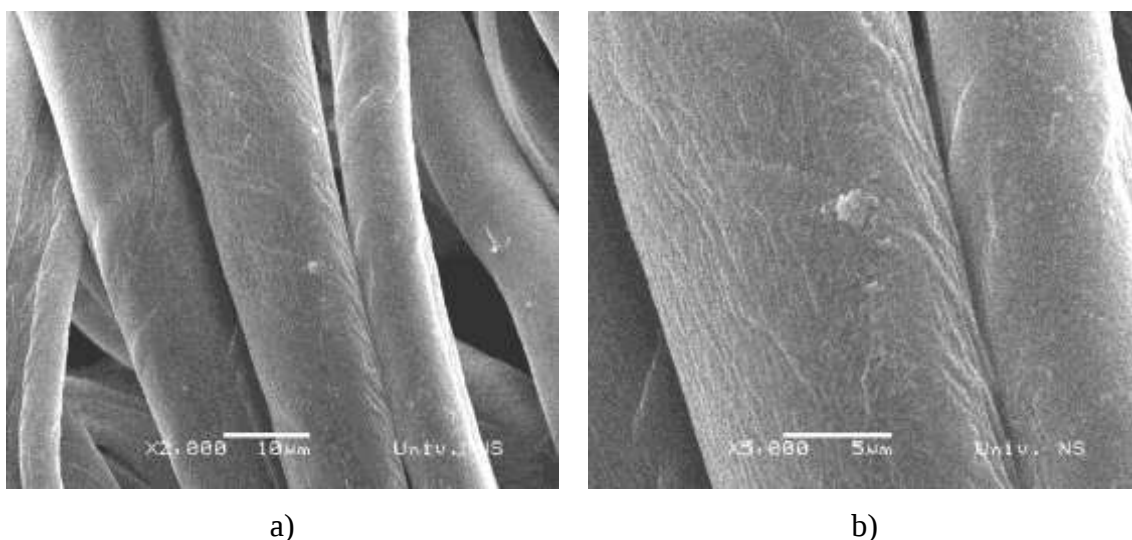
Slika 4.23. Lagranžov model pseudo-prvog reda za sorpciju na OC sa 1,163 mmol/g COOH



Slika 4.24. Lagranžov model pseudo-drugog reda za sorpciju na OC sa 1,163 mmol/g COOH

Dobijeno je da se u eksperimentalnim uslovima, za oba tipa zavoja, najbolje slaganje postiže sa modelom pseudo-drugog reda ($R^2=0,9991-0,9998$), što ukazuje da se prilikom vezivanja dešava i adsorpcija i hemisorpcija, i potvrđuje da se cefotaksim kao i cefuroksim vezao na OC različitim vezama.

Mikrostruktura biološki aktivnih vlakana dobijenih sorpcijom cefotaksima na OC sa 1,163 mmol/g karboksilnih grupa, okarakterisana je skenirajućom elektronskom mikroskopijom. SEM snimci OC sa vezanim cefotaksimom prikazani su na slici 4.25.



Slika 4.25. SEM mikrografije OC sa 1,163 mmol/g karboksilnih grupa sa vezanim cefotaksimom, razmjernik: a) 10 μm i b) 5 μm

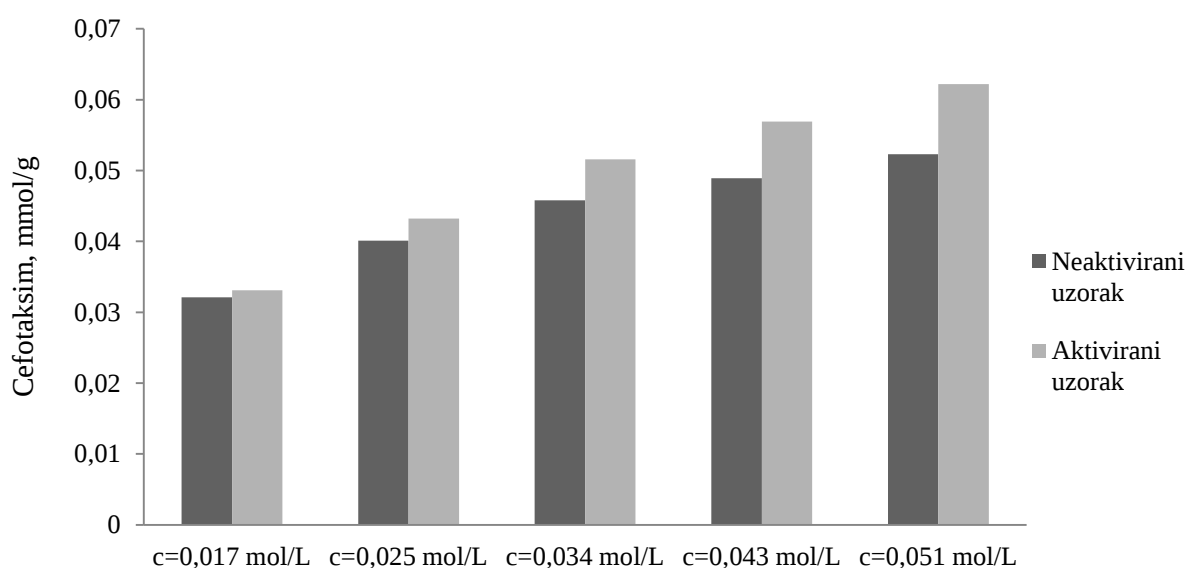
Dobijena biološki aktivna celulozna vlakna sa vezanim cefotaksimom imaju sličnu strukturu površine kao i OC vlakna, zbog čega se može pretpostaviti da vezani antibiotik obrazuje monomolekulski sloj, slično kao i kod cefuroksima. Čestice različitih mikrometarskih dimenzija neravnomjerno raspoređene na površini vlakana (slika 4.25. a) i b)) najvjerovatnije predstavljaju agregate molekula cefotaksima, nastale međusobnim vezivanjem molekula antibiotika.

Kao i kod cefuroksima, proveden je i eksperiment sa aktiviranjem OC vezivanjem Na^+ jona, sa ciljem povećanja količine vezanog lijeka. Kod aktiviranog uzorka OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa, za sve koncentracije antibiotika nakon 24 h sorpcije dolazi do povećanja količine vezanog lijeka (tabela 4.13.) u odnosu na isti uzorak OC koji nije aktiviran. Nakon 24 h sorpcije na aktiviranu OC procentualno se veže od 60,98 do 97,35% cefotaksima iz rastvora, pri čemu procenat vezanog antibiotika opada sa povećanjem koncentracije rastvora. Isti trend opadanja vezanog lijeka uočen je i kod uzoraka OC koji nisu aktivirani prije sorpcije.

Tabela 4.13. Količina vezanog cefotaksima na uzorak OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa, nakon aktivacije sa Na⁺, modul kupatila 1:200, temperatura 25±1°C

Trajanje sorpcije, min	Količina vezanog cefotaksima (mmol/g) na OC vezanog iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	c=1,7·10 ⁻³	c=2,5·10 ⁻³	c=3,4·10 ⁻³	c=4,3·10 ⁻³	c=5,1·10 ⁻³
1440	0,0331	0,0432	0,0516	0,0569	0,0622

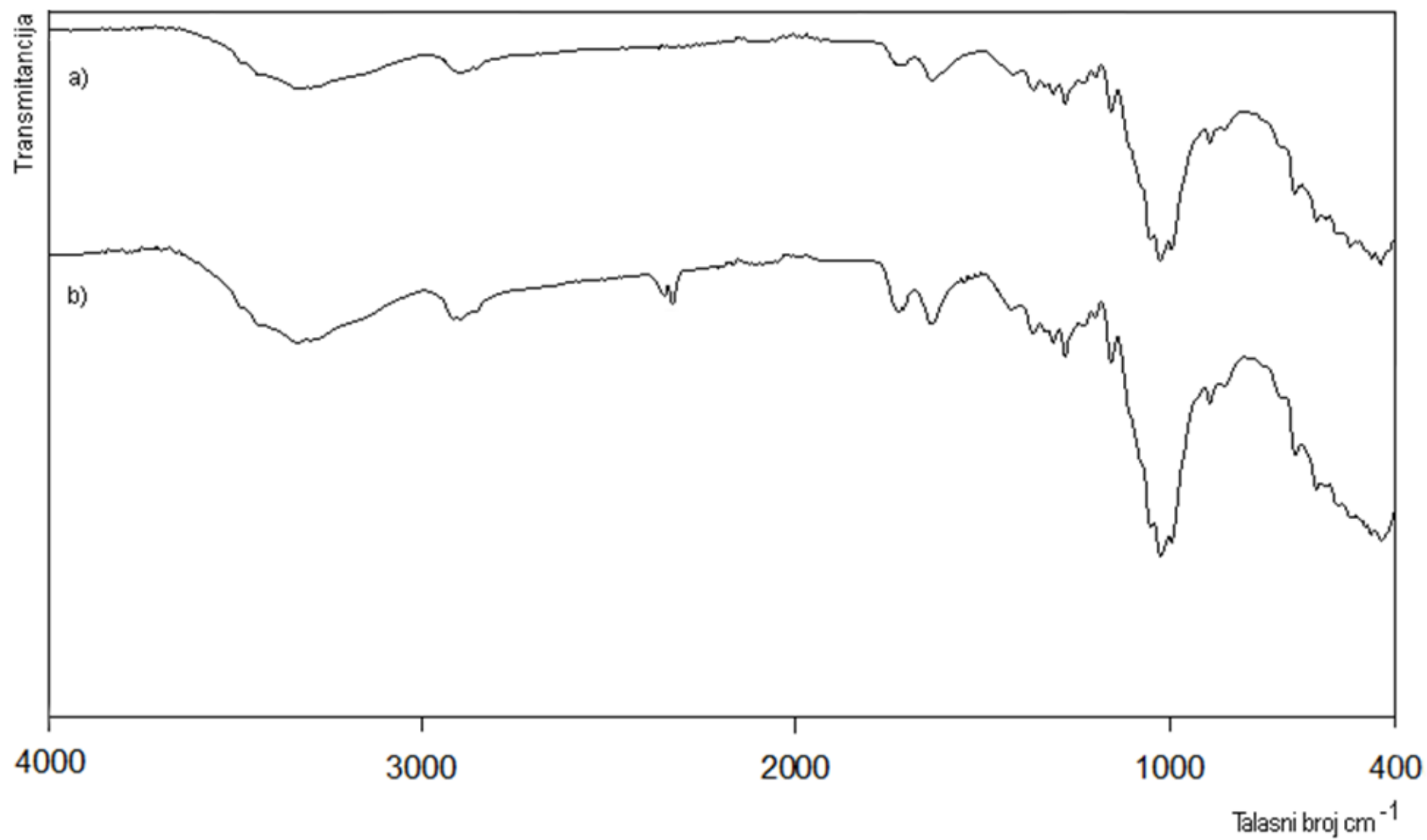
Odnos vezanog cefotaksima nakon 24 h sorpcije na neaktivirani i aktivirani uzorak OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa, prikazan je na slici 4.26.



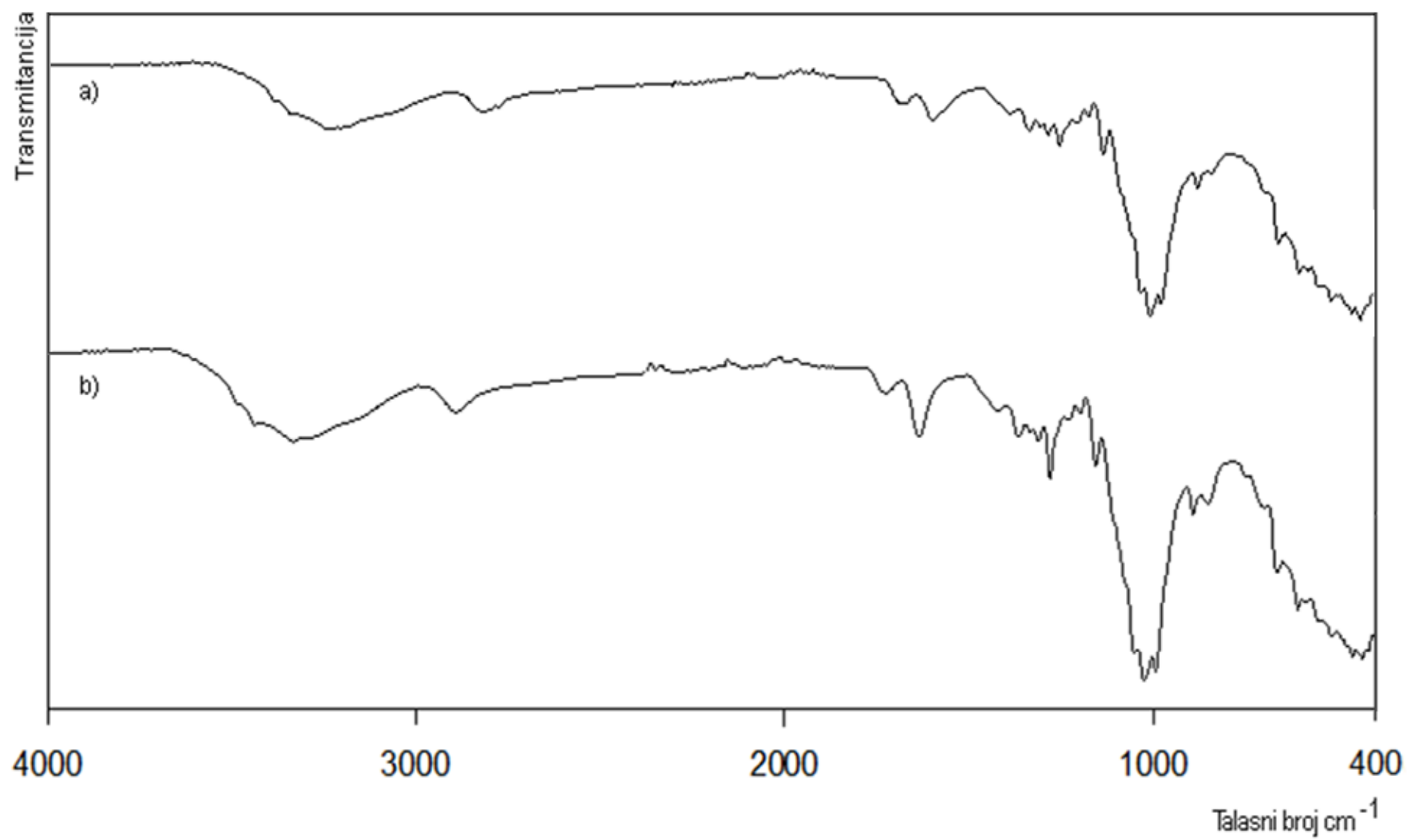
Slika 4.26. Količine vezanog cefotaksima na neaktiviranom i aktiviranom uzorku OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa

Uzorak OC sa većim sadržajem COOH grupa (1,163 mmol/g) aktiviranjem sa Na⁺, prevodi se u oblik soli rastvorljiv u vodi, i gubi formu zavoja zbog čega je isključen iz eksperimenta, kao i kod cefuroksima.

Na slikama 4.27. i 4.28. dati su FTIR spektri OC sa vezanim cefotaksimom. ApSORPCIONI signali za karakteristične funkcionalne grupe u spektru OC i spektru OC sa vezanim cefotaksimom skoro su identični, slično kao i kod cefuroksima. Maksimalne količine vezanog antibiotika za uzorke sa 0,547 i 1,163 mmol/g COOH iznosile su 2,49 i 2,77 %, respektivno, što je ispod granice detekcije za FTIR uređaj i nije dovoljno za registrovanje vodoničnih veza i ostalih nekovalentnih interakcija OC i cefotaksima.



Slika 4.27. FTIR spektri a) OC sa vezanim cefotaksimom i b) OC sa 1,163 mmol/g karboksilnih grupa



Slika 4.28. FTIR spektri a) OC sa vezanim cefotaksimom i b) OC sa 0,547 mmol/g karboksilnih grupa

4.3.2.2. Sorpcija cefotaksima na nemodifikovano celulozno vlakno

Eksperiment sa sorpcijom cefotaksima pokazao je da netretirani celulozni zavoj u vodenom rastvoru lijeka ne vezuje antibiotik, kao i kod cefuroksima.

4.3.2.3. Rezultati desorpcije cefotaksima u fiziološkom rastvoru

Iz podataka za desorpciju cefotaksima sa OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa prikazanih u tabeli 4.14. može se vidjeti da se nakon 24 h u fiziološkom rastvoru sa oksidovane celuloze otpusti od 0,0223 do 0,0327 mmol/g lijeka, odnosno od 62,52 do 69,47% od ukupno vezanog antibiotika.

Tabela 4.14. Količina otpuštenog cefotaksima sa OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa, modul kupatila 1:100, temperatura $25\pm 1^{\circ}\text{C}$

Trajanje desorpcije, h	Količina otpuštenog cefotaksima (mmol/g) sa OC vezanog iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	$c=1,7\cdot 10^{-3}$	$c=2,5\cdot 10^{-3}$	$c=3,4\cdot 10^{-3}$	$c=4,3\cdot 10^{-3}$	$c=5,1\cdot 10^{-3}$
1	0,0075	0,0110	0,0118	0,0132	0,0164
2	0,0117	0,0144	0,0164	0,0183	0,0191
3	0,0132	0,0157	0,0178	0,0197	0,0204
4	0,0186	0,0199	0,0222	0,0236	0,0243
24	0,0223	0,0274	0,0291	0,0308	0,0327

Kod uzoraka OC sa 1,163 mmol/g COOH (tabela 4.15.) nakon 24 h u fiziološkom rastvoru sa oksidovane celuloze se otpusti od 0,0223 do 0,0361 mmol/g cefotaksima, odnosno od 62,24 do 67,69 % od ukupno vezanog antibiotika.

Iako lijek sa OC gradi jonske veze, otpušta se relativno velika količina antibiotika, što se može objasniti činjenicom da se dio lijeka veže vodoničnim vezama i elektrostatičkim interakcijama na OC, kao i građenjem agregata antibiotika na površini. U poređenju sa cefuroksimom, cefotaksim se veže u većoj količini, pri čemu se sa OC otpušta (procentualno) manja količina lijeka. Ova razlika u vezivanju i otpuštanju u odnosu na cefuroksim se može pripisati građenju jonskih veza. Kao najjače među uspostavljenim vezama OC-antibiotik,

jonske veze se najteže raskidaju i doprinijele su da se cefotaksim za isto vrijeme otpušta sporije od cefuroksima.

Tabela 4.15. Količina otpuštenog cefotaksima sa OC sa 1,163 mmol/g COOH grupa, modul kupatila 1:100, temperatura 25±1°C

Trajanje desorpcije, h	Količina otpuštenog cefotaksima (mmol/g) sa OC vezanog iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	$c=1,7 \cdot 10^{-3}$	$c=2,5 \cdot 10^{-3}$	$c=3,4 \cdot 10^{-3}$	$c=4,3 \cdot 10^{-3}$	$c=5,1 \cdot 10^{-3}$
1	0,0095	0,0100	0,0116	0,0135	0,0157
2	0,0143	0,0176	0,0188	0,0203	0,0216
3	0,0186	0,0195	0,0203	0,0219	0,0230
4	0,0201	0,0207	0,0215	0,0231	0,0247
24	0,0223	0,0291	0,0304	0,0322	0,0361

4.3.3. SORPCIJA I DESORPCIJA DIKLOFENAKA

Diklofenak, nesteroidni antiinflamatorni i antireumatski lijek korišten je za dobijanje biološki aktivnog analgetskog vlakna. Sorpcija je vršena na nemodifikovanu celulozu, OC u obliku zavoja sa 0,547 i 1,163 mmol/g karboksilnih grupa i na uzorke OC aktivirane Na⁺.

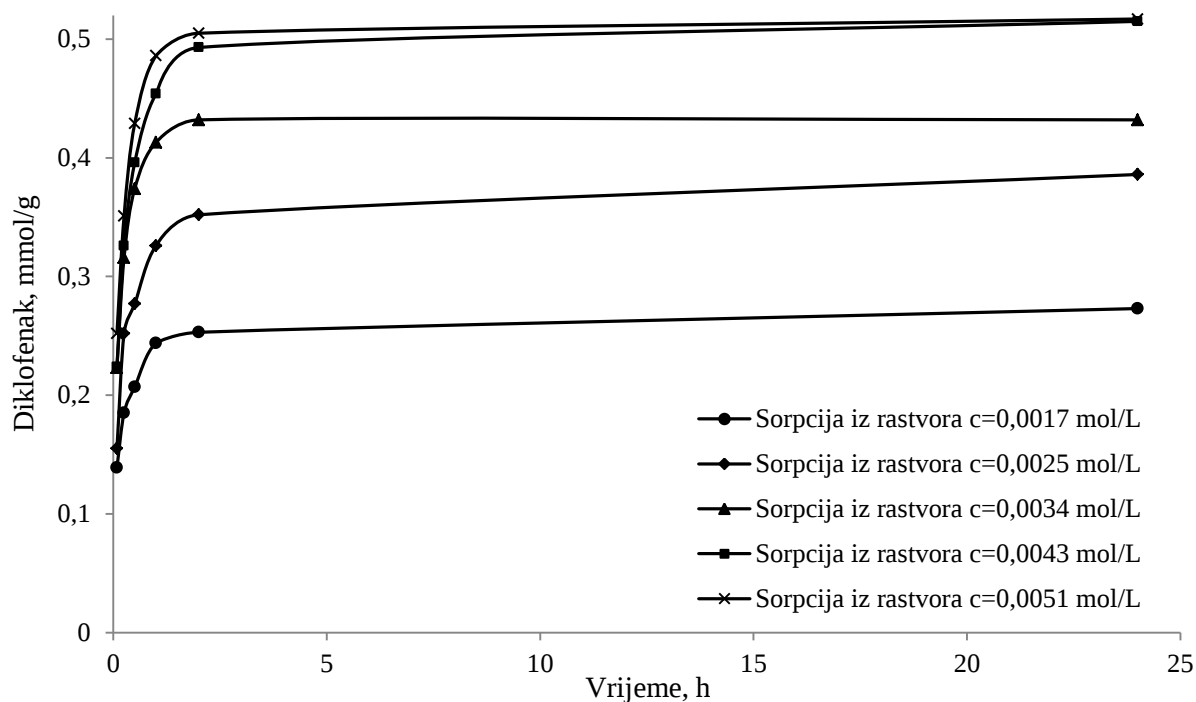
4.3.3.1. Rezultati sorpcije diklofenaka na oksidovano celulozno vlakno

Rezultati sorpcije diklofenaka na OC prikazani su u tabeli 4.16. i 4.17 i na slikama 4.29. i 4.30. Količina vezanog diklofenaka raste sa vremenom i nakon 24 sata sorpcije postignuta je maksimalna količina vezanog analgetika od 0,5167 i 0,8141 mmol/g OC za uzorke sa 0,547 i 1,163 mmol/g karboksilnih grupa, respektivno.

Tabela 4.16. Količina vezanog diklofenaka na OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa, modul kupatila 1:200, temperatura 26±1°C

Trajanje sorpcije, min	Količina vezanog diklofenaka (mmol/g) na OC iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	c=1,7·10 ⁻³	c=2,5·10 ⁻³	c=3,4·10 ⁻³	c=4,3·10 ⁻³	c=5,1·10 ⁻³
5	0,1388	0,1549	0,2226	0,2240	0,2521
15	0,1854	0,2517	0,3160	0,3256	0,3510
30	0,2070	0,2786	0,3740	0,3961	0,4298
60	0,2437	0,3265	0,4132	0,4535	0,4837
120	0,2526	0,3522	0,4321	0,4928	0,5054
1440	0,2725	0,3857	0,4322	0,5161	0,5167

Na osnovu podataka iz tabela 4.16. i 4.17. kao i slika 4.29. i 4.30. uočljivo je da količina vezanog diklofenaka raste sa porastom sadržaja karboksilnih grupa i koncentracije rastvora iz koga se vrši sorpcija, kao i sa vremenom sorpcije. Od svih lijekova koji su vezani na OC, diklofenak se vezao u najvećoj količini. Maksimalna količina lijeka vezana je na uzorak OC sa 1,163 mmol/g iz rastvora koncentracije 5,1·10⁻³ mol/L.

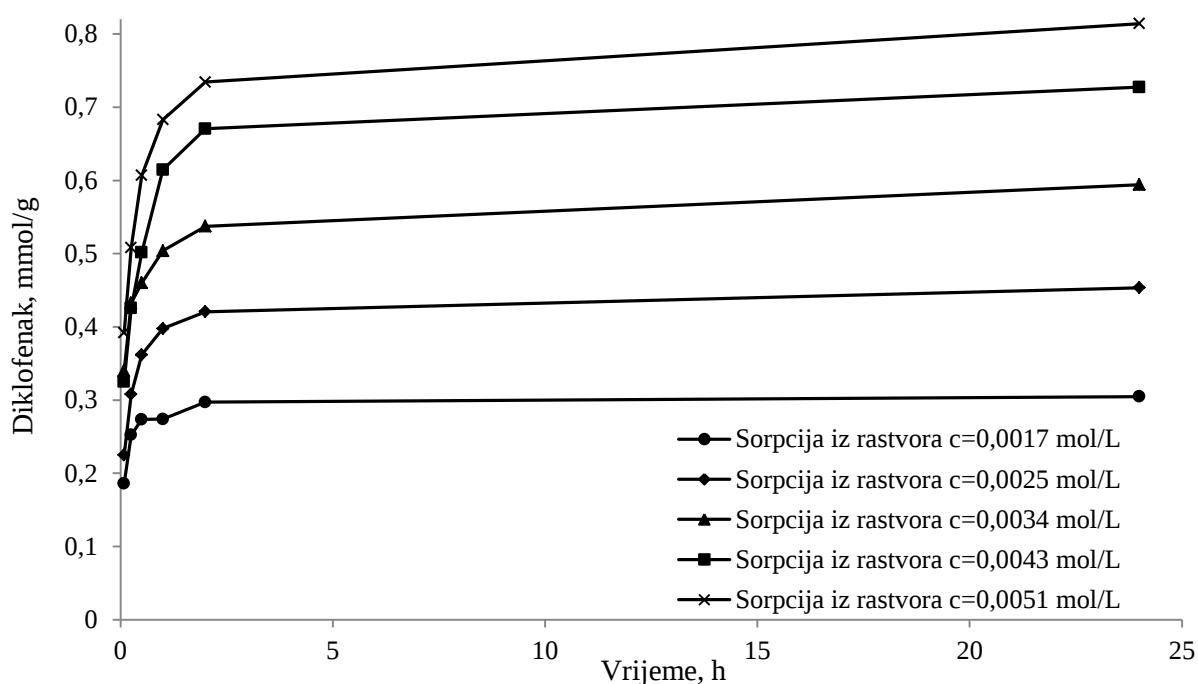


Slika 4.29. Količina vezanog diklofenaka na OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa

Tabela 4.17. Količina vezanog diklofenaka na OC sa 1,163 mmol/g COOH grupa, modul kupatila 1:200, temperatura $26 \pm 1^\circ\text{C}$

Trajanje sorpcije, min	Količina vezanog diklofenaka (mmol/g) na OC iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	$c=1,7 \cdot 10^{-3}$	$c=2,5 \cdot 10^{-3}$	$c=3,4 \cdot 10^{-3}$	$c=4,3 \cdot 10^{-3}$	$c=5,1 \cdot 10^{-3}$
5	0,1860	0,2250	0,3398	0,3249	0,3918
15	0,2522	0,3077	0,4326	0,4255	0,5082
30	0,2735	0,3619	0,4600	0,5015	0,6069
60	0,2739	0,3976	0,5040	0,6145	0,6829
120	0,2970	0,4207	0,5374	0,6705	0,7343
1440	0,3048	0,4534	0,5943	0,7274	0,8141

Diklofenak u svojoj strukturi ima dva benzenska prstena, karboksilnu grupu, sekundarnu amino grupu i dva atoma hlora, a odlikuje ga i značajna konformaciona fleksibilnost [199], što omogućava uspostavljanje višestrukih hemijskih veza lijeka sa oksidovanim celuloznim zavojem.



Slika 4.30. Količina vezanog diklofenaka na OC sa 1,163 mmol/g COOH grupa

Sekundarna amino grupa diklofenaka može da gradi jonske veze sa karboksilnim grupama oksidovane celuloze, a karboksilna grupa analgetika može da se poveže vodoničnim vezama sa karboksilnim grupama OC uz stvaranje dimera [195].

Takođe, benzenski prstenovi diklofenaka mogu učestvovati u stvaranju Van der Valsovih interakcija sa glukoznim jedinicama celuloze (π - π interakcije) i OH grupama celuloze (π -H interakcije) [197].

Tabela 4.18. Promjena pH tokom sorpcije diklofenaka na OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa, temperatura $26 \pm 1^\circ\text{C}$

Trajanje sorpcije, min	Promjena pH tokom sorpcije diklofenaka na OC iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	$c=1,7 \cdot 10^{-3}$	$c=2,5 \cdot 10^{-3}$	$c=3,4 \cdot 10^{-3}$	$c=4,3 \cdot 10^{-3}$	$c=5,1 \cdot 10^{-3}$
5	5,90	6,05	6,33	6,45	6,67
15	6,13	6,37	6,59	6,67	6,80
30	6,11	6,35	6,49	6,71	6,80
60	6,05	6,28	6,49	6,59	6,68
120	5,91	6,21	6,42	6,57	6,60
1440	5,80	6,51	6,44	6,53	6,76

Nakon 24 h sorpcije (tabela 4.18. i 4.19.) izmjerene su pH vrijednosti u intervalu od 5,80 do 6,76 za uzorke OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa, i neznatno niže, u intervalu od 5,49 do 6,17 za uzorke OC sa 1,163 mmol/g COOH.

Tabela 4.19. Promjena pH tokom sorpcije diklofenaka na OC sa 1,163 mmol/g COOH grupa, temperatura $26\pm 1^{\circ}\text{C}$

Trajanje sorpcije, min	Promjena pH tokom sorpcije diklofenaka na OC iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	$c=1,7\cdot 10^{-3}$	$c=2,5\cdot 10^{-3}$	$c=3,4\cdot 10^{-3}$	$c=4,3\cdot 10^{-3}$	$c=5,1\cdot 10^{-3}$
5	5,93	6,32	6,51	6,20	6,41
15	5,97	6,30	6,43	6,37	6,37
30	5,88	6,13	6,23	6,40	6,33
60	5,68	5,96	6,07	6,33	6,27
120	5,52	5,48	6,12	6,16	6,17
1440	6,17	5,49	6,01	6,08	6,05

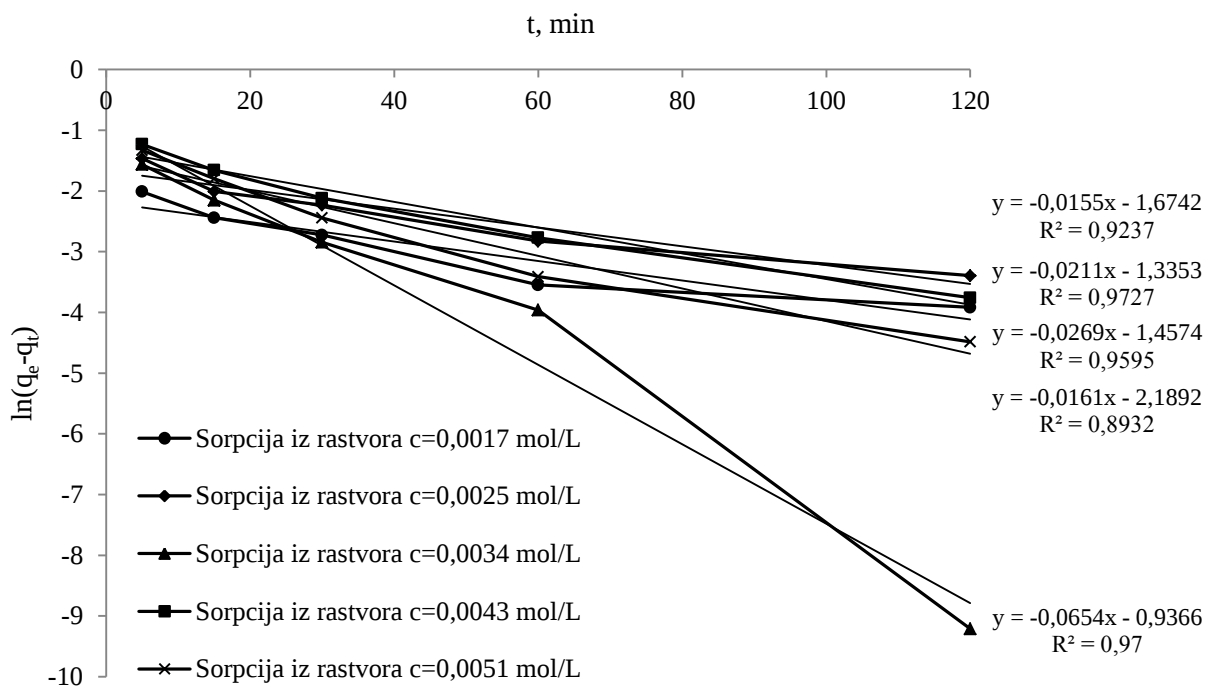
Pri ovim pH vrijednostima sekundarna amino grupa se ne prevodi u katjonsku formu jer je jonizovana tek ispod $\text{pH}\approx 2,2$ [200], što onemogućava stvaranja jonskih veza između lijeka i OC.

Postignute pH vrijednosti pogoduju disocijaciju COOH grupe oksidovane celuloze ($\text{pK}_a \approx 4$) [16] i karboksilne grupe diklofenaka ($\text{pK}_a\approx 4,15$) [165], što omogućava stvaranje dimera, kao što je bio slučaj kod vezivanja cefuroksima na OC. Pored toga, diklofenak ima sposobnost stvaranja vodoničnih veza između sekundarne amino grupe i atoma Cl sa OH grupama oksidovane celuloze.

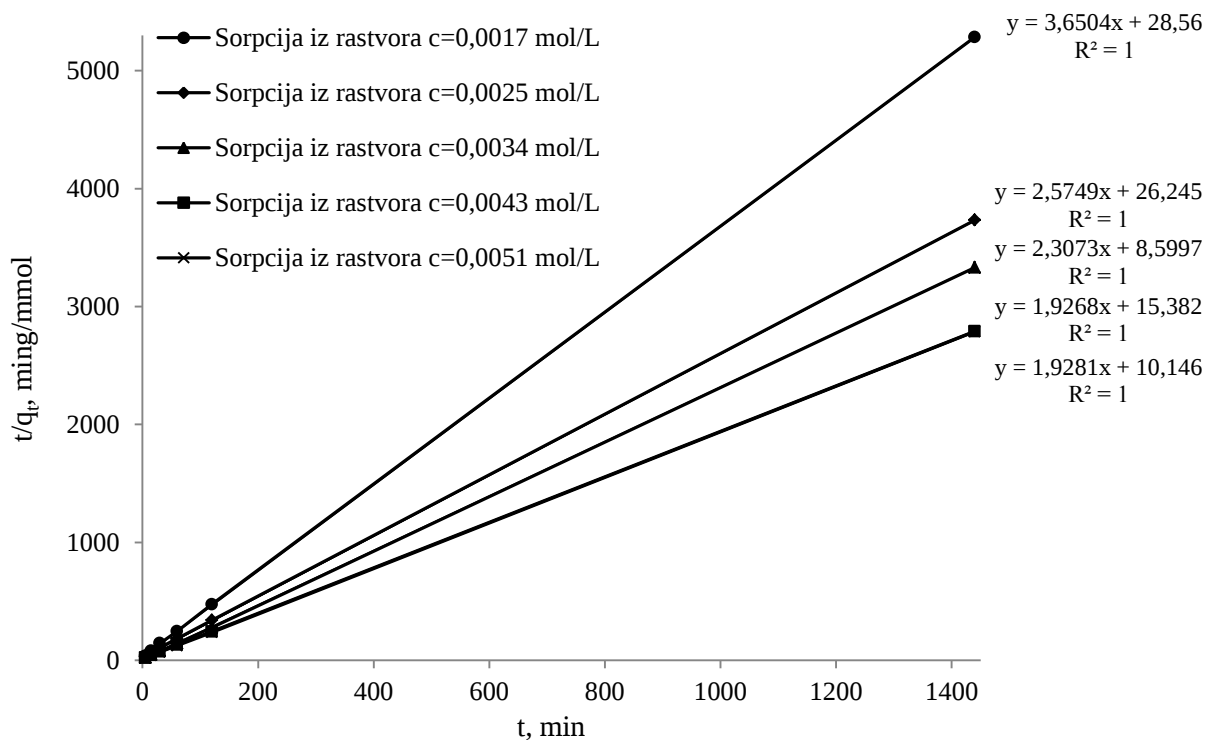
Količina vezanog lijeka raste sa porastom koncentracije diklofenaka i sadržajem karboksilnih grupa OC. Međutim, količina vezanog lijeka se ne povećava proporcionalano sa porastom koncentracije iz koje se vrši sorpcija. Ovo se dešava zato što na količinu vezanog lijeka, pored koncentracije rastvora analgetika utiču i drugi faktori kao što su promjena pH rastvora tokom procesa sorpcije i pristupačnost reaktivnih mjesta na OC.

I pored smanjenja sorpcionih osobina OC sa povećanjem sadržaja karboksilnih grupa, značajniji porast vezivanja analgetika može se tumačiti činjenicom da su molekule diklofenaka manje u odnosu na molekule korištenih antibiotika, i stoga on lakše pristupa reakcionim centrima OC u unutrašnjosti vlakana.

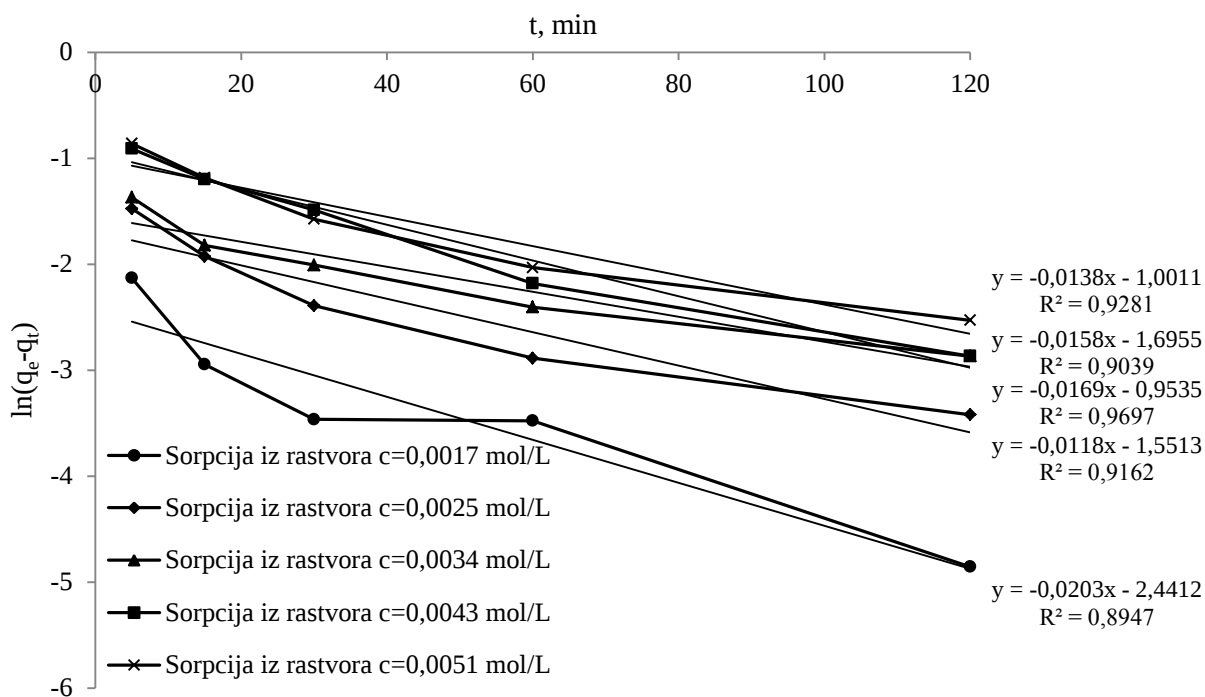
Radi određivanja tipa sorpcije diklofenaka na OC, rezultati sorpcije su fitovani za dva literaturno najčešće korištena Lagranžova modela, pseudo-prvog i pseudo-drugog reda, za uzorak OC sa 0,547 (slike 4.31. i 4.32.) i 1,163 (slike 4.33. i 4.34.) mmol/g COOH grupa.



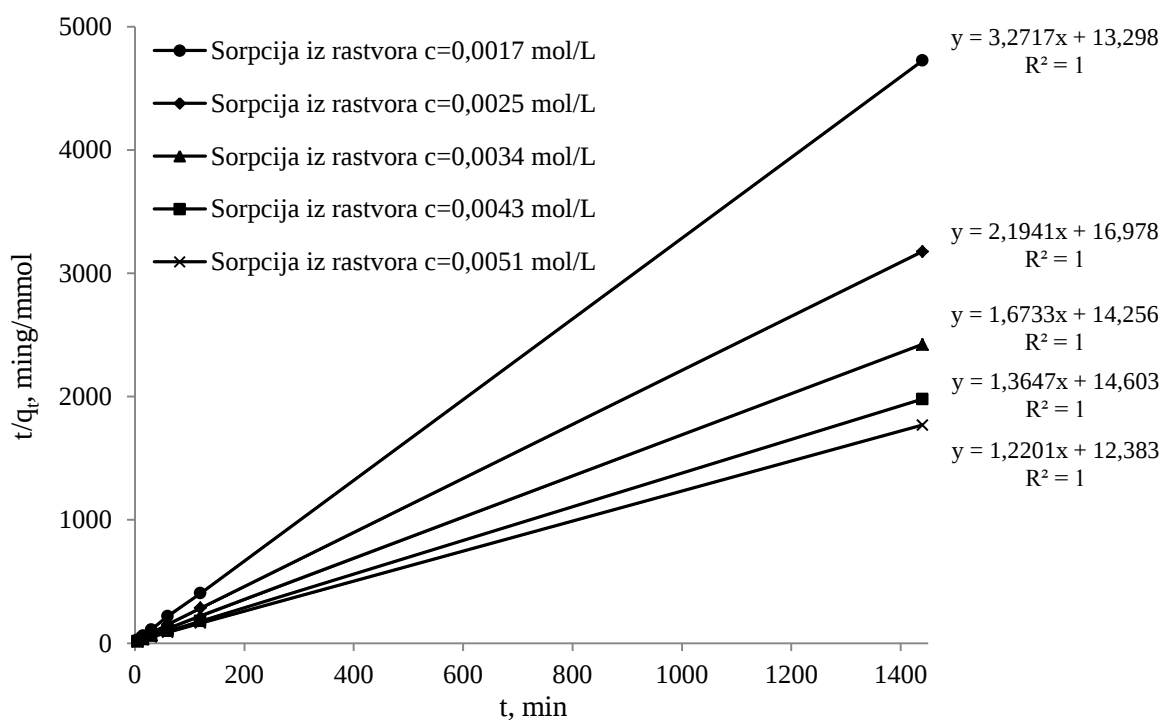
Slika 4.31. Lagranžov model pseudo-prvog reda za sorpciju na OC sa 0,547 mmol/g COOH



Slika 4.32. Lagranžov model pseudo-drugog reda za sorpciju na OC sa 0,547 mmol/g COOH



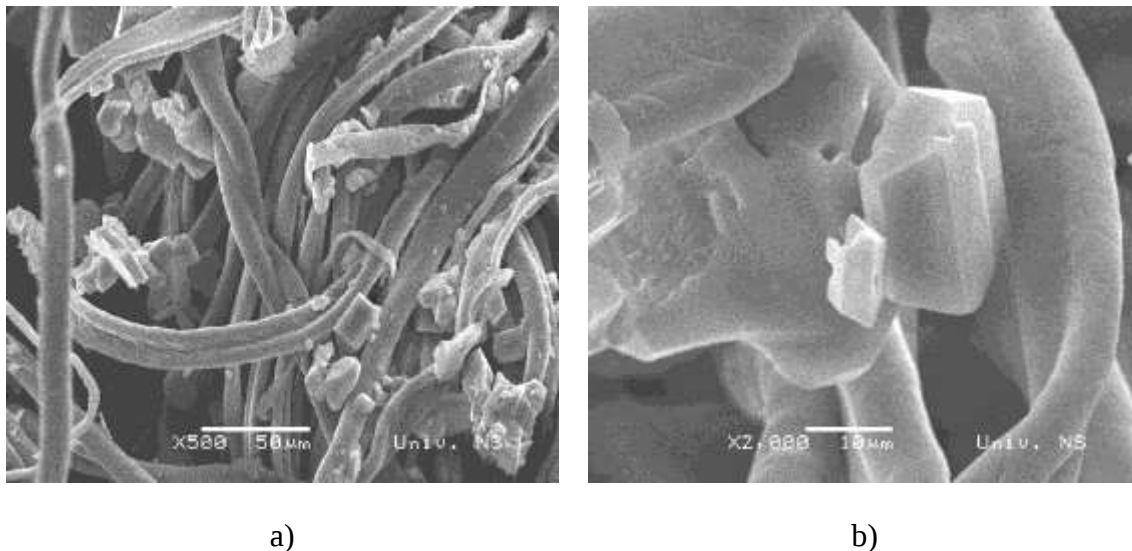
Slika 4.33. Lagranžov model pseudo-prvog reda za sorpciju na OC sa 1,163 mmol/g COOH



Slika 4.34. Lagranžov model pseudo-drugog reda za sorpciju na OC sa 1,163 mmol/g COOH

Dobijeno je da se u eksperimentalnim uslovima, za oba tipa zavoja, najbolje slaganje postiže sa modelom pseudo-drugog reda ($R^2=1$), što ukazuje da se prilikom vezivanja dešava i adsorpcija i hemisorpcija, što je bio slučaj i kod sorpcije antibiotika.

Mikrostruktura biološki aktivnih vlakana dobijenih sorpcijom diklofenaka na OC sa 1,163 mmol/g karboksilnih grupa, okarakterisana je skenirajućom elektronskom mikroskopijom. SEM snimci OC sa vezanim diklofenakom prikazani su na slici 4.35.



Slika 4.35. SEM mikrografije OC sa 1,163 mmol/g karboksilnih grupa sa vezanim diklofenakom, razmjernik: a) 50 µm i b) 10 µm

Dobijena biološki aktivna celulozna vlakna sa vezanim diklofenakom imaju sličnu strukturu površine kao i OC vlakna (slika 4.4.), zbog čega se može pretpostaviti da vezani analgetik obrazuje monomolekulski sloj. Čestice različitih mikrometarskih dimenzija neravnomjerno raspoređene na površini vlakana (slika 4.35. a) i b)) najvjerojatnije predstavljaju agregate molekula diklofenaka, koji nastaju usljed formiranja dimera i vodoničnih veza između molekula diklofenaka. Formirani agregati su izuzetno veliki, što može biti jedan od faktora koji doprinose povećanju količine vezanog lijeka sa porastom koncentracije rastvora diklofenaka iz koga se veže na OC. Takođe, zbog znatno manjih dimenzija molekule diklofenaka u odnosu na korištene antibiotike, olakšan je pristup većem broju aktivnih centara, kao i prodiranje između vlakana, što se vidi na slici 4.35.

Iako se lijek vezao pretežno vodoničnim vezama i Van der Valsovim interakcijama, vezana je relativno velika količina, izraženo u procentima (tabela 4.20.) kao količina vezanog diklofenaka u odnosu na količinu lijeka u rastvoru.

Tabela 4.20. Količina vezanog diklofenaka na OC izražena u %, nakon 24h

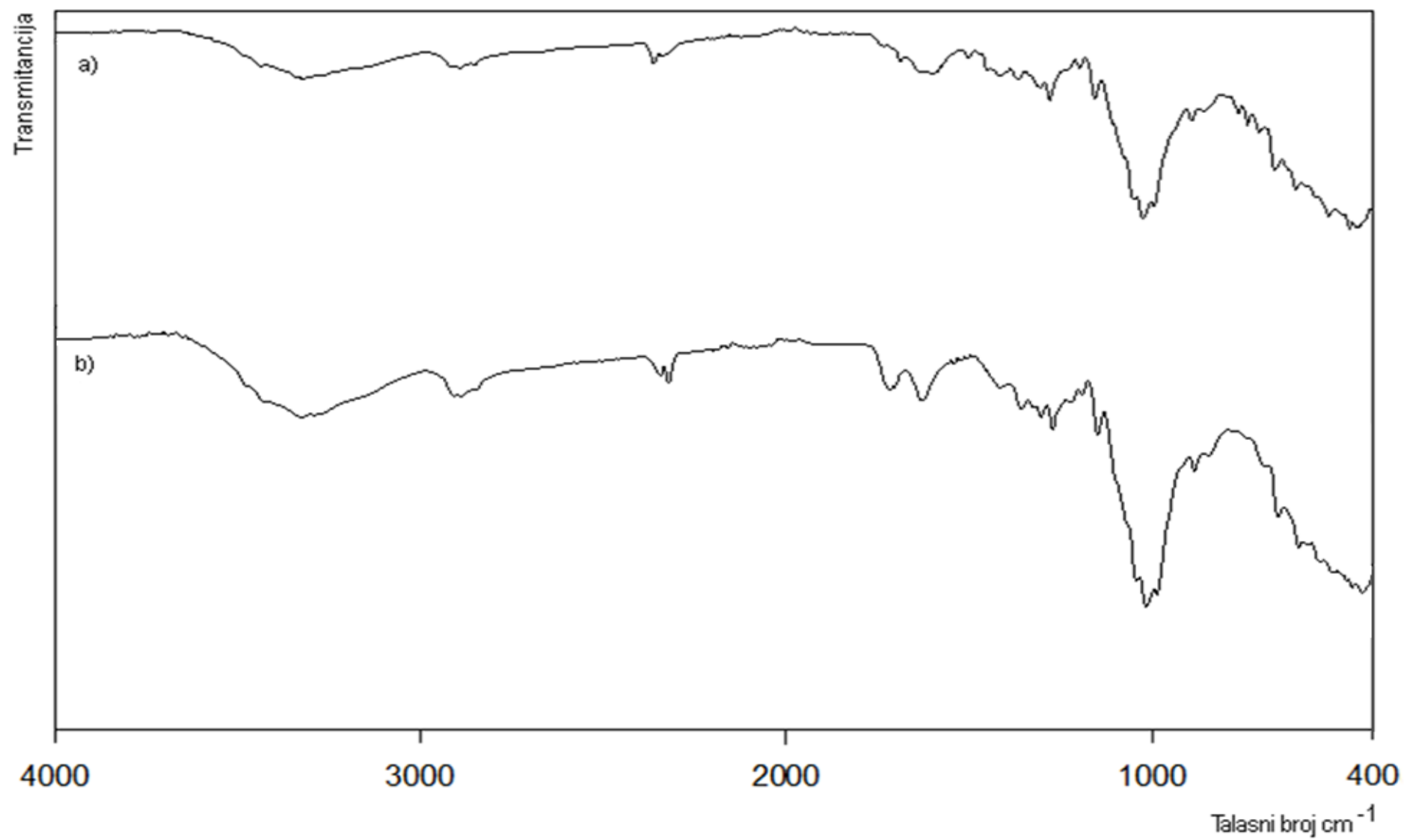
Koncentracija lijeka	Procenat vezanog diklofenaka	
	0,547 mmol/g OC	1,163 mmol/g OC
$c=1,7 \cdot 10^{-3}$	82,42	89,82
$c=2,5 \cdot 10^{-3}$	79,97	90,60
$c=3,4 \cdot 10^{-3}$	66,69	87,39
$c=4,3 \cdot 10^{-3}$	64,02	84,53
$c=5,1 \cdot 10^{-3}$	55,45	79,84

Značajnom vezivanju diklofenaka na OC doprinosi više faktora. Manje dimenzije molekule diklofenaka u odnosu na korištene antibiotike i konformaciona fleksibilnost molekula omogućava pristup većem broju aktivnih centara oksidovane celuloze, dok pH vrijednosti tokom sorpcije omogućavaju potpunu jonizaciju COOH grupa i stvaranje velikog broja vodoničnih veza.

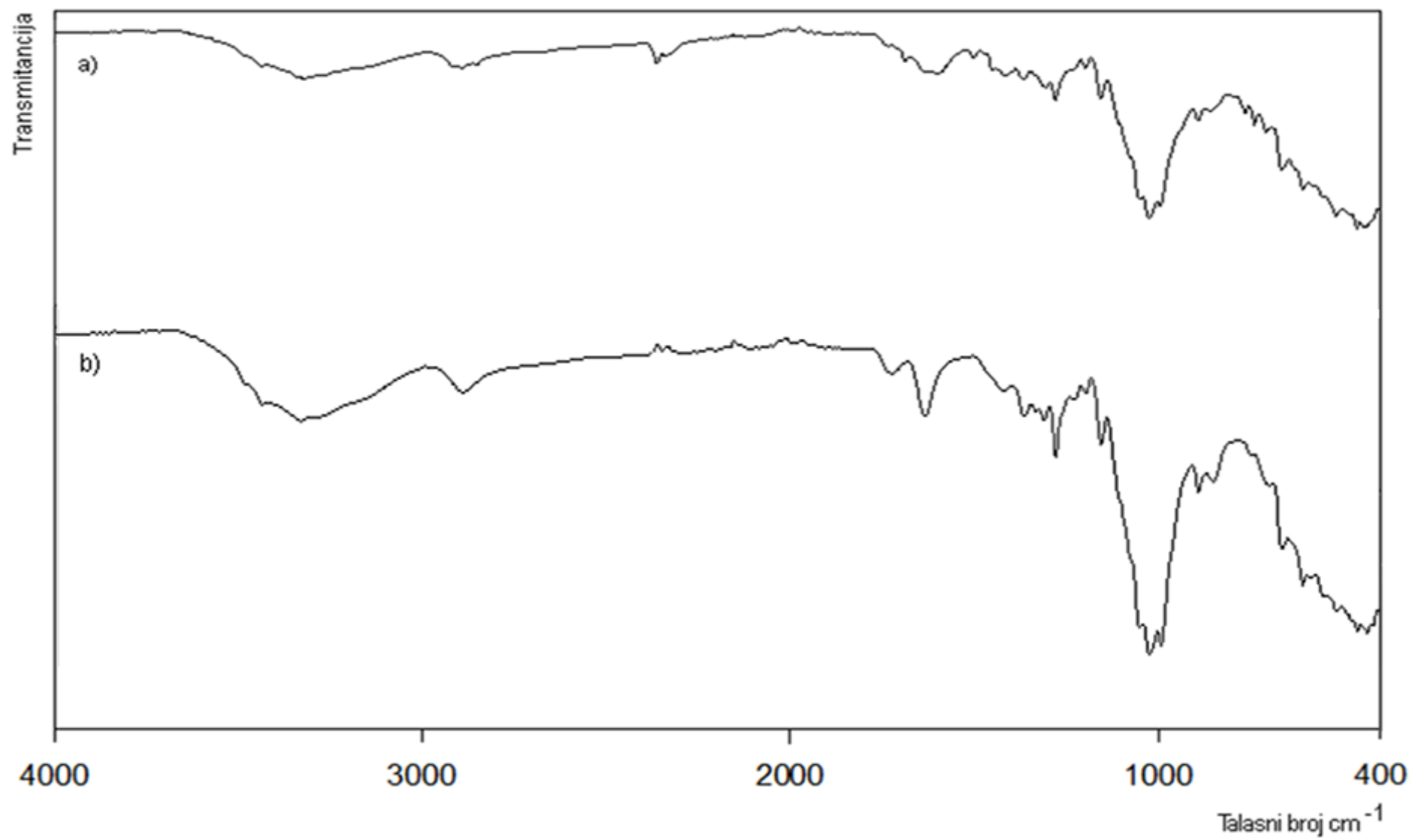
Kao i kod antibiotika vršeno je aktiviranje OC vezivanjem Na^+ , sa ciljem povećanja sadržaja vezanog lijeka. Kod aktiviranih uzorka OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa količina vezanog lijeka se ne povećava, ili je povećanje zanemarljivo. Iako diklofenak posjeduje amino grupu pH vrijednosti tokom sorpcije onemogućavaju njenu jonizaciju i jonsko vezivanje sa COOH grupama OC. Uzorak OC sa većim sadržajem COOH grupa (1,163 mmol/g), aktiviranjem sa Na^+ prevodi se u oblik soli, rastvorljiv u vodi i gubi formu zavoja, zbog čega je isključen iz eksperimenta.

Na slikama 4.36. i 4.37. dati su FTIR spektri OC sa vezanim diklofenakom. Na FTIR spektrima OC sa vezanim analgetikom uočava se smanjivanje pika za karbonilnu grupu kod 1740 cm^{-1} (spektar b) slika 4.36. i 4.37.) kao posljedica prevođenja OC iz oblika sa slobodnim COOH grupama u oblik kalijumove soli, tokom sorpcije OC u rastvoru diklofenak-kalijuma. To potvrđuje i položaj pika na spektru b) za karboksilatni anjon kod 1600 cm^{-1} i pika u području $1350\text{-}1450 \text{ cm}^{-1}$ [201].

Diklofenak se može aplicirati transdermalno u obliku gelova i flastera. Obzirom da je količina lijeka vezanog na OC po gramu vlakna višestruko veća od mase lijeka po gramu nosača u provedenim istraživanjima [202], OC vlakno sa vezanim diklofenakom zadovoljava osnovni uslov za potencijalnu terapijsku primjenu.



Slika 4.36. FTIR spektri a) OC sa vezanim diklofenakom i b) OC sa 1,163 mmol/g karboksilnih grupa



Slika 4.37. FTIR spektri a) OC sa vezanim diklofenakom i b) OC sa 0,547 mmol/g karboksilnih grupa

4.3.3.2. Sorpcija diklofenaka na nemodifikovano celulozno vlakno

Eksperiment sa sorpcijom diklofenaka pokazao je da netretirani celulozni zavoj u vodenom rastvoru lijeka ne vezuje analgetik. Kao i kod antibiotika, ovo se može objasniti slabijom hidrofilnošću, slabijim sorpcionim osobinama netretirane celuloze, kao i nepostojanjem odgovarajućih reaktivnih (jonoizmjenjivačkih) centara na celuloznom zavoju.

4.3.3.3. Rezultati desorpcije diklofenaka u fiziološkom rastvoru

Iz podataka za desorpciju diklofenaka sa OC sa 0,547 mmol/g prikazanih u tabeli 4.21. može se vidjeti da se nakon 24 h u fiziološkom rastvoru sa oksidovane celuloze otpusti od 0,0228 do 0,0474 mmol/g, odnosno od 6,44 do 9,48 % od ukupne količine vezanog analgetika.

Tabela 4.21. Količina otpuštenog diklofenaka sa OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa, modul kupatila 1:100, temperatura $25 \pm 1^\circ\text{C}$

Trajanje desorpcije, h	Količina otpuštenog diklofenaka (mmol/g) sa OC, vezanog iz rastvora koncentracije (mmol/L)				
	$c=1,7 \cdot 10^{-3}$	$c=2,5 \cdot 10^{-3}$	$c=3,4 \cdot 10^{-3}$	$c=4,3 \cdot 10^{-3}$	$c=5,1 \cdot 10^{-3}$
1	0,0047	0,0052	0,0059	0,0084	0,0112
2	0,0053	0,0057	0,0065	0,0089	0,0126
3	0,0059	0,0064	0,0074	0,0104	0,0144
4	0,0065	0,0071	0,0082	0,0116	0,0159
24	0,0228	0,0249	0,0291	0,0402	0,0474

Na osnovu pH vrijednosti rastvora tokom procesa sorpcije, koji onemogućava stvaranje jačih, jonskih veza, može se zaključiti da je lijek vezan za OC labavim H-vezama i π - π interakcijama. Slabo otpuštanje lijeka vezanog relativno slabim vezama, može se tumačiti višestrukim vezivanjem lijeka sa OC (koje se, kako je već navedeno, postiže zbog konformacione fleksibilnosti, potpune jonizacije karboksilnih grupa i dostupnosti većeg broja reakcionih centara zbog male veličine diklofenaka) i formiranjem agregata, prikazanih na slici 4.35. a) i b). Procentualno smanjenje otpuštanja sa porastom koncentracije lijeka tokom sorpcije, ide u prilog ovoj pretpostavci. Veliki broj vodoničnih veza može imati sinergetski efekat čiji je rezultat jače vezivanje [203] i postepeno otpuštanje lijeka u fiziološkom rastvoru.

Kod uzoraka sa većim sadržajem karboksilnih grupa (tabela 4.22.) nakon 24 h u fiziološkom rastvoru sa oksidovane celuloze se otpusti od 0,0340 do 0,0631 mmol/g diklofenaka, odnosno od 6,60 do 11,15 % od ukupne količine vezanog analgetika.

Duža desorpcija pogoduje hidrolizi i raskidanju vodoničnih veza između OC i analgetika, što dovodi do blagog povećanja sadržaja otpuštenog lijeka.

Tabela 4.22. Količina otpuštenog diklofenaka sa OC sa 1,163 mmol/g COOH grupa, modul kupatila 1:100, temperatura 25±1°C

Trajanje desorpcije, h	Količina otpuštenog diklofenaka (mmol/g) sa OC, vezanog iz rastvora koncentracije (mmol/L)				
	$c=1,7 \cdot 10^{-3}$	$c=2,5 \cdot 10^{-3}$	$c=3,4 \cdot 10^{-3}$	$c=4,3 \cdot 10^{-3}$	$c=5,1 \cdot 10^{-3}$
1	0,0044	0,0058	0,0074	0,0092	0,0131
2	0,0049	0,0062	0,0083	0,0113	0,0154
3	0,0058	0,0067	0,0102	0,0122	0,0162
4	0,0069	0,0098	0,0124	0,0168	0,0904
24	0,0340	0,0395	0,0433	0,0482	0,0631

4.3.4. SORPCIJA I DESORPCIJA TRAMADOLA

Tramadol, opioidni „narkotički“ analgetik, korišten je za dobijanje biološki aktivnog analgetskog vlakna kao i diklofenak. Sorpcija je vršena na nemodifikovanu celulozu, OC u obliku zavoja sa 0,547 i 1,163 mmol/g karboksilnih grupa i na uzorke OC aktivirane Na⁺.

4.3.4.1. Rezultati sorpcije tramadola na oksidovano celulozno vlakno

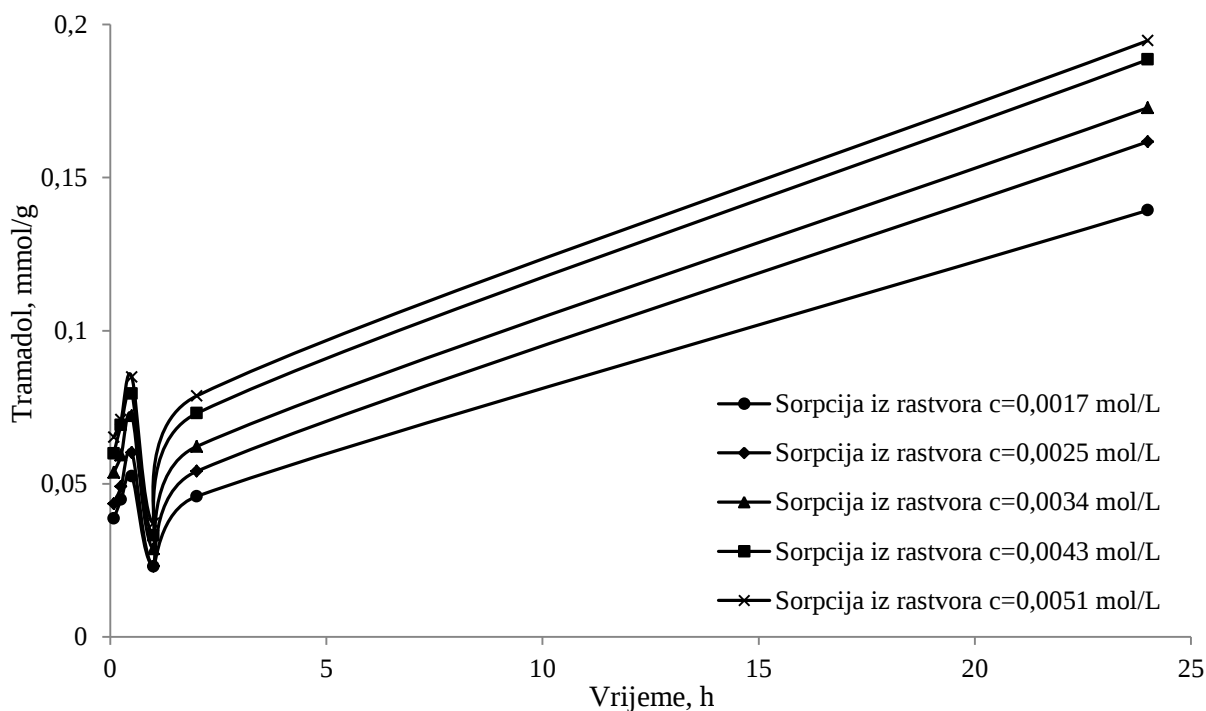
Rezultati sorpcije tramadola na OC prikazani su u tabeli 4.23. i 4.24. i na slikama 4.26. i 4.27. Količina vezanog tramadola raste sa vremenom i nakon 24 sata sorpcije postiže se maksimalna količina vezanog analgetika koja iznosi 0,1947 i 0,2232 mmol/g OC za uzorke sa 0,547 i 1,163 mmol/g OC karboksilnih grupa, respektivno.

Tabela 4.23. Količina vezanog tramadola na OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa, modul kupatila 1:200, temperatura 26±1°C

Trajanje sorpcije, min	Količina vezanog tramadola (mmol/g) na OC iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	c=1,7·10 ⁻³	c=2,5·10 ⁻³	c=3,4·10 ⁻³	c=4,3·10 ⁻³	c=5,1·10 ⁻³
5	0,0386	0,0434	0,0537	0,0599	0,0652
15	0,0448	0,0491	0,0593	0,0692	0,0709
30	0,0524	0,0602	0,0722	0,0794	0,0848
60	0,0230	0,0231	0,0287	0,0331	0,0371
120	0,0459	0,0541	0,0622	0,0730	0,0787
1440	0,1393	0,1617	0,1728	0,1885	0,1947

Na osnovu podataka iz tabela 4.23. i 4.24. kao i sa slika 4.38. i 4.39. uočljivo je da količina vezanog tramadola raste sa porastom sadržaja karboksilnih grupa i koncentracije rastvora iz koga se vrši sorpcija, kao i sa vremenom sorpcije.

Najveća količina lijeka vezana je na uzorak OC sa 1,163 mmol/g iz rastvora koncentracije 5,1·10⁻³ mol/L.



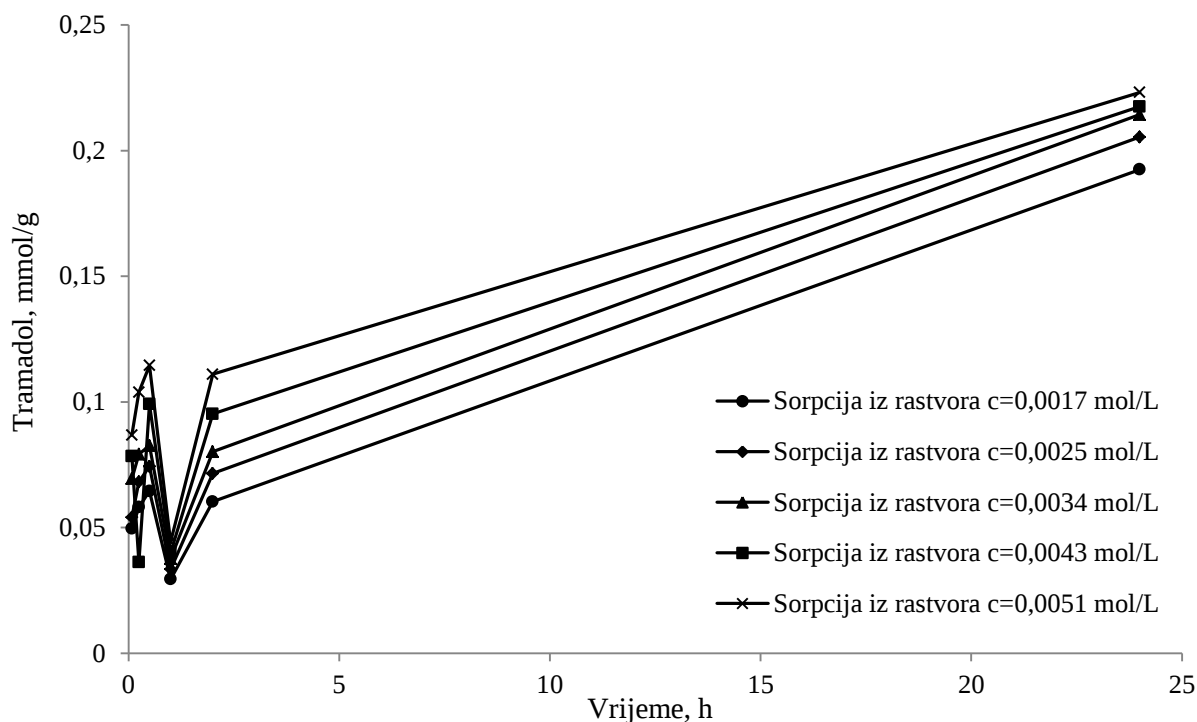
Slika 4.38. Količina vezanog tramadola na OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa

Tabela 4.24. Količina vezanog tramadola na OC sa 1,163 mmol/g COOH grupa, modul kupatila 1:200, temperatura $26 \pm 1^\circ\text{C}$

Trajanje sorpcije, min	Količina vezanog tramadola (mmol/g) na OC iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	$c=1,7 \cdot 10^{-3}$	$c=2,5 \cdot 10^{-3}$	$c=3,4 \cdot 10^{-3}$	$c=4,3 \cdot 10^{-3}$	$c=5,1 \cdot 10^{-3}$
5	0,0496	0,0541	0,0694	0,0784	0,0868
15	0,0581	0,0682	0,0792	0,0362	0,1039
30	0,0645	0,0743	0,0826	0,0991	0,1145
60	0,0294	0,0334	0,0376	0,0400	0,0443
120	0,0603	0,0715	0,0802	0,0952	0, 1110
1440	0,1925	0,2054	0,2143	0,2175	0,2232

Tramadol u svojoj strukturi ima dva benzenska prstena, tercijarnu amino grupu, metoksi i hidroksilnu grupu, što omogućava uspostavljanje višestrukih hemijskih veza lijeka sa oksidovanim celuloznim zavojem.

Tercijarna amino grupa tramadola može da gradi jonske veze sa karboksilnim grupama oksidovane celuloze, a donori i akceptori protona mogu da stvaraju vodonične veze sa karboksilnim grupama oksidovane celuloze.



Slika 4.39. Količina vezanog tramadola na OC sa 1,163 mmol/g COOH grupa

Takođe, benzenski prstenovi tramadola mogu učestvovati u stvaranju Van der Valsovih interakcija sa glukoznim jedinicama celuloze (π - π interakcije) i OH grupama celuloze (π -H interakcije) [197].

Nakon 24 h sorpcije izmjerene su pH vrijednosti u intervalu od 3,47 do 3,54 za uzorke OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa, i neznatno niže vrijednosti, u intervalu od 3,29 do 3,38 za uzorke OC sa 1,163 mmol/g COOH (tabela 4.25. i 4.26.).

Tabela 4.25. Promjena pH tokom sorpcije tramadola na OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa, temperatura $26 \pm 1^\circ\text{C}$

Trajanje sorpcije, min	Promjena pH tokom sorpcije tramadola na OC iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	$c=1,7 \cdot 10^{-3}$	$c=2,5 \cdot 10^{-3}$	$c=3,4 \cdot 10^{-3}$	$c=4,3 \cdot 10^{-3}$	$c=5,1 \cdot 10^{-3}$
5	3,66	3,52	3,57	3,55	3,53
15	3,58	3,5	3,52	3,49	3,47
30	3,56	3,49	3,49	3,46	3,44
60	3,54	3,49	3,48	3,47	3,43
120	3,53	3,48	3,47	3,48	3,43
1440	3,54	3,47	3,52	3,50	3,48

Sve izmjerene pH vrijednosti rastvora tokom sorpcije pogoduju potpunom prevođenju tercijarne amino grupe u katjonsku formu ($pK_a=8,3$) [176], što ukazuje na mogućnost stvaranja jonskih veza između lijeka i OC.

Tabela 4.26. Promjena pH tokom sorpcije tramadola na OC sa 1,163 mmol/g COOH grupa, temperatura $26\pm 1^\circ\text{C}$

Trajanje sorpcije, min	Promjena pH tokom sorpcije tramadola na OC iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	$c=1,7\cdot 10^{-3}$	$c=2,5\cdot 10^{-3}$	$c=3,4\cdot 10^{-3}$	$c=4,3\cdot 10^{-3}$	$c=5,1\cdot 10^{-3}$
5	3,51	3,48	3,41	3,44	3,41
15	3,47	3,39	3,33	3,35	3,33
30	3,43	3,36	3,31	3,31	3,29
60	3,41	3,34	3,30	3,29	3,27
120	3,38	3,32	3,32	3,28	3,27
1440	3,38	3,36	3,30	3,29	3,29

Obzirom da tramadol u svojoj strukturi nema karboksilnu grupu, za razliku od ostalih korištenih lijekova, i da ima znatno manji broj akceptora i donora protona (svega 4), može se zaključiti da će prilikom vezivanja lijeka preovladavati jonska veza, pored elektrostatskih interakcija. S druge strane, pH vrijednosti ne omogućavaju potpunu disocijaciju COOH grupa oksidovane celuloze ($pK_a \approx 4$) [16] koje su neophodne za interakciju sa amino grupama tramadola. Slabije vezivanje tramadola na OC u odnosu na diklofenak može se objasniti nepovoljnim uticajem pH na jonsko vezivanje preko amino grupa, kao i manjim brojem akceptora i donora protona u strukturi tramadola.

Količina vezanog lijeka raste sa porastom koncentracije i sadržaja funkcionalnih grupa. Međutim, povećanje količine vezanog lijeka nije proporcionalno sa porastom koncentracije iz koje se vrši sorpcija. Ovo se dešava zato što na količinu vezanog lijeka, pored koncentracije rastvora analgetika utiču i drugi faktori, kao što su promjena pH rastvora tokom procesa sorpcije i pristupačnost reaktivnih mjesta na OC.

Može se pretpostaviti da smanjenje sorpcionih svojstava sa povećanjem sadržaja COOH grupa, utiče na slabije povećanje količine vezanog tramadola.

Slabije vezivanje tramadola na OC u odnosu na diklofenak, izraženo u procentima vezanog lijeka u odnosu na količinu lijeka u rastvoru ilustruju i podaci u tabeli 4.27.

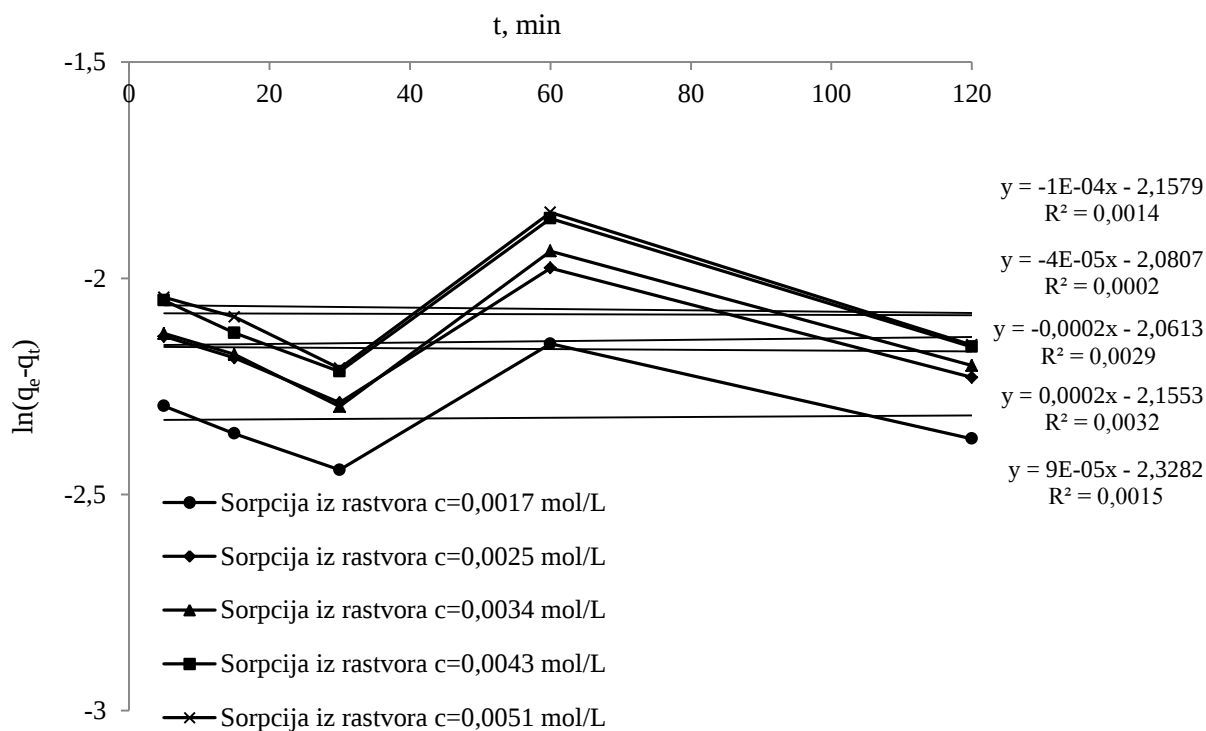
Slabije vezivanje tramadola na OC u odnosu na diklofenak, izraženo u procentima vezanog lijeka u odnosu na količinu lijeka u rastvoru, ilustruju i podaci u tabeli 4.27.

Tabela 4.27. Količina vezanog tramadola izražena u %, nakon 24h

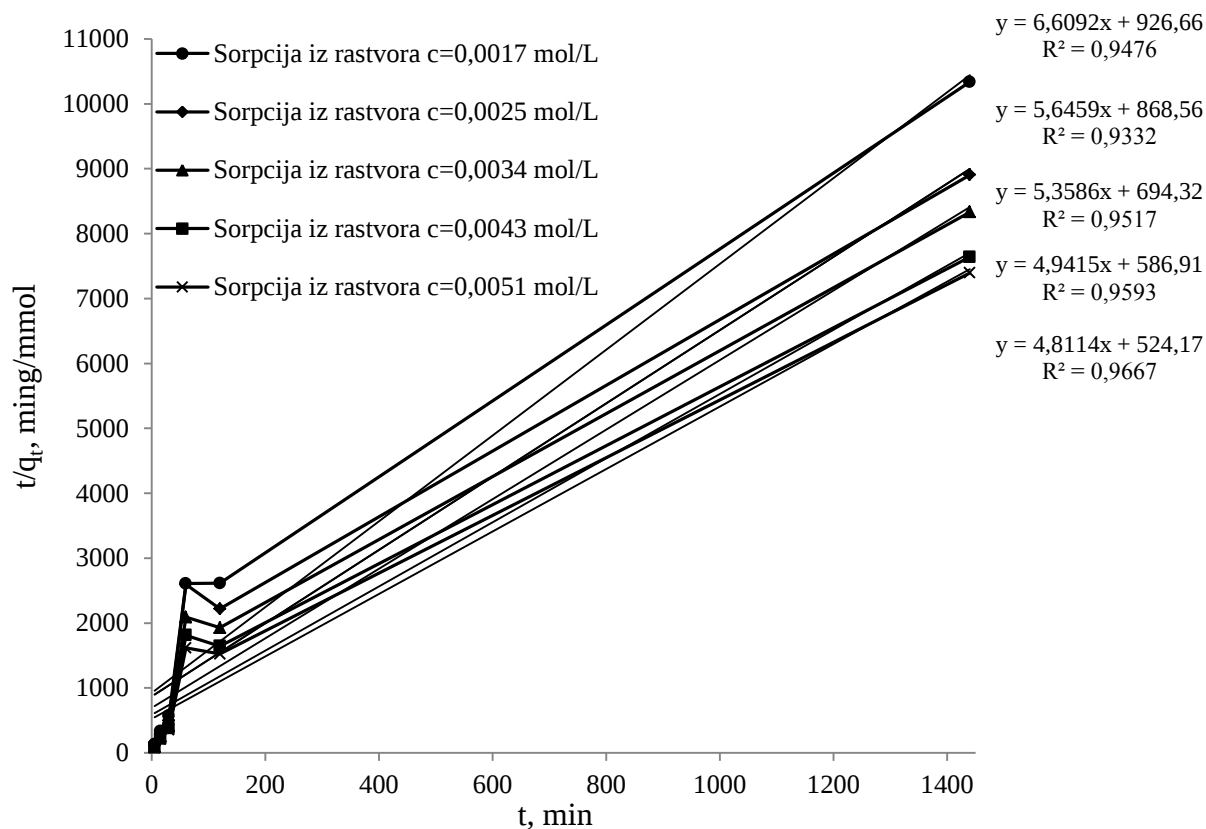
Koncentracija lijeka	Procenat vezanog tramadola	
	0,547 mmol/g	1,163 mmol/g
$c=1,7 \cdot 10^{-3}$	43,37	31,39
$c=2,5 \cdot 10^{-3}$	31,47	24,77
$c=3,4 \cdot 10^{-3}$	24,16	19,49
$c=4,3 \cdot 10^{-3}$	19,38	16,79
$c=5,1 \cdot 10^{-3}$	16,78	14,63

Manja količina vezanog tramadola u odnosu na diklofenak kao posljedica razlike u strukturi ova dva analgetika, može se uočiti i na SEM snimcima vlakana sa vezanim lijekom. Za razliku od diklofenaka, tramadol ne gradi agregate na površini vlakna, što se vidi na SEM snimku (slika 4.44). Može se pretpostaviti da mnogobrojni agregati molekula diklofenaka, nastali međusobnim vezivanjem molekula lijeka na OC vlaknu, značajno doprinose razlici u količini vezanog diklofenaka u odnosu na tramadol.

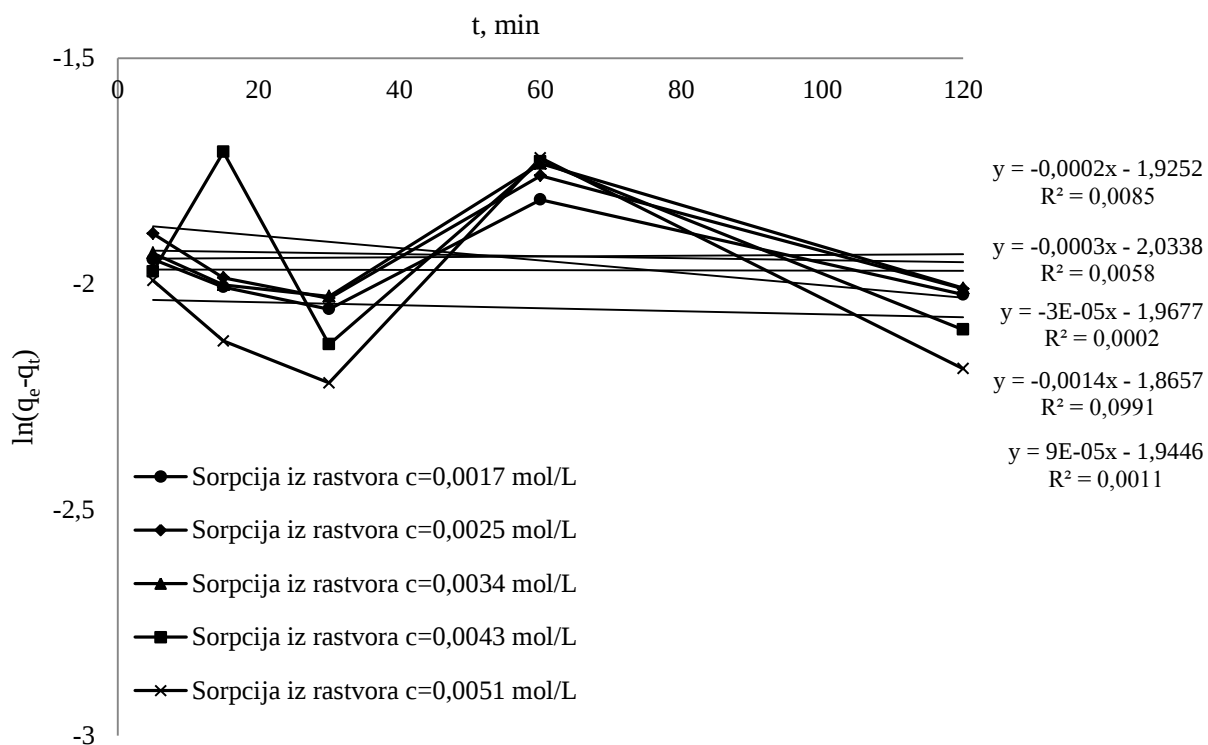
Zbog određivanja tipa sorpcije tramadola na OC, rezultati sorpcije su kao i za prethodna tri lijeka fitovani za dva Lagranžova modela, pseudo-prvog i pseudo-drugog reda. Rezultati fitovanja za uzorak OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa prikazani su na slikama 4.40. i 4.41. a za uzorak OC sa 1,163 mmol/g COOH grupa na slikama 4.42. i 4.43.



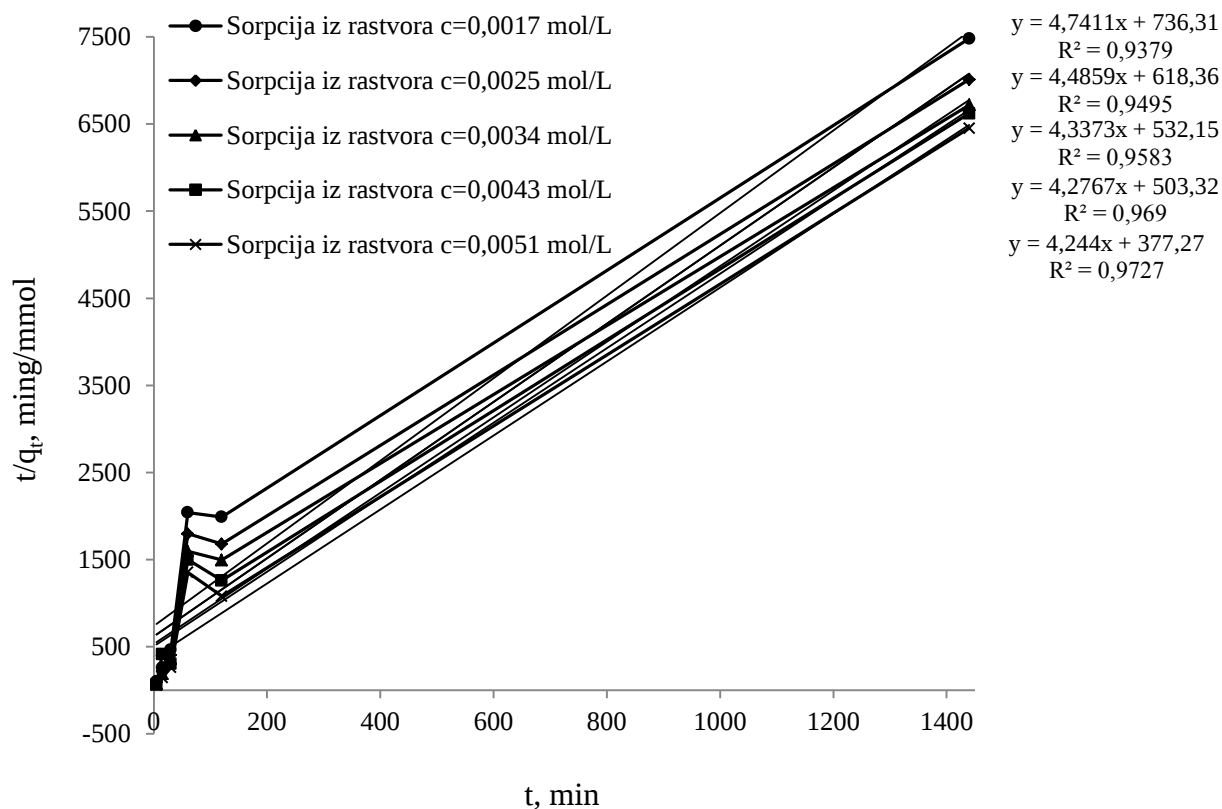
Slika 4.40. Lagranžov model pseudo-prvog reda za sorpciju na OC sa 0,547 mmol/g COOH



Slika 4.41. Lagranžov model pseudo-drugog reda za sorpciju na OC sa 0,547 mmol/g COOH



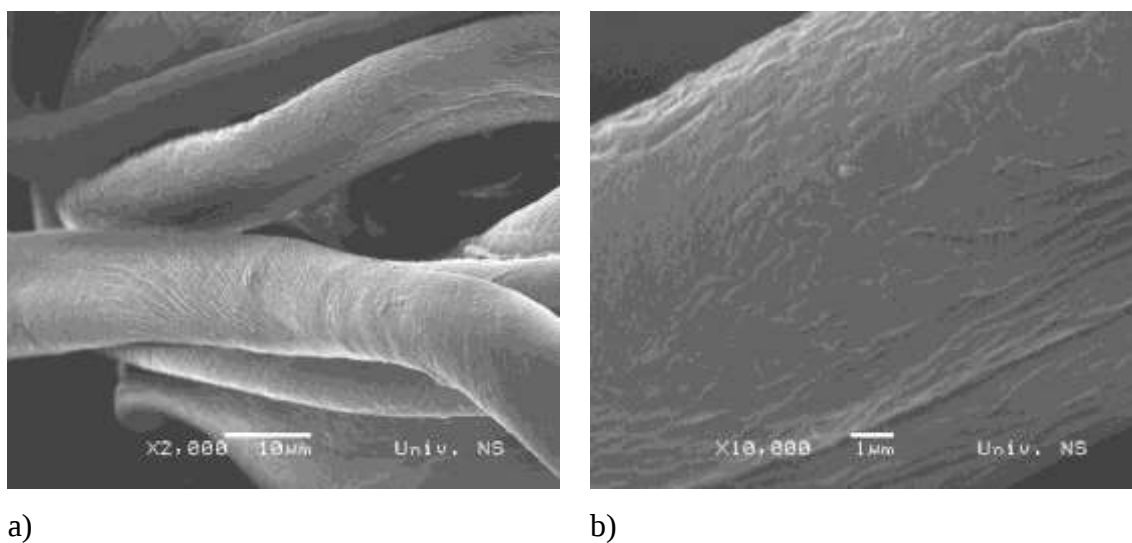
Slika 4.42. Lagranžov model pseudo-prvog reda za sorpciju na OC sa 1,163 mmol/g COOH



Slika 4.43. Lagranžov model pseudo-drugog reda za sorpciju na OC sa 1,163 mmol/g COOH

Dobijeno je da se u eksperimentalnim uslovima, za oba tipa zavoja, najbolje slaganje postiže sa modelom pseudo-drugog reda ($R^2=0,9332-0,9727$), što ukazuje da se prilikom vezivanja dešava i adsorpcija i hemisorpcija, što je potvrda da se tramadol vezao na OC različitim tipovima veza.

Mikrostruktura biološki aktivnih vlakana dobijenih sorpcijom tramadola na OC sa 1,163 mmol/g karboksilnih grupa, okarakterisana je skenirajućom elektronskom mikroskopijom. SEM snimci OC sa vezanim tramadolom prikazani su na slici 4.44.



Slika 4.44. SEM mikrografije OC sa 1,163 mmol/g karboksilnih grupa sa vezanim tramadolom, razmjernik: a) 10 μm i b) 1 μm

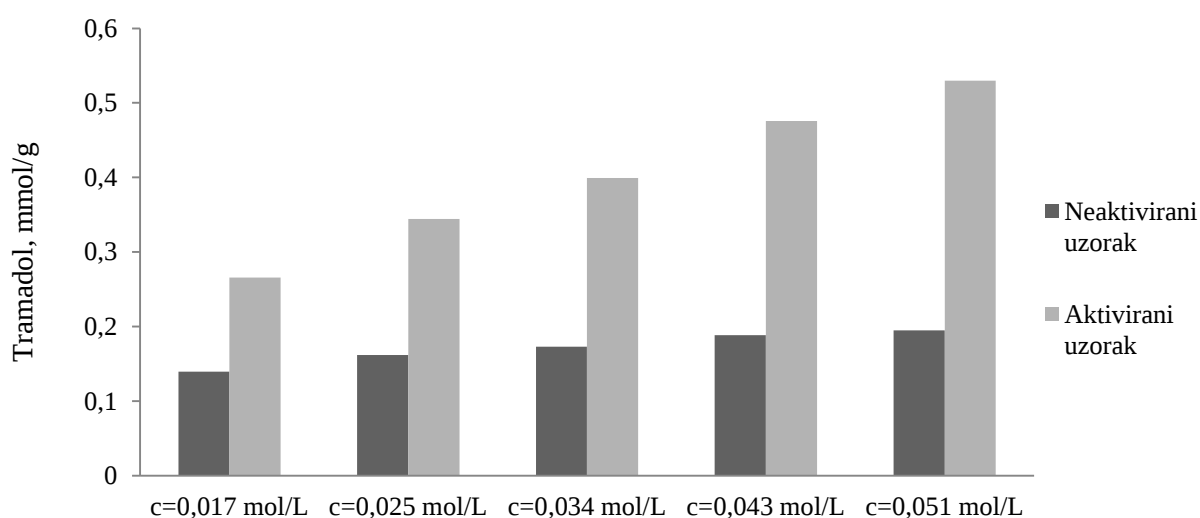
Dobijena biološki aktivna celulozna vlakna sa vezanim tramadolom imaju sličnu strukturu površine kao i OC vlakna, zbog čega se može pretpostaviti da vezani analgetik obrazuje samo monomolekulski sloj.

Kao i kod ostalih korištenih lijekova proveden je i eksperiment sa aktiviranjem OC vezivanjem Na^+ jona, sa ciljem povećanja količine vezanog lijeka. Kod aktiviranog uzorka OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa, za sve koncentracije antibiotika nakon 24 h sorpcije dolazi do povećanja količine vezanog lijeka (tabela 4.28.) u odnosu na isti uzorak OC koji nije aktiviran. Nakon 24 h sorpcije na aktiviranu OC procentualno se veže od 39,81 do 59,82 % tramadola iz rastvora, pri čemu procenat vezanog analgetika opada sa povećanjem koncentracije rastvora.

Tabela 4.28. Količina vezanog tramadola na uzorak OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa, nakon aktivacije sa Na^+ , modul kupatila 1:200, temperatura $26 \pm 1^\circ\text{C}$

Trajanje sorpcije, min	Količina vezanog tramadola (mmol/g) na OC vezanog iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	$c=1,7 \cdot 10^{-3}$	$c=2,5 \cdot 10^{-3}$	$c=3,4 \cdot 10^{-3}$	$c=4,3 \cdot 10^{-3}$	$c=5,1 \cdot 10^{-3}$
1440	0,2655	0,3444	0,3991	0,4757	0,5297

Odnos vezanog tramadola nakon 24 h sorpcije na neaktivirani i aktivirani uzorak OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa, dat je na slici 4.45.

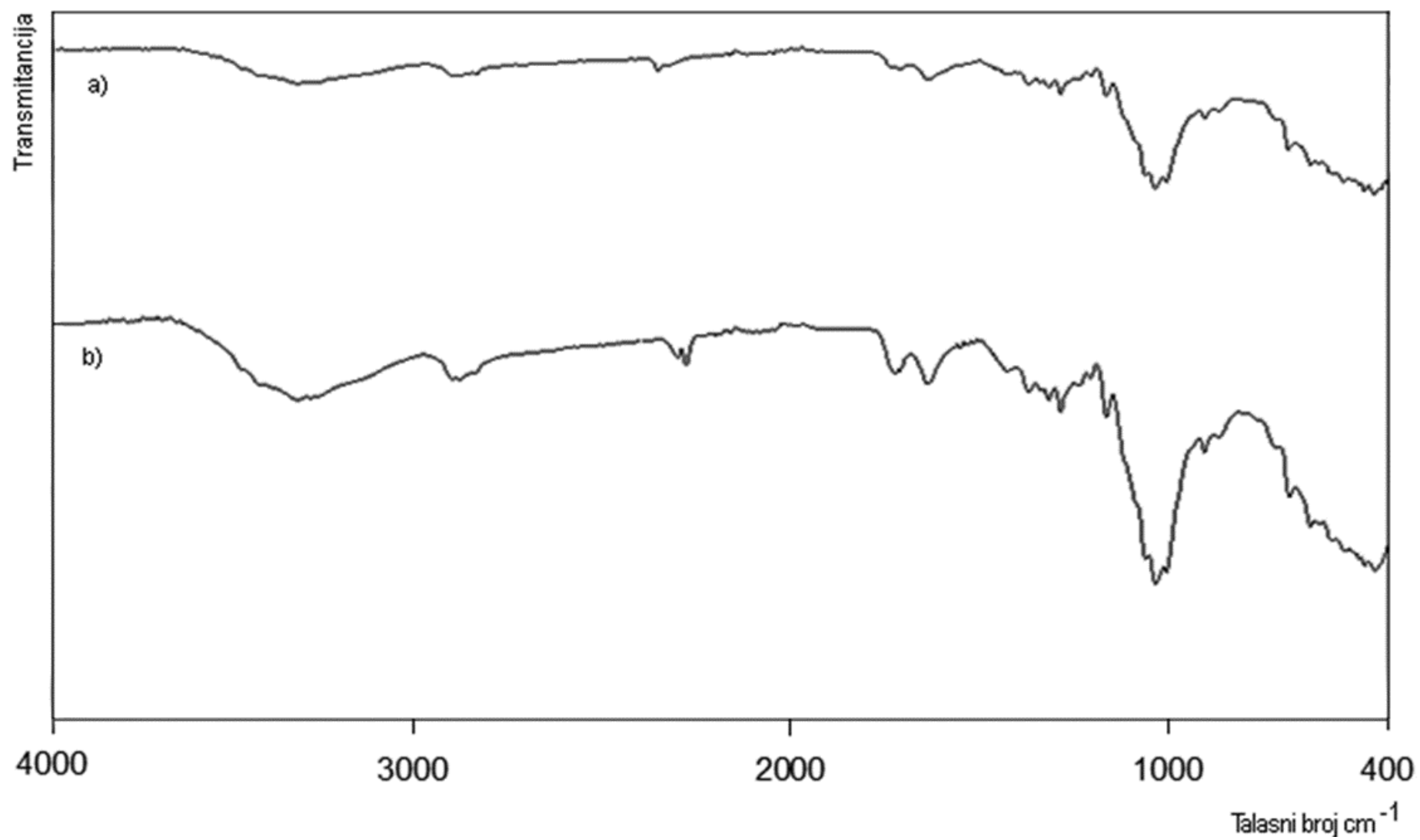


Slika 4.45. Količina vezanog tramadola, na neaktiviranom i aktiviranom uzorku OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa

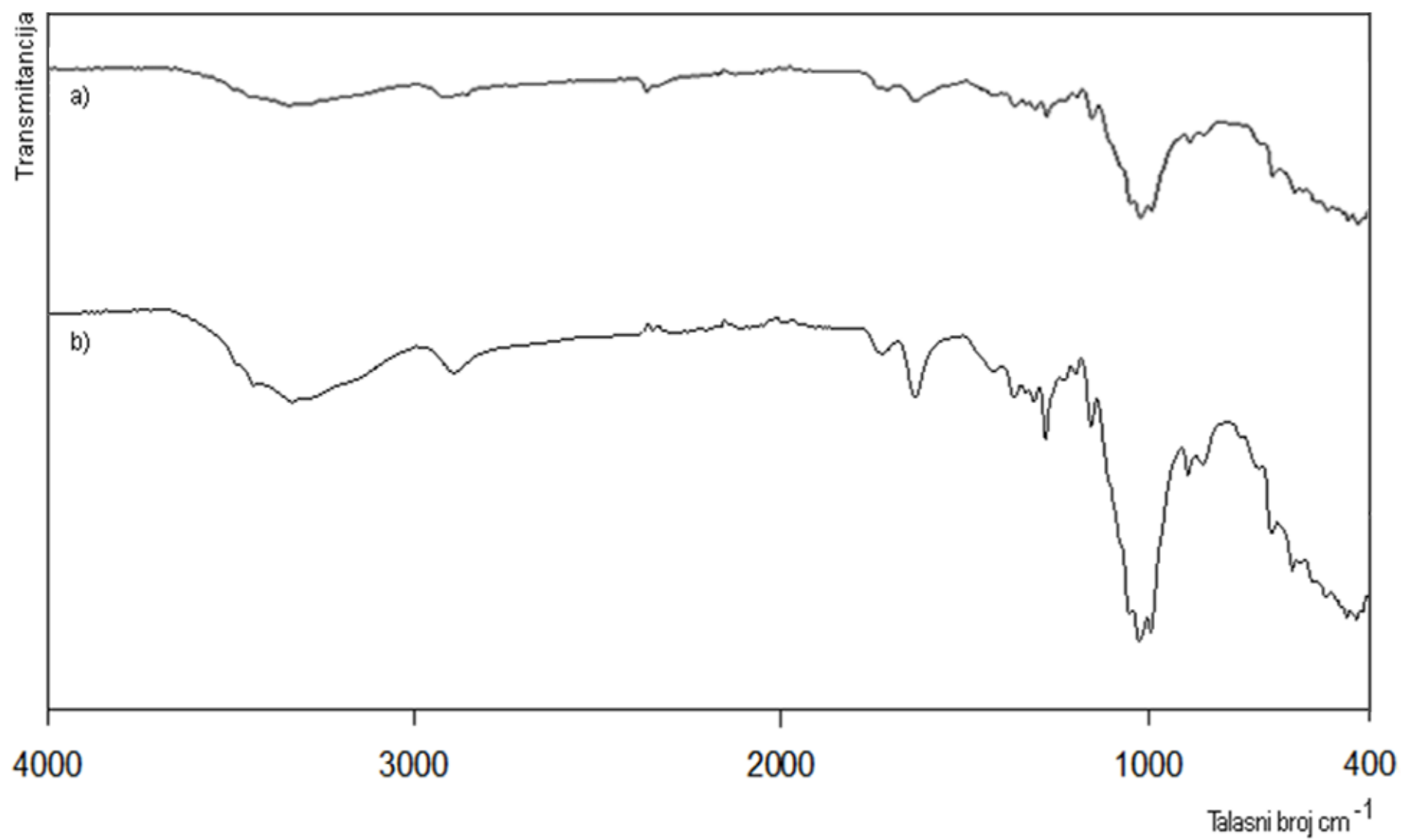
Tramadol posjeduje tercijarnu amino grupu, koja je potpuno jonizovana tokom sorpcije na OC, zbog povoljnih pH vrijednosti, i učestvuje u procesu jonoizmjene.

Uzorak OC sa većim sadržajem COOH grupa (1,163 mmol/g), aktiviranjem sa Na^+ , prevodi se u oblik soli rastvorljiv u vodi i gubi formu zavoja, zbog čega je isključen iz eksperimenta kao i kod prethodna tri lijeka.

Na slikama 4.46. i 4.47. dati su FTIR spektri OC i OC sa vezanim tramadolom. Na spektru OC sa sorbovanim tramadolom (spektar a) na slikama 4.46. i 4.47.) dolazi do smanjivanje pika za vibracije istezanja karboksilne grupe kod 1740 cm^{-1} u odnosu na spektar same OC dok se povećava intenzitet signala kod 1630 cm^{-1} . Time se potvrđuje postojanje jonske interakcije karboksilne grupe OC i tercijarne amino-grupe tramadola.



Slika 4.46. FTIR spektri a) OC sa vezanim tramadolom i b) OC sa 1,163 mmol/g karboksilnih grupa



Slika 4.47. FTIR spektri a) OC sa vezanim tramadolom i b) OC sa 0,547 mmol/g karboksilnih grupa

4.3.4.2. Sorpcija tramadola na nemodifikovano celulozno vlakno

Eksperiment sa sorpcijom tramadola pokazao je da netretirani celulozni zavoj u vodenom rastvoru lijeka ne vezuje analgetik kao i kod sorpcije prethodna tri lijeka.

4.3.4.3. Rezultati desorpcije tramadola u fiziološkom rastvoru

Iz podataka za desorpciju tramadola sa OC sa 0,547 mmol/g prikazanih u tabeli 4.29. može se vidjeti da se nakon 24 h u fiziološkom rastvoru sa oksidovane celuloze otpusti od 0,0304 do 0,0506 mmol/g, odnosno od 21,82 do 25,99 % od ukupne količine vezanog analgetika.

Tabela 4.29. Količina otpuštenog tramadola sa OC sa 0,547 mmol/g COOH grupa, modul kupatila 1:100, temperatura $26 \pm 1^\circ\text{C}$

Trajanje desorpcije, h	Količina otpuštenog tramadola (mmol/g) sa OC iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	$c=1,7 \cdot 10^{-3}$	$c=2,5 \cdot 10^{-3}$	$c=3,4 \cdot 10^{-3}$	$c=4,3 \cdot 10^{-3}$	$c=5,1 \cdot 10^{-3}$
1	0,0195	0,0212	0,0214	0,0300	0,0368
2	0,0207	0,0224	0,0222	0,0304	0,0396
3	0,0221	0,0246	0,0238	0,0321	0,0401
4	0,0228	0,0251	0,0251	0,0347	0,0414
24	0,0304	0,0308	0,0319	0,0405	0,0506

Kod uzoraka sa većim sadržajem karboksilnih grupa (tabela 4.30.) nakon 24 h u fiziološkom rastvoru sa oksidovane celuloze se otpusti od 0,0305 do 0,0524 mmol/g tramadola odnosno od 15,84 do 23,47 % od ukupne količine vezanog analgetika.

Može se zaključiti da je relativno veći procenat otpuštenog analgetika u odnosu na diklofenak posljedica slabijeg vezivanja tramadola jonskom vezom zbog nepotpune jonizacije COOH grupa OC, odnosno da je veći dio desorbovanog lijeka bio vezan slabim vodoničnim vezama i π - π i π -H interakcijama

U prilog ovoj tvrdnji ide i veće otpuštanje nakon 24 sata, odnosno produžavanjem desorpcije dolazi do raskidanja i malobrojnih jonskih veza između OC i analgetika.

Tabela 4.30. Količina otpuštenog tramadola sa OC sa 1,163 mmol/g COOH grupa, modul kupatila 1:100, temperatura 26±1°C

Trajanje desorpcije, h	Količina otpuštenog tramadola (mmol/g) sa OC iz rastvora koncentracije (mol/L)				
	$c=1,7 \cdot 10^{-3}$	$c=2,5 \cdot 10^{-3}$	$c=3,4 \cdot 10^{-3}$	$c=4,3 \cdot 10^{-3}$	$c=5,1 \cdot 10^{-3}$
1	0,0201	0,0218	0,0265	0,0297	0,0385
2	0,0209	0,0240	0,0284	0,0315	0,0402
3	0,0232	0,0267	0,0293	0,0324	0,0407
4	0,0254	0,0273	0,0306	0,0337	0,0413
24	0,0305	0,0322	0,0370	0,0439	0,0524

4.4. ANTIBAKTERIJSKO DJELOVANJE OKSIDOVANOG CELULOZNOG VLAKNA SA VEZANIM ANTIBIOTICIMA

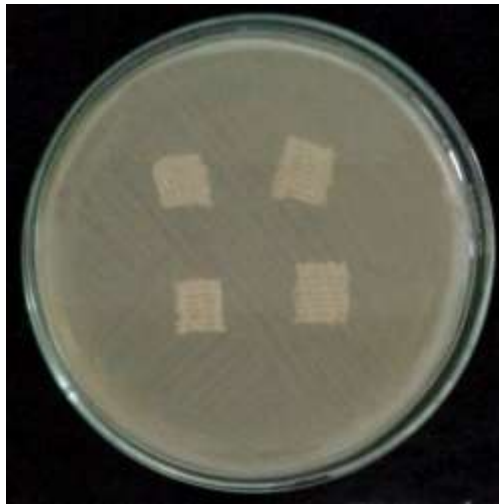
Ispitivanje antibakterijskog djelovanja OC sa vezanim antibioticima vršeno je metodom difuzije na agaru. Zone inhibicije oko uzoraka na podlozi sa testnim mikroorganizmima su mjerene nakon 24 i 48 sati inkubacije.

Stabilnost veze OC-antibiotik testirana je tako što su uzorci oksidovane celuloze u obliku zavoja sa vezanim antibiotikom stavljeni na vlažnu hranljivu podlogu u sterilnim uslovima i čuvani na 37 °C tokom 24 sata. Po isteku tog vremena uzorci su premješteni u petri šolje zasijane test mikroorganizmima i inkubirane na 37 °C tokom 24 sata, nakon čega je vršeno mjerenje zone inhibicije. Ispražnjene petri šolje sa hranljivom podlogom (na kojima su bili uzorci OC sa antibioticima), takođe su zasijane kulturama i termostatirane na 37 °C tokom 24 sata, nakon čega je određivan procenat izrasta bakterija na površini podloge.

Testiranje uzoraka oksidovanih celuloznih vlakana sa 0,547 (OC I) i sa 1,163 mmol/g COOH grupa (OC II) i hemijski vezanim cefuroksimom (u obliku cefuroksim natrijuma) i cefotaksimom (u obliku cefotaksim natrijuma) vršeno je u odnosu na gram negativnu *Escherichia coli* i gram pozitivne kulture *Staphylococcus aureus* i *Bacillus cereus*. Kao negativna kontrola služili su uzorci oksidovanog celuloznog vlakna bez vezanog antibiotika (OC I i OC II), a kao pozitivna diskovi antibiotika: Eritromicin (15 µg), Ciprofloksacin (5 µg), Ampicilin (10 µg) i Gentamicin (10 µg). Zone inhibicije korištenih antibiotika su bile u skladu sa referentnim vrijednostima za testirane kulture.

4.4.1. ODREĐIVANJE INHIBITORNE AKTIVNOSTI OKSIDOVANOG CELULOZNOG VLAKNA SA VEZANIM ANTIBIOTICIMA

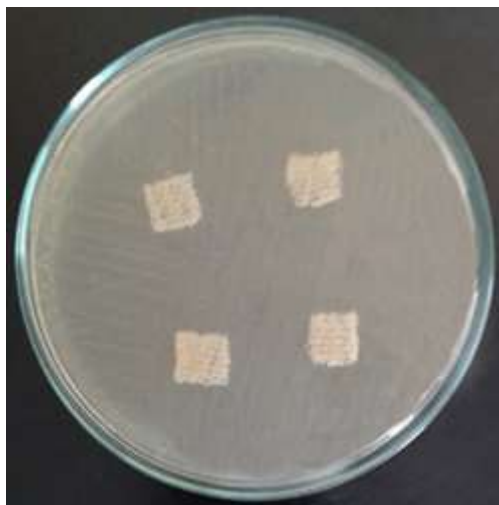
Uzorci oksidovanog celuloznog vlakna nisu imali antimikrobni uticaj i nije registrovana zona inhibicije oko kontrolnih uzoraka (tabela 4.31. i 4.32., slika 4.48.). Prema literaturnim podacima oksidovana celuloza sa 3,55-5,33 mmol/g (16-24%) karboksilnih grupa pokazuje antimikrobno djelovanje koje je posljedica jonogenog djelovanja velikog broja H^+ i OH^- grupa [204]. Oksidovana celuloza sa manjim sadržajem COOH grupa, takođe pokazuje antimikrobno djelovanje prema velikom broju patogenih mikroorganizama testiranih *in vitro* [205] i *in vivo* na eksperimentalno inficiranim ranama [206]. U ovom slučaju inhibitorno djelovanje OC se tumači snižavanjem pH vrijednosti ispod 2,5 [207].



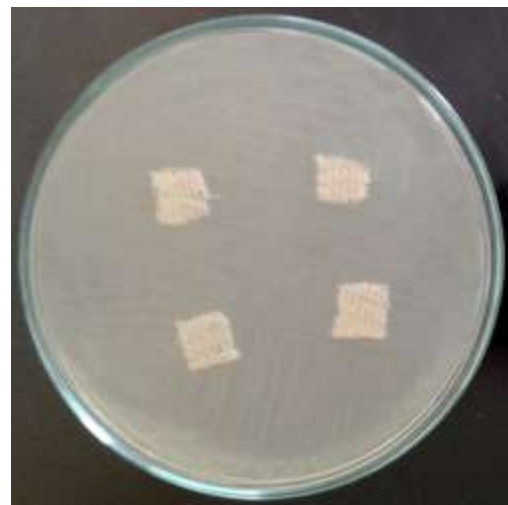
a)



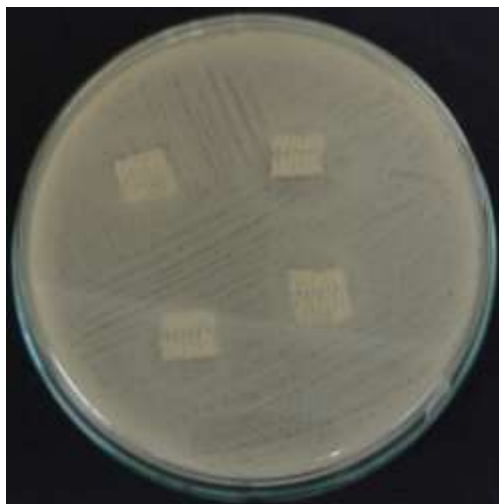
d)



b)



e)



c)



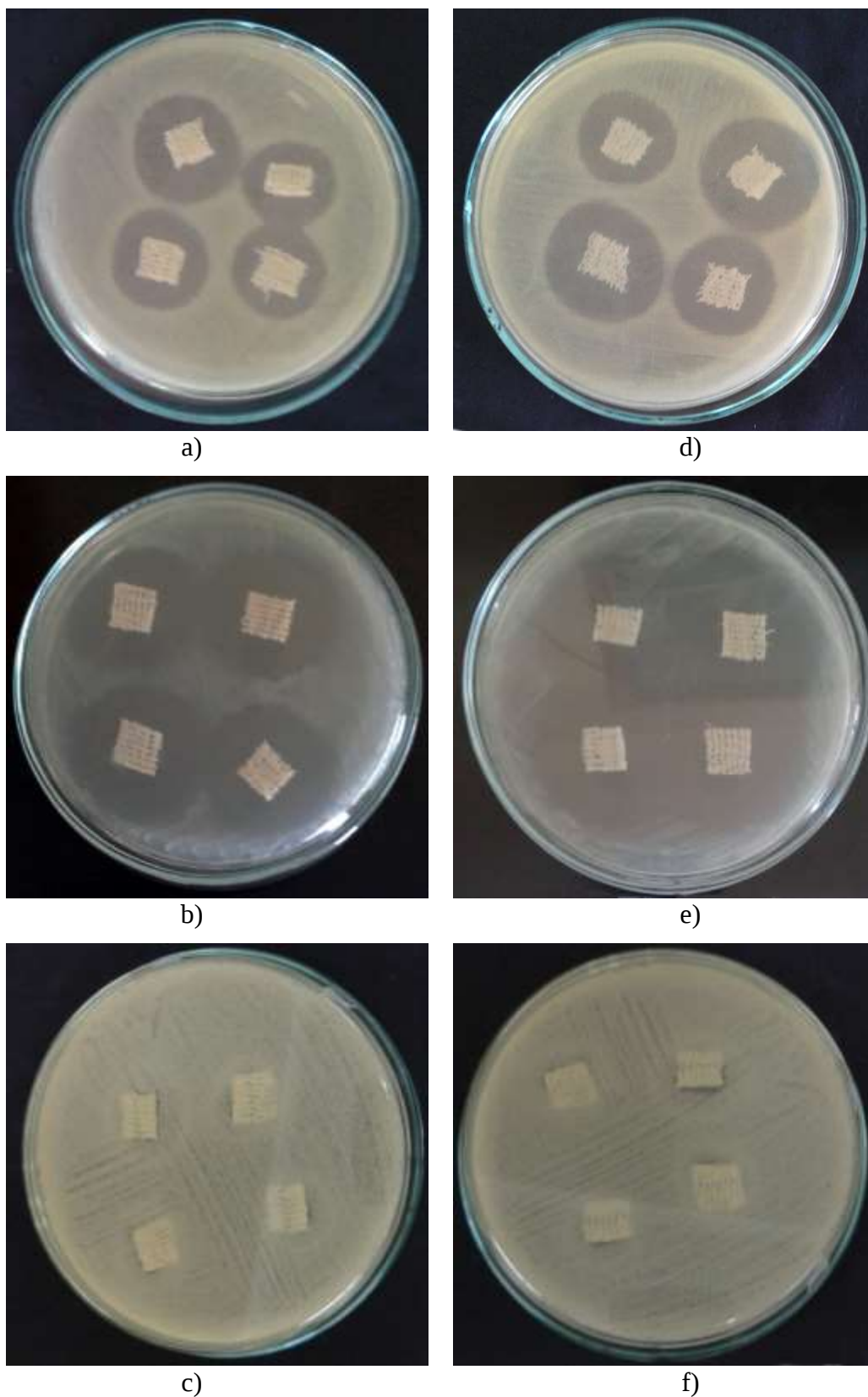
f)

Slika 4.48. Zona inhibicije nakon 48 h uzoraka OC I u odnosu kulture a) *E. coli*, b) *S. aureus*, c) *B. cereus* i uzoraka OC II u odnosu kulture d) *E. coli*, e) *S. aureus*, f) *B. cereus*

U provedenom eksperimentu antimikrobno djelovanje OC vlakna nije ispoljeno zbog manjeg sadržaja karboksilnih grupa (0,547 i 1,163 mmol/g) i viših pH vrijednosti pH=4,2 i pH=4,4, respektivno. Rezultati mjerenja inhibitorne aktivnosti uzoraka oksidovanih celuloznih vlakana sa vezanim cefuroksimom na rast navedenih bakterija mjerenjem zone inhibicije u okolini uzoraka, prikazani su tabelom 4.31. i slikom 4.49. Uzorci oksidovane celuloze sa vezanim cefuroksimom pokazali su antimikrobno djelovanje na *S. aureus* i *E. Coli*. Cefuroksim spada u drugu generaciju cefalosporina djelotvornih protiv gram pozitivnih stafilokoka *in vitro* [208,209] i *in vivo* [210]. Zona inhibicije OC vlakna sa vezanim cefuroksimom je bila najveća u odnosu na kulturu *S. aureus*, naročito za uzorke OC II nakon 48 sati inkubacije. Uzorci OC sa vezanim cefuroksimom su pokazali antimikrobni efekat i na na kulturu *E. coli*, koji je bio veći za OC II, a ispoljavao se i nakon 48 sati inkubacije. OC II veže više antibiotoka, pa je ovaj rezultat u skladu sa literaturnim podacima o antimikrobnom efektu cefuroksima na veći broj sojeva *E. coli* [5]. OC I i OC II sa vezanim cerufoksimom nisu inhibirali kulturu *B. cereus*. Izostanak inhibitornog djelovanja cefuroksima na kulturu *B. cereus* se pripisuje specifičnim komponentama u ćelijskom zidu *Bacillus* vrsta, proizvodnji β -laktamaza, te sposobnosti stvaranja spora i formiranja biofilma [211-213].

Tabela 4.31. Zona inhibicije za OC I i OC I sa vezanim cefuroksimom i cefotaksimom nakon 24 i 48 sati

Rod bakterija	Širina zone inhibiranog rasta bakterija, mm					
	OC I		OC I sa vezanim cefuroksimom		OC I sa vezanim cefotaksimom	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
<i>Escherichia coli</i>	0,00	0,00	5,47±0,54	5,72±0,48	11,41±0,46	11,66±0,46
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,00	0,00	10,03±0,21	10,86±0,48	10,13±0,40	11,21±0,42
<i>Bacillus cereus</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	1,68±0,06	1,61±0,09



Slika 4.49. Zona inhibicije nakon 48 h uzoraka OC I sa vezanim cefuroksimom u odnosu na kulture a) *E. coli*, b) *S. aureus*, c) *B. cereus* i uzoraka OC II sa vezanim cefuroksimom u odnosu na kulture d) *E. coli*, e) *S. aureus*, f) *B. cereus*

Tabela 4.32. Zona inhibicije za OC II i OC II sa vezanim cefuroksimom i cefotaksimom nakon 24 i 48 sati

Rod bakterija	Širina zone inhibiranog rasta bakterija, mm					
	OC II		OC II sa vezanim cefuroksimom		OC II sa vezanim cefotaksimom	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
<i>Escherichia coli</i>	0,00	0,00	7,50±0,53	7,99±0,56	11,56±0,42	11,88±0,29
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,00	0,00	10,15±0,47	11,19±0,35	10,53±0,09	11,46±0,53
<i>Bacillus cereus</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	3,81±0,13	2,88±0,26

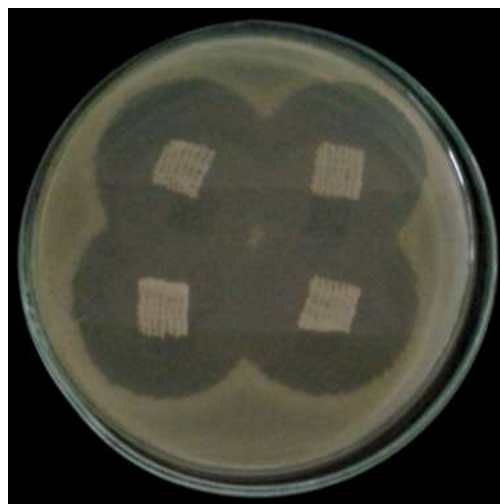
Uzorci OC sa vezanim cefotaksimom su ispoljili inhibitorno djelovanje na sve tri kulture, a najjače na *E. Coli* (tabela 4.31, slika 4.50). Zona inhibicije oko oba uzorka (OC I i OC II) sa vezanim cefotaksimom se povećala nakon 48 sati inkubacije. Korišteni antibiotik pripada trećoj generaciji cefalosporina, koji imaju veću aktivnost prema gram negativnim bakterijama [214]. Cefotaksim pokazuje inhibitorno djelovanje na 90% sojeva *S. aureus in vitro*, i uspješno se koristi u terapiji monobakterijskih i miješanih infekcija [214,215]. Kod oba uzorka sa vezanim cefotaksimom (OC I i OC II) se uočava produženo djelovanje protov *S. aureus* i povećanje zone inhibicije nakon 48 sati inkubacije. Cefotaksim ima bolje inhibitorno djelovanje od cefuroksima prema gram negativnim bakterijama i *S. aureus* zbog njegove hemijske strukture, odnosno uvođenja aminotiazolske grupe u položaj R1 na beta laktamskom prstenu [216,217].

Bacillus vrste su u visokom procentu otporne na cefotaksim [218]. U ovom eksperimentu uzorak OC sa vezanim cefotaksimom je ispoljio slabi inhibitorni učinak na kulturu *B. cereus*. Jače inhibitorno djelovanje pokazao je uzorak OC II koji je vezao više cefotaksima. Nakon 48 sati inkubacije zone inhibicije za oba uzorka sa vezanim antibiotikom samanjene su u odnosu na vrijednosti izmjerene nakon 24 sata.

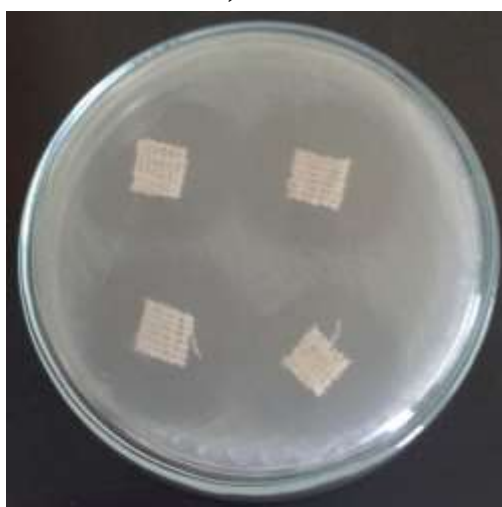
Rezultati određivanja inhibitorne aktivnosti uzoraka OC I i OC II sa vezanim antibioticima pokazali su da ispitivani uzorci oksidovanog celuloznog vlakna sa vezanim cefotaksimom ispoljavaju jače inhibitorno djelovanje na sve tri testirane kulture u odnosu na uzorke sa vezanim cefuroksimom. Ovakvi rezultati su očekivani i u skladu sa generacijom kojoj pripadaju korišteni cefalosporini, odnosno razlikama u strukturi ovih antibiotika.



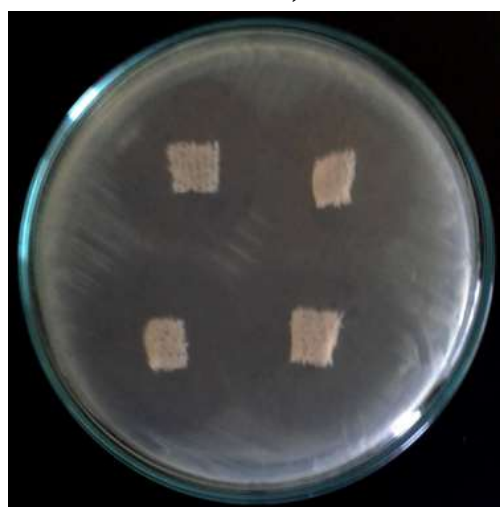
a)



d)



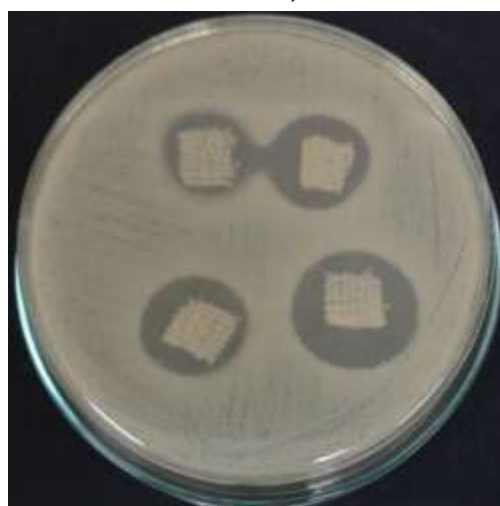
b)



e)



c)



f)

Slika 4.50. Zona inhibicije nakon 48 h uzoraka OC I sa vezanim cefotaksimom u odnosu na kulture a) *E. coli*, b) *S. aureus*, c) *B. cereus* i uzoraka OC II sa vezanim cefotaksimom u odnosu na kulture d) *E. coli*, e) *S. aureus*, f) *B. cereus*

4.4.2. ODREĐIVANJE STABILNOSTI VEZE OKSIDOVANO CELULOZNO VLAKNO-ANTIBIOTIK

U tabeli 4.33. prikazani su rezultati mjerenja zone inhibicije oko uzoraka oksidovane celuloze sa vezanim antibioticima nakon prebacivanja sa sterilne hranjive podloge (na kojoj su držani 24 sat, na 37°C), na podlogu zasijanu test mikroorganizmima i inkubacije narednih 24 sata na 37 °C. Tako su uzorci OCI i OC II sa vezanim cefuroksimom i cefotaksimom bili na vlažnoj podlozi ukupno 48 sati, od čega su 24 sata bili na podlozi sa test kulturama. U ovom eksperimentu su zone inhibicije bile manje, nego u prethodnom eksperimentu u kojem su uzorci proveli na podlozi sa kulturom 48 sati. Držanje oksidovanog celuloznog zavoja sa sorbovanim antibioticima na vlažnoj sterilnoj podlozi dovodi do otpuštanja određene količine antibiotika u sterilnu podlogu, manja količina antibiotika koja zaostane kasnije ispoljava slabije antibakterijsko djelovanje. Izmjerene zone inhibicije odgovaraju osjetljivosti svake bakterijske vrste na testirane antibiotike pa su tako uzorci OC sa vezanim cefuroksimom imali inhibitorni uticaj samo na kulturu *S. aureus* (slika 4.51.) a uzorci OC sa vezanim cefotaksimom na *E. coli* i *S. aureus* (slika 4.52.).

Tabela 4.33. Zona inhibicije OCI i OC II sa vezanim cefuroksimom i cefotaksimom nakon prebacivanja sa sterilne hranjive podloge na podlogu zasijanu test mikroorganizmima nakon 24 sata

Rod bakterija	Zona inhibicije, nakon prebacivanja sa sterilne na hranljivu podlogu (mm)			
	OC I sa vezanim cefuroksimom	OC II sa vezanim cefuroksimom	OC I sa vezanim cefotaksimom	OC II sa vezanim cefotaksimom
<i>Escherichia coli</i>	0,0	0,0	8,85±0,28	8,93±0,59
<i>Staphylococcus aureus</i>	2,25±0,09	2,47±0,07	2,13±0,08	2,23±0,06
<i>Bacillus cereus</i>	0,0	0,0	0,0	0,0

Sterilna hranljiva podloga na kojoj su držani uzorci OC I i OC II sa vezanim antibioticima zasijana je test mikroorganizmima, a procenat pokrivenosti podloge kulturama nakon 24 sata inkubacije je prikazan u tabeli 4.34. Oba antibiotika su difundovala u podlogu dovoljno da inhibiraju rast *E. coli* u visokom procentu. Na više od 85% površine podloge na kojoj su

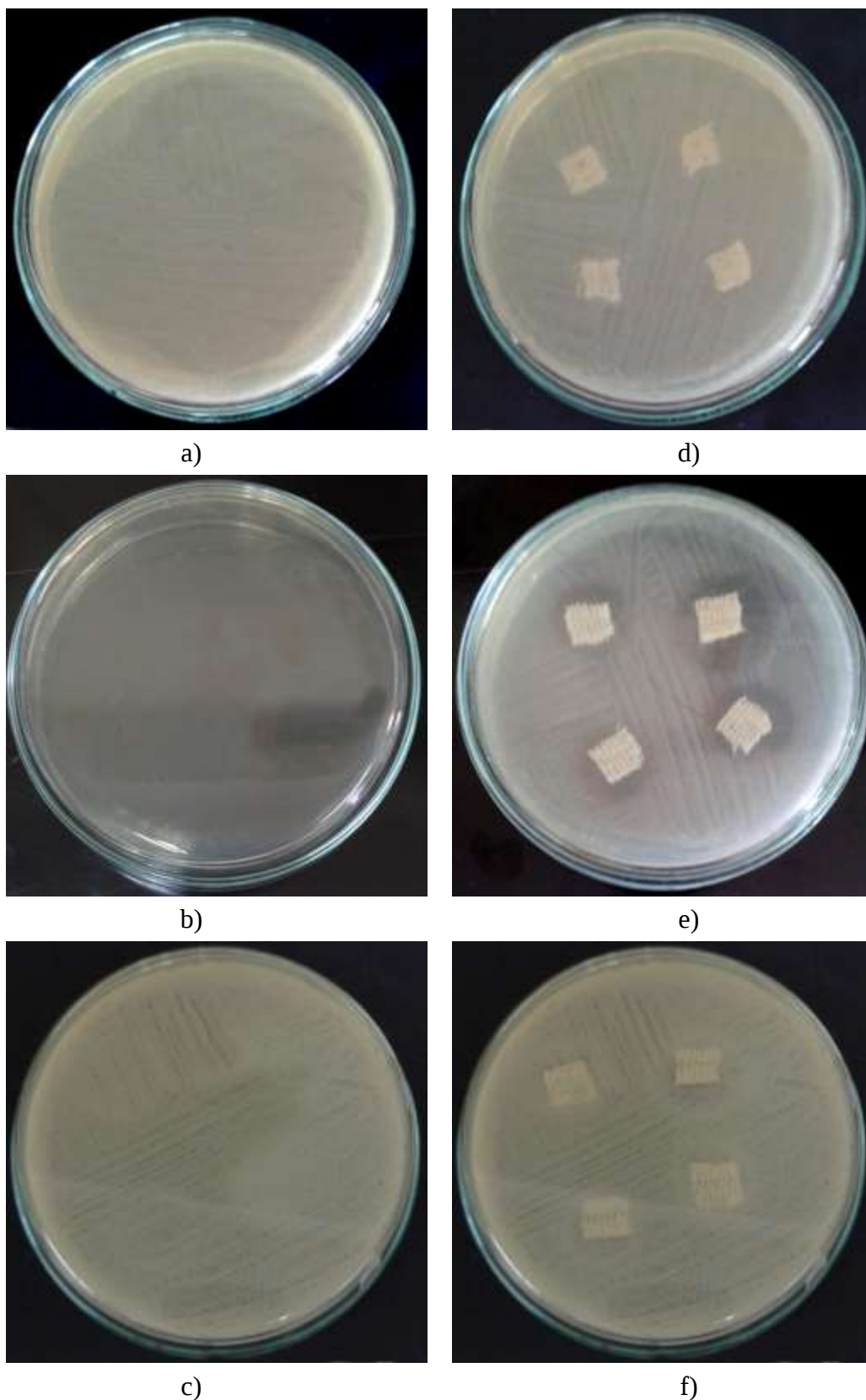
držani uzorci OC II sa vezanim cefuroksimom je došlo do djelimične inhibicije rasta bakterije, a kod uzoraka OC I djelimično je inhibirano nešto više od tri četvrtine površine (76%). Na podlozi na kojoj su držani uzorci OC sa vezanim cefotaksimom došlo je do potpune inhibicije rasta *E. coli* i podloga je ostala sterilna na cijeloj površini. Količina cefuroksima otpuštena sa oba uzorka OC je bila dovoljna da inhibira rast *S. aureus* od 98,5 do 100%, dok je otpušteni cefotaksim sa oba uzorka OC u potpunosti inhibirao rast *S. aureus*. Rezistentnost *B. cereus* na cefuroksim se ispoljila i u ovom eksperimentu pa nije bilo inhibicije rasta ove bakterije na podlozi sa otpuštenim antibiotikom. Uzorci OC I i OC II sa vezanim cefotaksimom su otpustile u podlogu antibiotika dovoljno za sasvim malu inhibiciju rasta *B. cereus*. Uzorci sa većim sadržajem karboksilnih grupa koji su vezali više i otpuštali su više antibiotika u podlogu ispoljili su izraženiju inhibiciju rasta test mikroorganizama. Procenat inhibicije rasta bakterija na podlozi u koju su 24 sata otpuštani antibiotici sa OC je u skladu sa osjetljivošću svake vrste na testirane antibiotike.

Tabela 4.34. Procenat inhibicije rasta test mikroorganizama zasijanih na sterilnoj hranljivoj podlozi nakon skidanja uzorka OC I i OC II sa vezanim antibioticima

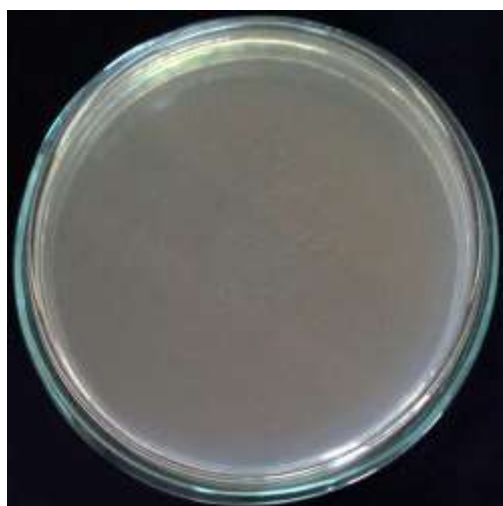
Rod bakterija	Inhibicija kultura zasijanih na sterilnoj podlozi nakon skidanja uzorka OC sa vezanim antibiotikom (%)			
	OC I sa vezanim cefuroksimom	OC II sa vezanim cefuroksimom	OC I sa vezanim cefotaksimom	OC II sa vezanim cefotaksimom
<i>Escherichia coli</i>	76,0±1 (DI)*	85,3±1 (DI)*	100,0	100,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	98,5±1	100,0	100,0	100,0
<i>Bacillus cereus</i>	0,0	0,0	2,67±1	4,30±1

*DI–djelimična inhibicija

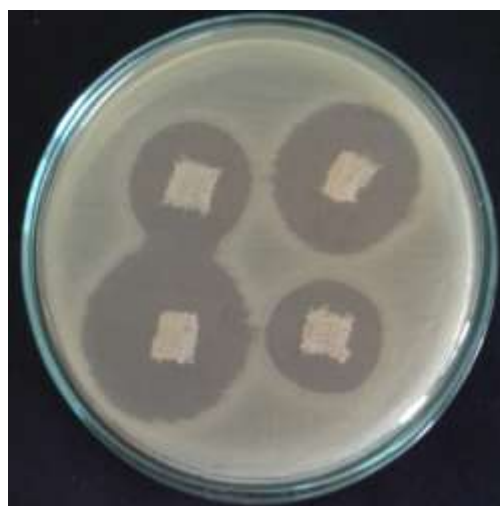
Iz dobijenih rezultata se vidi da i cefuroksim i cefotaksim djeluju na sličan način na test kulture, u skladu sa svojim spektrom djelovanja. Takođe, stabilnost vodenih rastvora korištenih antibiotika na sobnoj temperaturi je slična i koncentracija im se u periodu od 48 sati smanji za sličnu vrijednost, 14-15 % [219], zbog čega ispoljavaju slično djelovanje.



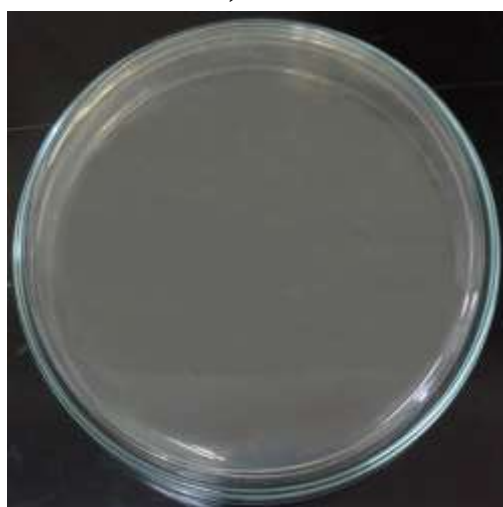
Slika 4.51. Inhibicije rasta bakterija na podlozi zasijanoj nakon držanja uzoraka OC II sa vezanim cefuroksimom u odnosu na kulture a) *E. coli*, b) *S. aureus*, c) *B. cereus* i njihovog prebacivanja na podlogu sa kulturama d) *E. coli*, e) *S. aureus*, f) *B. cereus*



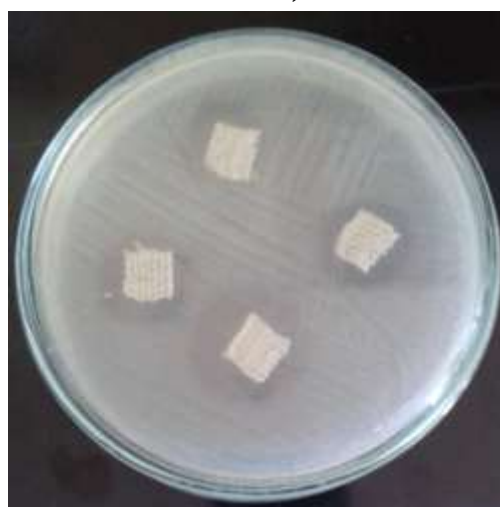
a)



d)



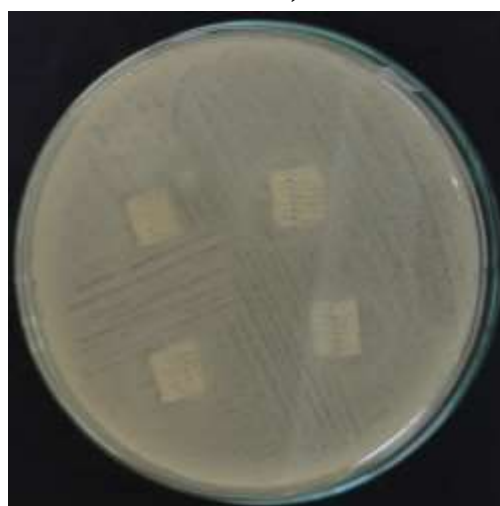
b)



e)



c)



f)

Slika 4.52. Inhibicije rasta bakterija na podlozi zasijanoj nakon držanja uzoraka OC II sa vezanim cefotaksimom u odnosu na kulture a) *E. coli*, b) *S. aureus*, c) *B. cereus* i njihovog prebacivanja na podlogu sa kulturama d) *E. coli*, e) *S. aureus*, f) *B. cereus*

5. ZAKLJUČCI

Na osnovu teorijskih razmatranja i eksperimentalnih istraživanja tokom ispitivanja uticaja strukture antibiotika i analgetika na dobijanje celuloznih vlakana sa biološkom aktivnošću u okviru ove doktorske disertacije, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- Selektivnom oksidacijom celuloznog vlakna u formi zavoja smjesom $\text{HNO}_3/\text{H}_3\text{PO}_4/\text{NaNO}_2$ dolazi do oksidacije primarne hidroksilne grupe celuloze u karboksilnu i nastajanja oksidovane celuloze (OC). Dobijeni su uzorci OC sa 0,547, 1,163 i 2,109 mmol/g karboksilnih grupa.
- Selektivna oksidacija dovodi do promjena u strukturi i kristaličnosti, mehaničkim i sorpcionim karakteristikama OC.
- Sorpcijom cefuroksima, cefotaksima, diklofenaka i tramadola na OC moguće je dobiti biološki aktivna celulozna vlakna sa antimikrobnim i analgetskim djelovanjem.
- Na količinu vezanih lijekova utiču hemijska struktura lijeka, sorpcione karakteristike OC, pH vrijednosti prilikom sorpcije kao i dužina sorpcije.
- Maksimalne količine vezanih antibiotika na OC nakon 24 h sorpcije u vodenim rastvorima antibiotika iznosile su 0,0395 mmol/g OC za cefuroksim i 0,0580 mmol/g za cefotaksim.
- Maksimalne količine vezanih analgetika na OC nakon 24 h sorpcije u vodenim rastvorima analgetika iznosile su 0,8141 mmol/g OC za diklofenak i 0,2232 mmol/g za tramadol.
- Uočeno je povećanje količine vezanih antibiotika na OC sa porastom sadržaja karboksilnih grupa OC i sa vremenom sorpcije.
- Vezivanje sva četiri lijeka odvija se po Lagranžovom modelu kinetike pseudo-drugog reda, što ukazuje da se radi o kombinaciji adsorpcije i hemisorpcije.
- Razlike u količini vezanih i otpuštenih lijekova, objašnjene su različitom strukturom lijekova i njihovih pK_a vrijednosti.
- Cefotaksim se u poređenju sa cefuroksimom više vezao i manje otpuštao. Razlika u vezivanju i otpuštanju se javlja usljed nepostojanja mogućnosti za jonsko vezivanje kod cefuroksima. Takođe, diklofenak se u poređenju sa tramadolom više vezao i manje otpuštao. Razlika u vezivanju i otpuštanju se kao i kod antibiotika javlja usljed nepostojanja mogućnosti za jonsko vezivanje kod tramadola i njegove nemogućnosti građenja agregata.
- Aktiviranjem OC vezivanjem Na^+ postiže se povećanje količine vezanog cefotaksima i tramadola na OC sa 0,547 mmol/g COOH .

- Antimikrobno djelovanje uzoraka OC sa vezanim antibioticima testirano je metodom difuzije na agarnoj ploči u odnosu na kulture *E. coli*, *S. aureus* i *B. cereus*. Najbolje antibakterijsko djelovanje prema sve tri korištene kulture pokazao je uzorak OC sa vezanim cefotaksimom.
- Testiranje trajnosti veze OC sa vezanim antibioticima istom metodom pokazala je da uzorci OC sa vezanim cefuroksimom ispoljavaju produženo antibakterijsko djelovanje i nakon 48 sati provedenih na hranljivoj podlozi prema *S. aureus* a uzorci OC sa vezanim cefotaksimom prema *S. aureus* i *E. Coli*.

6. *LITERATURA*

1. X. Ren, L. Kou, H.B.Kocera, C. Zhu, S.D.Worley, R.M.Broughton, T.S.Huang. Antimicrobial coating of an N-halamine biocidal monomer on cotton fibers via admicellar polymerization. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2008; 317(1–3): 711-716
2. A. H. Medović. Proučavanje dobijanja vlakana sa programiranom biološkom aktivnošću. magistarska teza, Tehnološkometalurški fakultet, Beograd, Srbija, 1998.
3. L. A. Wolf. Fibres of Specific Properties. *Khimiya*. Moscow, 1980, in Russian
4. A. Medović. Prilog proučavanju fenomena procesa dobivanja vlakana sa programiranom biološkom aktivnošću, doktorska disertacija. Tehnološkometalurški fakultet, Beograd, Srbija, 2006.
5. V.A. Zhukovskii. Current status and prospects for development and production of biologically active fibre material for medical applications. *Fibre chemistry*. 2005; 37: 352–355.
6. K. Hänninen. Characterization of Ion-Exchange Fibers for Controlled Drug Delivery. Academic dissertation, Department of Pharmacy, Helsinki, Finland, 2008.
7. P. Škundrić, A. Medović, M. Kostić, Lj. Simović, B. Pejić, J. Purić, M. Kuraica, B. Obradović. Surface modification of fibrous and textile materials for medical application usin plasma (DBD) treatment. In: 5th World Textile Conference AUTEX 2005, Book 1, Portorož, Slovenia, 2005; pp. 227.
8. K. V. Rani, N. Hari Prakash, I. Solomon, B. Sarma, A. Sarma. Surface Modifications of Natural Kanchipuram Silk (Pattu) Fibers Using Glow Discharge Air Plasma. *Fibers and Polymers*. 2016; 17(1): 52-58
9. Lj. Simović, P. Škundrić, A. Medović, M. Kostić, S. Dimitrijević, M. Janićijević, B. Milaković, P. Đorđević, Prolongated action of biomedical antimicrobial fibers. In: 1st South East European Congress of Chemical Engineering, Book of Abstract, Belgrade, Serbia, 2005, pp. 200.
10. P. Škundrić, R. Jovanović, M. Kostić, LJ. Spasić, P. Đorđević, A. Nikolić. Dobijanje biološki-aktivnog kompleksa jonoizmjenjivačko vlakno-insulin. *Hemijska vlakna*, 1993; 1: 13-17.
11. B. Rodić-Grabovac, R. Đudić. Dobijanje oksidiranog celuloznog vlakna sa anestezijskim i antimikrobnim djelovanjem. *Glasnik hemičara, tehnologa i ekologa Republike Srpske*. 2008; 47: 55-59.
12. P. Salvini. Advanced textile materials and biopolymers in woundmanagement. *Danish medical bulletin*. 2008; 55(1): 72-77.

13. N.D. Oltarzhevskaya, G.E. Krichevskii. New medical textile materials koletext: effective multifunctional depot systems. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2005; 39(3): 42-50.
14. H. O. Ammar, M. Ghorab, S. A. El-Nahhas, R. Kamel. Polymeric matrix system for prolonged delivery of tramadol hydrochloride, Part I: Physicochemical Evaluation. *An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*. 2009; 10(1): 7-20.
15. J. Buchenska, S. Slomkowski, J. Tazbir, E. Sobolewska, Antibacterial poly(ethylene terephthalate) yarn containing cephalosporin type antibiotic, *FIBERS & TEXTILES in Eastern Europe*. 2003; 11(1,40): 41-47.
16. T. Kankkunen. Controlled transdermal drug delivery by iontophoresis and ion-exchange fiber. Academic dissertation, Department of Pharmacy, Helsinki, Finland, 2002.
17. R. Jarnstrom, J. Hirvonen. Composition for transdermal delivery of drugs. US patent, 6,254,883; jul. 2001.
18. P. V. Divya, K. Nandakumar. "Local drug delivery-Periocol" In periodontics. *Trends in biomaterials and artificial organs*. 2006; 19(2): 74-80.
19. L. Chen, G. Yang, J. Zang. A study on the exchange kinetics of ion-exchange fiber. *Reactive and functional polymers*. 1996; 29(3): 139-144.
20. J. Buchenska, S. Slomkowski, J. Tazbir, E. Sobolewska. Poly(ethylene terephthalate) yarn with antibacterial properties. *Journal of Biomaterials Science, Polymer edition*. 2001; 12(1): 55-62.
21. T. Jaskari, M. Vuorio, K. Kontturi, J. A. Manzanares, J. Hirvonen. Ion-exchange fibers: an equilibrium study. *Journal of Controlled release*. 2001; 70(1-2): 219-229.
22. M. Vuorio, J. A. Manzanares, L. Murtomaki, J. Hirvonen, T. Kankkunen, K. Kontturi. Ion-exchange fibers and drugs: a transient study. *Journal of Controlled release*. 2003; 91(3): 439-448.
23. M. Vuorio, L. Murtomaki, J. Hirvonen, K. Kontturi. Ion-exchange fibers and drugs: a novel device for the screening of iontophoretic systems. *Journal of Controlled release*. 2004; 97(3): 485-492.
24. P. Škundrić, A. Medović, M. Kostić. Fibrous systems with programmed biological activity and their application in medical practice. *AUTEX Research Journal*. 2002; 2(2): 78-84.
25. P. Škundrić, A. Medović, Lj. Simović, S. Dimitrijević, M. Kostić. Development and characterization of antibacterial bioactive fibers as transdermal therapeutic systems. In: 5th World Textile Conference AUTEX 2005, Book 1, Portorož, Slovenia, 2005; pp. 232.

26. P. Škundrić, M. Kostić, A. Medović, J. Praskalo. Biološki aktivna vlakana na bazi modificovanih polisaharida. *Glasnik hemičara, tehnologa i ekologa Republike Srpske*. 2008; 48: 93-103.
27. Pero Sailovic, B. Rodic Grabovac, R. Djudjic. Influence of temperature on obtaining biologically active cellulosic fibers with bound cephalixin. In: XXIV International Conference ECOLOGICAL TRUTH-ECO-IST 16. Vrnjačka Banja, Serbia, 2016, pp. 856-861.
28. B. Rodić-Grabovac, R. Đudić, N. Ilišković. Dobijanje biološki-aktivnog celuloznog vlakna sa anestezijskim djelovanjem. U: "Ekologija, zdravlje, rad, sport,1,2, Zbornik radova , Banjaluka, BiH, 2006, pp. 226-232.
29. T. Ramachandran, K. Rajendrakumar, R. Rajendran. Antimicrobial textiles – an Overview. *Journal of the institution of engineers*. 2004; 84(2): 42-47.
30. T.L. Yurkshtovich, V.A. Alinovskaya, N.S. Butrim. Specific features of lincomycin and gentamicin sorption from aqueous solutions of their salts and bases by monocarboxyl cellulose. *Colloid Journal*. 2002; 64(3): 379-383.
31. Simoncic B, Tomsic B. Structures of Novel Antimicrobial Agents for Textiles – A Review. *Textiles Research Journal*. 2010; 80(16): 1721–1737.
32. M. Orhan, D. Kut, C. Gunesoglu. Improving the antibacterial activity of cotton fabrics finished with triclosan by the use of 1,2,3,4-butanetetracarboxylic acid and citric acid. *Journal of applied polymer science*. 2009; 111(3): 1344–1352.
33. L. Guiqian, W. Dingcai, Fu. Ruowen. Studies on the synthesis and antibacterial activities of polymeric quaternary ammonium salts from dimethylaminoethyl methacrylate. *Reactive and Functional Polymers*. 2007; 67(4): 355-366.
34. Gao Y, Cranston R. Recent Advances in Antimicrobial Treatments of Textiles. *Textile Research Journal*. 2008; 87:60-72.
35. E.Y. Belyaev. Drug synthesis methods and manufacturing technology, new medical materials based on modified polysaccharides (review). *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2000; 34, 11, 607-612.
36. A.M. Grancarić, A. Tarbuk, I. Kovaček. Nanoparticles of activated natural zeolite on textiles for protection and therapy. *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*. 2009; 15(4): 203–210.
37. M. Rinaudo. Chitin and chitosan: properties and applications. *Progress in Polymer Science*. 2006; 31(7): 603-632.

38. P. Persico. Additivation of polyamide fibers by means of micro- and nanoparticles containing jojoba oil. Academic dissertation, Department of Pharmacy, Napoli, Italy, 2005.
39. K. Mihajlovski. Proučavanje i izbor prirodnih jedinjenja za proizvodnju tekstilnih materijala sa antimikrobnim svojstvima. magistarska teza. Tehnološkometalurški fakultet, Beograd, 2007.
40. A. M. Abdelgawad, S. M. Hudson, O. J. Rojas. Antimicrobial wound dressing nanofiber mats from multicomponent (chitosan/silver-NPs/polyvinyl alcohol) systems. *Carbohydrate Polymers*. 2014; 100: 166-178.
41. S. S. Kim, J. Lee. Antibacterial activity of polyacrylonitrile–chitosan electrospun nanofibers. *Carbohydrate Polymers*. 2014; 102: 231-237.
42. E.K.Karanikas, N.F.Nikolaidis, E.G.Tsatsaroni. Preparation of novel ink-jet inks with antimicrobial and bacteriostatic properties to be used for digital printing of polyester and polyamide fibers. *Progress in organic coatings*. 2013; 76(7–8): 1112-1118.
43. M. E. Üreyen, A. Doğan, A. S. Koparal. Antibacterial functionalization of cotton and polyester fabrics with a finishing agent based on silver-doped calcium phosphate powders. *Textile research journal*. 2012; 82(17): 1731–1742.
44. J. Buchenska, S. Slomkowski, J. Tazbir, E. Sobolewska. Antibacterial poly(ethylene terephthalate) yarn containing cephalosporin type antibiotic. *FIBERS & TEXTILES in Eastern Europe*. 2003; 11(1): 41-47.
45. S. Saini, Ç. Y. Falco, M. N. Belgacem J. Bras. Surface cationized cellulose nanofibrils for the production of contact active antimicrobial surfaces. *Carbohydrate polymers*. 2016; 135: 239-247.
46. B. Rodić-Grabovac, R. Đudić, N. Ilišković, Vezivanje anestetika i antibiotika na karboksimetilcelulozu, *Hemijska industrija*. 2007; 61(4): 203-207.
47. A. Watthanaphanit. P. Supaphol, H. Tamura, S. Tokura, R. Rujiravanit. Wet-spun alginate/chitosan whiskers nanocomposite fibers: Preparation, characterization and release characteristic of the whiskers. *Carbohydrate polymers*. 2010; 79(3): 738-746.
48. T. M. Kumar, W. Paul, C. P. Sharma, M. A. Kuriachan, Bioadhesive, pH responsive micromatrix for oral delivery of insulin. *Trends in biomaterials and artificial organs*. 2005; 18(2): 198-202.
49. R. Jantas, K. Gorna. Antibacterial finishing of cotton fabrics. *FIBERS & TEXTILES in Eastern Europe*, 2006; 14 (1, 55): 88-91.

50. K. F. El-Tahlawy, M.A. El-Bendary, A.G. Elhendawy, S. M. Hudson. The antimicrobial activity of cotton fabrics treated with different crosslinking agents and chitosan. *Carbohydrate polymers*. 2005; 60 (4) 421-430.
51. O. L. Shanmugasundaram. Chitosan coated cotton yarn and it's effect on antimicrobial activity. *Journal of textile and apparel technology and management*. 2006; 5(3): 1-6.
52. R. B. Kozakevych, Y.M. Bolbukh, V.A. Tertykh. Controlled release of diclofenac sodium from silica-chitosan composites. *World Journal of Nano Science and Engineering*. 2013; 3(3): 69-78.
53. H. Jia, Lei L. Kerr. Sustained ibuprofen release using composite poly(lactic-co-glycolic acid)/titanium dioxide nanotubes from ti implant surface. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013; 102(7): 2341–2348.
54. H. S. Samanta, S. K. Ray. Synthesis, characterization, swelling and drug release behavior of semi interpenetrating network hydrogels of sodium alginate and polyacrylamide. *Carbohydrate polymers*. 2014; 99: 666-678.
55. United States Patent Application Publication, broj US 2009/0142400 A1, 2009
56. P.B. Aiello, F.A. Borges, K.M. Romeira, M.C. Romeiro Miranda, L.B. de Arruda, P.N.L. Filho, B .de C. Drago, R.D. Herculano. Evaluation of sodium diclofenac release using natural rubber latex as carrier. *Materials research*. 2014; 17(1): 146-152.
57. M.A. Holgado, Sánchez-Lafuente C, Rabasco AM, Fini A. Alginate/chitosan particulate systems for sodium diclofenac release. *International Journal of Pharmaceutics*. 2002; 232(1-2): 225-234.
58. P. Taepaiboon, U. Rungsardthong, P. Supaphol. Drug-loaded electrospun mats of poly(vinyl alcohol) fibres and their release characteristics of four model drugs. *Nanotechnology*. 2006; 17(9): 2317-2329.
59. B. Arica, M.Y. Arica, H.S. Kas, A.A. Hincal, V. Hasirici. In vitro studies of enteric coated diclofenac sodium-carboxymethylcellulose microspheres. *Journal of Microencapsulation*. 1996; 13(6): 689–699.
60. R.H. Gubbins, C.M. O'Driscoll, O.I. Corrigan. The effects of casein on diclofenac release from hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) compacts. *International Journal of Pharmaceutics*. 2003; 260(1): 69-76.
61. T. Wüstenberg. *Cellulose and Cellulose Derivatives in the Food Industry: Fundamentals and Applications*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH; 2015.
62. O. Stojanović, N. Stojanović, *Hemija ugljenih hidrata* Beograd: Univerzitetska štampa; 2000.

63. A. Payen Mémoire sur la composition du tissu propre des plantes et du ligneux, *Comptes Rendus*, 1838: 7; 1052-1125.
64. D. Fengel, G. Wegner. *Wood*. Berlin, New York: Walter de Gruyter: 1989.
65. R. S. Jovanović, *Celulozna prirodna i hemijska vlakna*. Beograd: IRO Građevinska knjiga; 1989.
66. C. B. Purves. Chain structure, in *Cellulose and Cellulose Derivatives, Part I*. In: E. Ott, H. M. Spurlin, eds. New York: Wiley-Interscience; 1954.
67. R. H. Marchessault, P. R. Sundararajan. Cellulose. In: *The polysaccharides Vol. 2*. G. O. Aspinall ed. New York: Academic Press; 1983.
68. T. Nikolić. Dobijanje biološki aktivnih vlakana na bazi selektivno oksidisane celuloze. doktorska disertacija, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd, 2009.
69. H. Krässig, J. Schurz, R.G. Steadman, K. Schliefer, W. Albrecht. *Cellulose, in Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH; 2004.
70. O. Biermann, E. Hadicke, S. Koltzenburg, F. Muller-Plathe. Hydrophilicity and lipophilicity of cellulose crystal surfaces. *Angewandte Chemie*. 2001; 40(20): 3822-3825.
71. R. Marchessault, C. Liang. Infrared spectra of crystalline polysaccharides. III. Mercerized cellulose. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*. 1960; 43: 71–84.
72. D. Klemm T. Heinze, B. Philipp, W. Wagenknecht. New approaches to advanced polymers by selective cellulose functionalization. *Acta Polymerica*. 1997; 48(8): 277-297.
73. R. Dash, Synthesis and characterization of novel cellulose derivatives, Doctoral Dissertation, Georgia Institute of Technology, Atlanta, USA, 2012.
74. P. Wakelyn, N.R. Bertoniere, A.D. French, S.H. Zeronian. Cotton fibers. In: M. Lewin, E. Pearce, eds. *Handbook of fiber chemistry*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker; 1998: 577-724.
75. T. Kondo, C. Sawatari. A fourier transform infra-red spectroscopic analysis of the character of hydrogen bonds in amorphous cellulose. *Polymer*. (1996; 37(3): 393-399.
76. D.L. Van der Hart, R.H. Atalla. Studies of Microstructure in Native Celluloses Using Solid-State Carbon-13 NMR. *Macromolecules*. 1984; 17(8): 1465-1472.
77. R.H. Atalla. Polymorphism in native cellulose: recent developments, in Structure, function and biosynthesis of plant cell walls. In: W. M. Dugger, S. Bartnicki-Garcia, eds. *American Society of Plant Physiologists*, Rockville: MD: 1984: 381-390.
78. J. H. Wiley, R. H. Atalla. Raman spectra of celluloses, in the structures of cellulose. In: *Proceedings of ACS Symposium Series, Vol. 340*. Washington, DC, USA, 1987, pp. 151-168.

79. M.M.S. Lima, R. Borsali. Rodlike cellulose microcrystal: structure, properties, and applications. *Macromolecular rapid communications*. 2004; 25(7): 771–787.
80. M. Wada,. Lateral thermal expansion of cellulose I and III polymorphs. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*. 2002; 40(11): 1095-1102.
81. J. Sugiyama, R. Vuong, H. Chanzy, Electron diffraction study on the two crystalline phases occurring in native cellulose from an algal cell wall. *Macromolecules*. 1991; 24(14): 4168-4175.
82. H. Yamamoto, F. Horii. CP/MAS ¹³C NMR analysis of the crystal transformation induced for *Valonia* cellulose by annealing at high temperature. *Macromolecules*. 1993; 26(6): 1313-1317.
83. A.C. O’Sullivan. Cellulose: the structure slowly unravels. *Cellulose*. 1997; 4(3): 173-207.
84. A.J. Stipanovic, A. Sarko. Packing Analysis of Carbohydrates and Polysaccharides. 6. Molecular and Crystal Structure of Regenerated Cellulose II. *Macromolecules*. 1976; 9(5): 851–857.
85. L.M.J. Kroon-Batenburg, J. Kroon, M.G. Northolt, Chain modulus and intramolecular hydrogen bonding in native and regenerated cellulose fibres. *Polymer Communications*. 1986; 27(10): 290-292.
86. D. Klemm, B. Philipp, T. Heinze, U. Heinze, W. Wagenknecht. *Comprehensive cellulose chemistry, volume 1, fundamentals and analytical methods*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH; 1998.
87. O.A .El Seoud, T. Heinze. Organic esters of cellulose: New perspectives for old polymers. In: Heinze T. ed. *Polysaccharides I: Structure, characterization and use, vol 186*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2005: 103-150.
88. S. Tasker, J.P.S. Badyal, S.C.E. Backson, R.W. Richards. Hydroxyl accessibility in celluloses. *Polymer*. 1994; 35(22): 4717-4721.
89. M. Ioelovich. Accessibility and crystallinity of cellulose. *BioResources*. 2009; 4(3): 1168-1177.
90. R.L. Stilwell, M.G. Marks, L. Saferstein, D.M. Wiseman, Oxidized Cellulose: Chemistry, Processing and Medical Application. In: A. Dombs, J. Kostand, D. Wiseman, eds, *Handbook of Biodegradable Polymers*, Amsterdam; Harwood Academic Publishers: 1997: 291-306.
91. B. Rodić-Grabovac, Prilog proučavanju hemijskog modifikovanja vlakana u cilju dobijanja medicinskog tekstila sa terapijskim djelovanjem. doktorska disertacija, Tehnološki fakultet, Banjaluka, BiH, 2009.

92. C. H. Verlag, M. Vienna, *Wood chemistry (Fundamental and Applications), Cellulose derivatives*. London; Academic Press: 1981: 169-189.
93. K. Kamide, K. Okajima, T. Matsui, K. Kowsaka, Study on the solubility of cellulose in aqueous alkali solution by deuteration IR and ¹³C NMR. *Polymer Journal*. 1984; 16(12): 857-866.
94. D. Han, L. Yan. Preparation of all-cellulose composite by selective dissolving of cellulose surface in PEG/NaOH aqueous solution. *Carbohydrate Polymers*. 2010; 79(3): 614-619.
95. L. Zhang, D. Ruan, J. Zhou. Structure and properties of regenerated cellulose films prepared from cotton linters in NaOH/urea aqueous solution. *Industrial & engineering chemistry research*. 2001; 40(25): 5923-5928.
96. H. Jin, C. Zha, L. Gu, Direct dissolution of cellulose in NaOH/thiourea/urea aqueous solution. *Carbohydrate Research*. 2007; 342(6): 851-858.
97. S. Zhang, F.-X. Li, J.-y. Yu, Y.-L. Hsieh. Dissolution behaviour and solubility of cellulose in NaOH complex solution. *Carbohydrate polymers*. 2010; 81(3): 668- 674.
98. T. Liebert, M. Seifert, T. Heinze. Efficient method for the preparation of pure, water-soluble cellodextrines. *Macromolecular Symposia*. 2008; 262(1): 140-149.
99. K. Saalwächter, W. Burchard, P. Klüfers, G. Kettenbach, P. Mayer, D. Klemm, S. Dugarmaa. Cellulose solutions in water containing metal complexes. *Macromolecules*. 2000; 33(11): 4094-4107.
100. M. Granström, Cellulose derivatives: synthesis, properties and applications. Doctoral dissertation, Department of Chemistry Faculty of Science, Helsinki, Finland, 2009.
101. S. Janjić. Prilog proučavanju dobijanja hemijskih dvokomponentnih vlakana specijalnih svojstava na bazi polisaharida. Doktorska disertacija, Tehnološkometalurški fakultet, Beograd, Srbija, 2010.
102. B. Tosh, C.N. Saikia, N.N. Dass. Homogeneous esterification of cellulose in the lithium chloride-n,n-dimethylacetamide solvent system: effect of temperature and catalyst. *Carbohydrate research*. (2000; 327(3): 345-352.
103. S. R. Labafzadeh. Cellulose-based materials. Doctoral dissertation, Department of Chemistry, Faculty of Science, Helsinki, Finland, 2015.
104. R.P. Swatloski, S.K. Spear, J.D. Holbrey, R.D. Rogers, Dissolution of cellose with ionic liquids. *Journal of the American chemical society*. 2002; 124(18): 4974 -4975

- 105.M. Knežević, A. Kramar, M. Korica, B. Dojčinović, M. Kostić. Svojstva pamučne prede posle oksidacije kalijum-permanganatom u kiseloj sredini. *Zastita materijala*. 2017; 58(1): 31-36.
- 106.J. Ž. Praskalo. Dobijanje celuloznih vlakana specijalnih svojstava metodama hemijskog modifikovanja. doktorska disertacija, Beograd, Srbija, 2010.
- 107.T. Nikolic, M. Kostic, J. Praskalo, B. Pejic, Z. Petronijevic, P. Skundric. Sodium periodate oxidized cotton yarn as carrier for immobilization of trypsin. *Carbohydrate Polymers*. 2010; 82(3): 976–981.
- 108.E. G. Rozantzew, M.B. Neiman, Organic radical reactions involving no free valence, *Tetrahedron*, 1964; 20: 131-137.
- 109.A. Isogai. Chemical Modification of Cellulose. In: N. Shiraishi, D.N.S. Hon, eds. *Wood and cellulosic chemistry*. 2nd ed. New York – Basel: Marcel Dekker; 2001: 599-626.
- 110.T. Saito, A. Isogai. Ion-exchange behavior of carboxylate groups in fibrous cellulose by the TEMPO-mediated system. *Carbohydrate polymers*. 2005; 61(2): 183-190.
- 111.V.Kumar, T.Yang. HNO₃/H₃PO₄-NaNO₂ mediated oxidation of cellulose-preparation and characterization of bioabsorbable oxidized celluloses in high yields and with different levels of oxidation. *Carbohydrate Polymer*. 2002; 48(4): 403-412.
- 112.F. N. Kaputskii, P. M. Bychovskii, T. L. Yurkshtovich, V. L. Nedorezov. Study of photrin sorption by monocarboxycellulose. *Colloid Journal*. 1995; 57: 41-45.
- 113.Y. Xu, X. Liu, X. Liu, J. Tan, H. Zhu. Influence of HNO₃/H₃PO₄-NaNO₂ mediated oxidation on the structure and properties of cellulose fibers. *Carbohydrate polymers*. 2014; 111: 955-963.
- 114.Z. Du, L. Zhang, Y. Xu. Characterization of structure and property of the monocarboxyl bamboo pulp fibers. *Materials Sciences and Applications*. 2015; 6(4): 279-285.
- 115.V. Kumar, J. Kang, R. J. Hohl. Improved dissolution and cytotoxicity of camptothecin incorporated into oxidized-cellulose microspheres prepared by spray drying. *Pharmaceutical Development and Technology*. 2001; 6(3): 459-464.
- 116.L. Zhu, V. Kumar, G. S. Banker. Examination of aqueous oxidized cellulose disperzions as a potential drug carrier. I. preparation and characterization of oxidized cellulose-phenylpropanolamine complex. *AAPS PharmSciTech*. 2004; 5 (4): 138-144.
- 117.W. S. Trahanovsky, *Organic chemistry: oxidation in organic chemistry part C, oxidation with nitric acid or nitrogen oxides*. New York: Academic press; 1978: 295-342.
- 118.G. Sun, X. Xu, D. Cliver, Biocidal cellulosic material, US Patent, 6,770,287; aug. 2004.

- 119.S. Kamel, N. Ali, K. Jahangir, S. M. Shah, A. A. El-Gendy. Pharmaceutical significance of cellulose: a review. *Express polymer letters*. 2008; 2(11): 758-778.
- 120.N. Hoenich. Cellulose for medical applications: past, present and future. *Bioresources*. 2006; 1(2): 270-280.
- 121.F. Galli, S. Rovidati, L. Chiarantini, G. Campus, F. Canestrari, U. Buoncristiani. Bioreactivity and biocompatibility of vitamin E-modified multi-layer hemodialysis filter, *Kidney International*. 1998; 54(2): 580-589.
- 122.H. Bäckdahl, G. Helenius, A. Bodin, U. Nannmark, B.R. Johansson, B. Risberg, P. Gatenholm. Mechanical properties of bacterial cellulose and interactions with smooth muscle cells. *Biomaterials*. 2006; 27(9): 2141–2149.
- 123.D. Ciechanska. Multifunctional bacterial cellulose/chitosan composite material for medical applications. *Fibers & textiles in eastern Europe*. 2004; 12(4,48) 69-72.
- 124.D. Bellini, M. Terrassan, A. Pavesio, Biomaterials based on carboxymethylcellulose salified with zins assosiated with hyaluronic acid derivatives, Patent WO/2007/009728, jan 2007.
- 125.C. Werner, M. F. Maitz, C. Sperling. Current strategies towards hemocompatible coatings. *Journal of Materials Chemistry*. 2007; 17(32): 3376-3384.
- 126.T. Heinze. Carboxymethyl ethers of cellulose and starch :a rewiev, *Химия растительного сырья*. 2005; 3: 13–29.
- 127.E. O. Cetin, N. Buduneli, E. Atlihan, L. Kirilmaz. In vitro studies on controlled-release cellulose acetate films for local delivery of chlorhexidine, indomethacin and meloxicam. *Journal of clinical periodontology*. 2004; 31(12): 1117-1121.
- 128.K. J. Edgar, Cellulose ester in drug delivery, *Cellulose*. 2007; 14(1): 49-64.
- 129.B. Rodić-Grabovac, R. Đudić, N. Ilišković. Investigation of possibility of binding anaesthetics on carboxymethylcellulose. In: *Book of abstracts 1st South East European Congress of chemical engineering*. Beograd, Serbia, 2005, pp. 212.
- 130.F. Siepman, A. Hoffmann, B. Leclercq, B. Carlin, J. Siepman. How to adjust desired drug release patterns from ethylcellulose-coated dosage forms. *Journal of controlled release*. 2007; 119(2): 182-189.
- 131.A. Viridén, B. Wittgren, A. Larsson. Investigation of critical polymer properties for polymer release and swelling of HPMC matrix tablets. *European journal of pharmaceutical sciences*. 2009; 36(2–3): 297-309.

132. T. E. Nikiforova, V. A. Kozlov. Study of the effect of oxidative-bisulfite modification of the cotton cellulose on its ion exchange properties, *Russian journal of general chemistry*. 2011; 81(10): 2136–2141.
133. Johnson & Johnson Patient Care, Inc. , Surgicel Absorbable Hemostate, PC-0506, 08901-2023, New Brunswick, NJ, 1989.
134. J. Vytrasova, A. Tylsova, I. Brozkova, L. Cervenka, M. Pejchalova, P. Havelka. Antimicrobial effect of oxidized cellulose salts. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*. 2008; 35:1247–1252.
135. Y. Tokunaga, T. T. Naruse. Antitumor effect of oxycellulose as a hemostatic during operation. *Cancer biotherapy and radiopharmaceuticals*. 1998; 13(6): 437-445.
136. M. Otterlei, T. Espevik, G. Skjak-Brock, O. Smidsrod. Diequatorially bound β (1-4) polyuronates and use of the same for cytokine stimulation, US Patent 5,169,840; dec. 1992.
137. M. D. Finn, S. R. Schow, E. D. Schneidermann. Osseous regeneration in the presence of four common hemostatic agents. *Journal of oral maxillofacial surgery*. 1992 50(6): 608-612.
138. R. L. Stilwell, E. J. Whitmore, L. G. Saferstein. Calcium-modified oxidized cellulose hemostat, US patent, 5,484,913; jan. 1996.
139. Y. Wu, J. He, W. Cheng, H. Gu, Z. Gu, S. Gao, Y. Huang. Oxidized regenerated cellulose-based hemostat with microscopically gradient structure. *Carbohydrate polymers*. 2012; 88(3): 1023– 1032.
140. T. Nikolic, J. Milanovic, A. Kramar, Z. Petronijevic, Lj. Milenkovic, M. Kostic, Preparation of cellulosic fibers with biological activity by immobilization of trypsin on periodate oxidized viscose fibers, *Cellulose*. 2014; 21(3): 1369-1380.
141. U-J. Kim, M. Wada, S. Kuga. Solubilization of dialdehyde cellulose by hot water. *Carbohydrate polymers*. 2004; 56(1): 7–10.
142. P. S. Sailović , B. B. Rodić Grabovac, Lj. N. Topalić Trivunović. Biološki aktivna vlakna na bazi ceftriaksona, uticaj strukture, kinetika vezivanja, antimikrobno djelovanje. In: Zbornik radova 53. savetovanje srpskog hemijskog društva. Kragujevac, Srbija, 2016, pp. 102-106.
143. B. Rodić-Grabovac, R. Đudić, Lj. Topalić-Trivunović, M. Balaban. Antimikrobno djelovanje modifikovanog celuloznog vlakna sa vezanim cefaleksin monohidratom. *Glasnik hemičara, tehnologa i ekologa Republike Srpske*. 2012; 6: 1-9.

- 144.P. M. Bychovskii , F. N. Kaputskii, T. L. Yurkshtovish. Sorption of antitumor drugs by cellulose oxidized by nitrogen (IV) oxide. *Ser khimiya navuka*. 1993; 3: 41-45.
- 145.V. Kumar, S.G. Deshpande. Noncovalent immobilization of bovine serum albumin on oxidized cellulose. *Artificial cells, blood substitutes, and biotechnology*. 2001; 29(3): 203–212.
- 146.S. Varavinit, N. Chaokasem, S. Shobsngob. Covalent immobilization of a glucoamylase to bagasse dialdehyde cellulose. *World journal of microbiology & biotechnology*. 2001; 17(7): 721-725.
- 147.R. Đudić , P. Sailović , B. Rodić Grabovac , B. Rudić. Uticaj koncentracije rastvora cefaleksina na sorpciju na modifikovano celulozno vlakno. *Glasnik hemičara, tehnologa i ekologa Republike Srpske*. 2015; 11: 19-23.
- 148.B. Rodić Grabovac, R. Đudić, P. Sailović. The obtaining of materials with antibacterial activity by bonding of cefazoline on modified cellulosic bandage. *Contemporary materials*. 2014; V(2): 222-227.
- 149.A. R. Hauser. *Antibiotic Basics for Clinicians: The ABCs of Choosing the Right Antibacterial Agent*. 2st ed. Baltimore, Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins; 2013.
- 150.G.L. Mandel, J.E. Bannett, R. Dolin. *Principles and Practise of Infectious Diseases*. 5st ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000.
- 151.S. Vladimirov, D. Živanov-Stakić, *Farmaceutska hemija 2. dio*, Beograd: Farmaceutski fakultet; 2006.
- 152.A. Gringauz, *Introduction to medicinal chemistry: how drugs act and why*. 1st ed. New York: Wiley–VCH; 1997.
- 153.T. L. Lemke; D. A. Williams. Antibiotics and Antimicrobial Agents. In: D. Troy, ed. *Foye's principles of medicinal chemistry*. 6st ed.. Baltimore: Lippincott Willams & Wilkins; 2007.
- 154.M. I. Page. *The Chemistry of β –Lactams*. Dordrecht: Chapman & Hall; 1992.
- 155.T. J. Wozniak, J. R. Hicks. Analytical profile of cefuroxime sodium. In: K. Florey, ed. *Analytical profiles of drug substances*, Vol. 20. San Diego: Academic Press;. 1991: 209-235.
- 156.G. Amicosante, F. Marchetti. Cefuroxime stability to beta-lactamases: clinical implications. *Le Infezioni in Medicina*. 2000; 8(2):66-74.
- 157.F. J . Muhtudi, M. M . A. Hassan. Cefotaxime. In: K. Florey, ed. *Analytical profiles of drug substances*, Vol. 11. New York: Academic Press; 1982: 139-168.

- 158.V. M. Varagić, M. P. Milošević, *Farmakologija*, XIX izdanje, Beograd: Elit Medica; 2004.
- 159.<https://www.drugs.com/international/diclofenac.html>, pristupio 06.02.2018
- 160.T. L. Lemke, D.A. Williams. Foye's Principles of Medicinal Chemistry 5st ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2002: 751-790.
- 161.D. L. Nelson, M. M. Cox. *Principles of Biochemistry*. 4rd ed. New York: W. H. Freeman; 2005.
- 162.N. Voilley, J. de Weille, J. Mamet, M. Lazdunski. Nonsteroid anti-inflammatory drugs inhibit both the activity and the inflammation-induced expression of acid-sensing ion channels in nociceptors. *The journal of neuroscience*. 2001; 21(20): 8026-8033.
- 163.https://comptox.epa.gov/dashboard/dsstoxdb/results?exact=1&mass=0&search=165212&single_component=0#, pristupio 22.01.2018.
- 164.C.M. Adeyeye, P.K. Li. Diclofenac sodium. In: K. Florey, ed. *Analytical profiles of drug substances*, Vol. 19. San Diego: Academic Press; 1990: 123-144.
- 165.<https://www.drugbank.ca/salts/DBSALT000864>, pristupio 06.02.2018.
- 166.T. Spasojević-Došen, A. Cvijanović, B. Tubić Registar lijekova Bosne i Hercegovine 2017, 8. Izd. Banja Luka: Agencija za lijekove i medicinska sredstva Bosne i Hercegovine; 2017.
- 167.Sean C Sweetman. Martindale: the complete drug reference. 36st ed. London: Pharmaceutical Press; 2009: 1309-132.
- 168.Tramadol - Update Review Report. WHO (16-20 June 2014)
- 169.H.H. Hennies, E. Friderichs, J. Schneider. Receptor binding, analgesic and antitussive potency of tramadol and other selected opioids. *Arzneimittel-Forschung*. 1988; 38 (7): 877–880.
- 170.W. Leppert. Tramadol as an analgesic for mild to moderate cancer pain. *Pharmacological reports*. 2009; 61(6): 978–992.
- 171.R.B. Raffa, H. Buschmann, T. Christoph, G. Eichenbaum, W. Englberger, C.M. Flores, T. Hertrampf, B. Kögel, K. Schiene, W. Straßburger, R Terlinden, T.M. Tzschentke. Mechanistic and functional differentiation of tapentadol and tramadol. *Expert opinion on drug safety*. 2012; 13(10): 1437–1449.
- 172.K. Minami, Y. Sudo, K. Miyano, R.S. Murphy, Y. Uezono. μ -Opioid receptor activation by tramadol and O-desmethyltramadol (M1). *Journal of anesthesia*. 2015; 29(3): 475-479.
- 173.J.K. Coller, L.L. Chrstrup, A.A. Somogyi. Role of active metabolites in the use of opioids. *European Journal of clinical pharmacology*. 2009; 65(2): 121-139.

- 174.R. Smyj, X-P. Wang, F. Han. Tramadol Hydrochloride. In: H. G. Brittain, ed. *Profiles of drug substances excipients and related methodology*. Vol. 38, London: Academic Press; 2013.
- 175.Tramadol Update Review Report Agenda, Expert Committee on Drug Dependence Thirty-sixth Meeting Geneva, 16-20 June 2014, World Health organization
- 176.<https://www.drugbank.ca/salts/DBSALT000181>, pristupio 10.02.2018
- 177.USP (United States Pharmacopeia 23/National Formulary 18) (1995) Oxidized cellulose p. 318
- 178.R.L. Whistler. *Methods in Carbohydrate Chemistry, Vol. III, Cellulose*. New York, London: Academic Press; 1963: 49-51.
- 179.M. Spaić, D.P. Smal, J.R. Cook, W. Wan. Characterization of anionic and cationic functionalized bacterial cellulose nanofibres for controlled release applications. *Cellulose*. 2014; 21(3): 1529-1540.
- 180.B. Siroka, M. Noisternig, U. J. Griesser, T. Bechtold. Characterization of cellulosic fibers and fabrics by sorption/desorption. *Carbohydrate research*. 2008; 343(12): 2194-2199.
- 181.D. Stanković U. Elesini, A. Pavko Čuden, A. F. Richards. Study of the green cotton fibers, *Acta chimica slovenica*. 2002; 49: 815-833.
- 182.K. Schwertassek. 30 Jahre Strukturstudien an Cellulosefasern mittels der Jodsorption. Rückblick und Ausblick. *Faserforschung und textiltechnik*. 1961; 12: 369.
- 183.M. L. Nelson, M.-A. Rousselle, S. J. Cangemi, P. Trouard. The iodine sorption test. Factors affecting reproducibility and a semimicro adaptation. *Textile research journal*. 1970; 40: 870-880.
- 184.J. Yuan, Y. Gao, X. Wang, H. Liu, X. Che, L. Xu, Y. Yang, Q. Wang, Y. Wang, S. Li. The load and release characteristics on a strong cationic ion-exchange fiber: kinetics, thermodynamics and influences. *Drug design, development and therapy*. 2014; 8: 945-955.
- 185.J. H. Ortez, Disc diffusion testing. In: M.B. Coyle, ed. *Manual of antimicrobial susceptibility testing*. Washington, DC: American Society of Microbiology; 2005: 39-52.
- 186.Anonymous, Testing Method for Antibacterial of Textiles JIS L 1902–1990. Japanese Industrial Standard: Japan, (1990).
- 187.N. M. Bikales, L. Segal. *Cellulose and Cellulose derivatives, Vol V, Part IV*. New York: Wiley-Interscience; 1971.

- 188.Saito T, Isogai A. TEMPO-mediated oxidation of native cellulose. The effect of oxidation conditions 420 on chemical and crystal structures of the water-insoluble fractions. *Biomacromolecule*. 2004; 5: 1983–1989.
- 189.S.Margutti, S.Vicini, N. Proietti, D. Capitani, G. Conio, E. Pedemonte, A. L. Segre. Physical-chemical characterization of acrylic polymers grafted on cellulose. *Polymer*. 2002; 43(23): 6183-6194.
- 190.S. Milichovsky, T. Sopuch, J. Richter. Depolymerization during nitroxide- mediated oxidation of native cellulose. *Journal of applied polymer science*. 2007; 106(6): 3641-3647.
- 191.A. A. Saafan, S. H. Kandil, A. M. Habib. Liquid ammonia and caustic mercerization of cotton fibers using X-ray, infrared, and sorption measurements. *Textile Research Journal*. 1984; 54: 863-867.
- 192.D. Fakin, V. Golob, K. S. Kleinschek, A.Majcen Le Marechal. Sorption properties of flax fibers depending on pretreatment processes and their environmental impact. *Textile research journal*. 2006; 76(6): 448-454.
- 193.H. L. Doppert. Adsorption of iodine from aqueous solutions by samples of tire yarn from regenerated cellulose. *Journal of polymer science*. 1967; 5(2): 263-270.
- 194.T. Kreze, S. Jeler, S. Strnad. Correlation between structure characteristics and adsorption properties of regenerated cellulose fibers, *Materials research innovations*. 2002; 5(6): 277-283.
- 195.Rodić Grabovac B., Đudić R., Sailović P. Uticaj strukture ceftazidima na dobijanje biološki aktivnog celuloznog zavoja, *Hemijska Industrija*. 2017; 71(1): 35–40.
- 196.P. Sailović. Uticaj strukture antibiotika iz reda cefalosporina na proces adsorpcije i desorpcije na oksidovanom celuloznom vlaknu u formi zavoja. Magistarska teza, Tehnološki fakultet, Banja Luka, BiH, 2013.
- 197.S.M. Burkinshaw. *Physico-chemical Aspects of Textile Coloration*. West Yorkshire, United Kingdom: Wiley; 2016.
- 198.K. Kulasinski. Effecte of water adsorption in hydrophilic polymers. In: A. Mendes-Vilas, A. Solano, eds. *Polymer science: research advances, practical applications and educational aspects*. 1st ed.. Badajoz, Spain: Formatex Research Center, 2016.
- 199.O. Gaitano, N. Calvo, G. Narda, T. Kaufman, R. Maggio, V. Elena Brusau. Preparation and Physical Characterization of a Diclofenac-Ranitidine Co-precipitate for Improving the Dissolution of Diclofenac. *Journal of pharmaceutical sciences*. 2016; 105: 1258-1268.

200. CHEMICALIZE FEATURES. <https://chemicalize.com/#/calculation>, Accessed December 28, 2017.
201. R.G. Zbankov. *Infrared spectra of cellulose and its derivatives*. New York, NY: Springer Science; 1966.
202. F.U. Niethard, M.S. Gold, G.S. Solomon, J.M. Liu, M. Unkauf, H.H. Albrecht, F. Elzik. Efficacy of topical diclofenac diethylamine gel in osteoarthritis of the knee. *Journal of rheumatology*. 2005; 32(12): 2384-2392.
203. C. Bissantz, B. Kuhn, M. Stahl. A Medicinal Chemist's Guide to Molecular Interactions. *Journal of medicinal chemistry*. 2010; 53(14): 5061–5084.
204. I. Abaev, V. E. Kaputskii, A. A. Adarchenko, O. P. Sobeshchukh. Mechanism of antibacterial action of monocarboxycellulose and other ion-exchange derivatives of cellulose, *Antibiotikii Meditsinskaya Biotekhnologiya*. 1986; 31: 624-628.
205. P. Motřková, I. Brořková, J. Vyřasová, R. Kukla. Antimicrobial effect of OKCEL® H-D prepared from oxidized cellulose. *Folia microbiologica*. 2018; 63(1): 57-62.
206. P. Dineen. The effect of oxidized regenerated cellulose on experimental infected splenotomies. *Journal of surgical research*. 1977; 23: 114-116.
207. D. Spangler, S. Rothenburger, K. Nguyen, H. Jampani, S. Weiss, S. Bhende. In vitro antimicrobial activity of oxidized regenerated cellulose against antibiotic-resistant microorganisms. *Surgical infections*. 2003; 4: 255–262.
208. S. Eykyn, C. Jenkins, A. King, I. Phillips. Antibacterial activity of cefuroxime, a new cephalosporin antibiotic, compared with that of cephaloridine, cephalothin, and cefamandole. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1976; 9 (4): 690-695.
209. R. N. Brogden, R. C. Heel, T. M. Speight, G. S. Avery. *Cefuroxime: A review of its antibacterial activity, pharmacological properties and therapeutic use*. *Drugs*. 1979; 17 (4): 233-266.
210. A. Sandberg, J. H. R. Hessler, R. L. Skov, J. Blom, N. Frimodt-Møller. Intracellular activity of antibiotics against *Staphylococcus aureus* in a mouse peritonitis model. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2009; 53 (5): 1874-1883.
211. Y. Luo, J. D. Helmann. Analysis of the role of *Bacillus subtilis* σ^M in β -lactam resistance reveals an essential role for c-di-AMP in peptidoglycan homeostasis. *Molecular microbiology*. 2012; 83 (3): 623-639.
212. S. A. Kivanc, M. Kivanc, G. Güllülü. Automated ribotyping and antibiotic resistance determining of *Bacillus* spp from conjunctiva of diabetic patients. *Iranian journal of basic medicinal science*. 2013; 17: 138-144.

- 213.C. J. L. R. Almeida, S. M. da Silva, T. H. Napoleão, M. V. da Silva, M. B. M. de Oliveira. Biofilm formation in *Bacillus cereus*, *B. licheniformis* and *B. pumilus*: An alternative for survival in impacted environments. *International journal of science*. 2017; 6(9): 73-79.
- 214.A. A. Carmine, R. N. Brogden, R. C. Heel, T. M. Speight, G. S. Avery. *Cefotaxime. A review of its antibacterial activity, pharmacological properties and therapeutic use. Drugs*. 1983; 25: 223-289.
- 215.K. E. Aldridge. Cefotaxime in the treatment of staphylococcal infections, comparison of in vitro and in vivo studies. *diagnostic Microbiology infectious disease*. 1995; 22, 195-201.
- 216.J. L. LeFrock, R. A. Prince, R. D. Leff. Mechanism of action, anti-microbial activity, pharmacology, adverse effects and clinical efficacy of cefotaxime. *Pharmacotherapy*. 1982; 2: 174-183.
- 217.H.C. Neu. Structure-activity relationships: chemical. In: M. I. Page, ed. *The Chemistry of β -Lactams*. London; Chapman & Hall; 1992.
- 218.P. C. B. Turnbull, N. M. Sirianni, C. I. LeBron, M. N. Samaan, F. N. Sutton, A. E. Reyes, F. Leonard, L. F. Peruski. MICs of Selected Antibiotics for *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, and *Bacillus mycoides* from a Range of Clinical and Environmental Sources as Determined by the Etest. *Journal of clinical microbiology*. 2004; 42 (8): 3626-3634.
- 219.H-J. Müller, K. Howe, C. Frank, I. Haker. Stability of cefazolin, cefotiam, cefuroxime, cefotaxime, ceftriaxone and ceftazidime in normal saline solutions, stored in a new i.v. container made of Biofineò. *Europena journal of hospital pharmacy*. 2000; 6: 17-23.

BIOGRAFIJA AUTORA

Pero Sailović je rođen 15. 06.1981. godine u Gradačcu. Osnovnu školu i gimnaziju je završio u Modriči. Diplomirao je 2008. godine na Tehnološkom fakultetu u Banjoj Luci, odsjek Hemijska tehnologija, sa opštim uspjehom 8,65. Magistarske studije je upisao 2008/09 godine na Tehnološkom fakultetu u Banjoj Luci iz oblasti Opšte i primijenjene hemije. Magistrirao je prosječnom ocjenom 9,88 i odbranio magistarsku tezu pod naslovom “Uticaj strukture antibiotika iz reda cefalosporina na proces adsorpcije i desorpcije na oksidovanom celuloznom vlaknu u formi zavoja”, pri čemu je stekao akademski naziv magistar hemijskih nauka.

Od oktobra 2008. do decembra 2009. bio je zaposlen na Univerzitetu za Poslovni inženjering i menadžment kao asistent na Organskoj hemiji. U martu 2010. počeo je raditi na Tehnološkom fakultetu Univerziteta u Banjoj Luci kao asistent na predmetima Organska hemija 1, Organska hemija 2 i Organska hemija sa prirodnim produktima, a takođe je učestvovao u izvođenju nastave iz predmeta Organska hemija na Medicinskom fakultetu (odsjek Farmacija) u Banjoj Luci. Od februara 2014. godine biran je u zvanje višeg asistenta na pomenutim predmetima kao i na predmetu Organska hemija na odsjeku Grafičko inženjerstvo na Tehnološkom fakultetu. Pero Sailović je koautor na više naučnih radova kao i učestvovao je kao saradnik na nekoliko naučno-istraživačkih projekata.

УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ



РЕПУБЛИКА СРПСКА
УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ
Број: 19-1177/18
Датум: 18.05.2018. год.
БАЊА ЛУКА

ИЗВЈЕШТАЈ

о оцјени урађене докторске дисертације

І ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ

Наставно-научно вијеће Природно-математичког факултета Универзитета у Бањој Луци на 200 редовној сједници одржаној 16.05.2018. године донијело је Одлуку број 19/3.1132/18 којом је именовало комисију за оцјену и одбрану урађене докторске дисертације под називом *Утицај хемијске структуре антибиотика и аналгетика на добијање биолошки активних влакана на бази целулозе*, кандидата мр Пере Саиловића у сљедећем саставу:

1. Др Зоран Кукрић, редовни професор, ужа научна област Биохемија и молекуларна биологија, Технолошки факултет Универзитета у Бањој Луци, предсједник;
2. Др Бранка Родић Грабовац, ванредни професор, ужа научна област Органска хемија, Технолошки факултет Универзитета у Бањој Луци, ментор, члан;
3. Др Снежана Улетиловић, редовни професор, ужа научна област Биохемија и молекуларна биологија, Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци, ментор, члан;
4. Др Љубица Васиљевић, ванредни професор, ужа научна област Органска хемија, Технолошки факултет Универзитета у Источном Сарајеву, члан;
5. Др Милица Балабан, доцент, ужа научна област Органска хемија, Природно-математички факултет Универзитета у Бањој Луци, члан.

ІІ ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

- 1) Перо (Стојан) Саиловић
- 2) 15. 06. 1981. године, Градачац, Босна и Херцеговина
- 3) Универзитет у Бањој Луци, Технолошки факултет, Општа и примјењена хемија, магистар хемијских наука из области опште и примјењене хемије
- 4) Технолошки факултет, *Утицај структуре антибиотика из реда цефалоспорина на процес адсорпције и десорпције на оксидованом целулозном влакну у форми завоја*, Природне науке/Хемијске науке, 12.07.2013. године.
- 5) Природне науке/Хемијске науке
- 6) Докторска дисертације је пријављена на Природно-математичком факултету Универзитета у Бањој Луци на одсјеку Хемија, 2015. године.

III УВОДНИ ДИО ОЦЈЕНЕ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

1) *Утицај хемијске структуре антибиотика и аналгетика на добијање биолошки активних влакана на бази целулозе*

2) Тема докторске дисертације прихваћена је Одлуком Наставно-научног вијећа Природно-математичког факултета број 19/3.1665/15 од 30. 06. 2015. године и Одлуком Сената Универзитета у Бањој Луци број 02/04-3.2305-87/15 од 16.07.2015.

3) Докторска дисертација је урађена у складу са Правилником о садржају, изгледу и дигиталном репозиторијуму докторских дисертација на Универзитету у Бањој Луци и изложена у сљедећим поглављима:

1. Увод: странице 1-3;
2. Теоријски дио: странице 4-35;
3. Материјал и методе: странице 36-46;
4. Резултати и дискусија: странице 47-119;
5. Закључци: странице 120-122;
6. Литература: странице 123-140.

4) Дисертација је написана латиничним писмом на 140 страница нумерисаног текста и садржи 35 табела, 72 слике и 219 литературних навода. Литературни наводи су новијег датума, актуелни су и у складу са обрађеном темом.

На почетку дисертације се налази 9 страница које нису нумерисане а које се односе на податке о ментору и дисертацији на српском и енглеском језику, захвалницу, листу скраћеница и садржај. На крају дисертације се налазе 4 странице које нису нумерисане а односе се на биографију аутора и три изјаве према Правилнику о дигиталном репозиторијуму.

Дисертација садржи шест поглавља: Увод, Теоријски дио, Материјал и методе, Резултати и дискусија, Закључци и Литература. Осим наведених поглавља дисертација садржи податке о ментору и дисертацији на српском и енглеском језику са резимеом на српском и енглеском језику, захвалницу, листу скраћеница, садржај, биографију аутору и три изјаве према Правилнику о дигиталном репозиторијуму.

IV УВОД И ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

1) Биолошки активна влакна као носачи љековитих препарата нуде бројне предности у односу на конвенционалне медицинске терапије. Истраживања у области медицинских материјала указала су на могућност добијања биолошки активних влакана комбинацијом различитих полимерних носача и љековитих препарата. Новија истраживања показују да особине ових влакана зависе како од врсте носача, тако и од природе самог лијека. Међутим, мањи број радова бави се дефинисањем хемијских интеракција носач-лијек, утицајем хемијске структуре лијека и услова везивања на тип интеракције.

Предмет истраживања ове дисертације је добијања биолошки активног влакна везивањем љековитих препарата на оксидовано целулозно влакно у форми завоја.

Циљ рада је проучавање хемијских интеракција током везивања антибиотика и аналгетика на биолошки активном целулозном влакну и њихов утицај на особине добијеног влакна.

У склопу истраживања прво је извршено хемијско модификовање и карактеризација целулозног влакна које је послужило као носач за везивање љековитих препарата, а затим праћење кинетике везивања и отпуштања лијека. Након тога проучаван је утицаја структуре на врсту и јачину хемијске интеракције лијек-vlakно. На крају истраживања оцијењено је антимикуробног дјеловања биолошки активног целулозног влакна са везаним антибиотикима.

У сагласности са циљевима истраживања, постављене су сљедеће хипотезе:

- механизам и кинетика сорпције аналгетика и антибиотика на модификованом и немодификованом целулозном влакну зависе од садржаја и врсте јоноизмјењивачких група
- хемијска структура и садржај функционалних група тестираних лијекова утичу на везивање и отпуштање са целулозног влакна и тип формираних хемијских веза
- повезивањем структуре аналгетика и антибиотика са механизмом и кинетиком сорпције добиће се критеријуми за избор лијекова са најбољом структуром за производњу биолошки активног влакна са аналгетским и антимикуробним дјеловањем

2) Према савременој дефиницији биолошки активна влакна представљају влакна која показују одређену биолошку активност и компатибилност са физиолошким процесима у организму или људским ткивом и могу се користити у терапијске сврхе [1].

Влакна као носачи љековитих препарата су релативно нова идеја у свијету биомедицинских материјала са контролисаним отпуштањем лијекова. Посебну област биолошки активних влакана чине активни системи хемијски модификовано влакно-љековити препарат [2].

Различити активни агенси као што су аналгетици, анестетици, антибиотици, ензими, антиканцерогени лијекови, контрацептивна средства могу бити имобилисани на полимерну матрицу [3]. Ова влакна могу имати различите намјене као што су влакна са антимикуробним дјеловањем [4], влакна са анестезијским [2] и аналгетским дјеловањем [5] и влакна са комбинованим дјеловањем.

Предност биолошки активних влакана је могућност локалне примјене, сигурно и континуално отпуштање лијека и дужи период корисног дјеловања [6].

Биолошки активни полимери се добијају хемијским модификовањем полимерних влакана [7] са циљем увођења функционалних група [8] погодних за физичко или хемијско везивање љековитих препарата са терапеутским дјеловањем. Везивање активног препарата на модификовано влакно се може остварити различитим типовима хемијске везе. Варирањем карактера везе хемијски модификованог влакна са љековитим препаратом примарно се подешава дужина терапеутског дјеловања биолошки активних влакана. На дужину дјеловања такође утичу особине коришћеног влакна и активне супстанце, као и спољни фактори [9]. За добијање биолошки активних влакана могуће је користити велики број различитих полимерних влакана. Као полазни материјал могу се користити текстилна влакна природног поријекла или синтетска влакна: целулоза и њени деривати [10], хитозан [11], алгинат [12], латекс [13], поливинилалкохол-ПВА [14], полиакрилонитрил-ПАН [15], полиамид-ПА [16], полиестар-ПЕС [17], полиетилен-

терефталат-ПЕТ [6].

Актуелна истраживања биолошки активних влакана се врше и на биодеградибилним влакнима, јер системе полимер-лијек након престанка дјеловања није потребно уклањати из организма [18].

Природни полимер целулоза, као биодеградибилан, нетоксичан и неканцероген материјал, представља одличну полимерну основу за добијање медицинског текстила.

Модификовање целулозе са циљем увођења јоноизмјењивачких група најчешће се врши оксидацијом. При оксидацији целулозе, у зависности од врсте оксидационог средства и услова у којима се овај процес одвија, хидроксилне групе се могу оксидовати до алдехидних [19] или карбоксилних група [20]. Оксидована целулоза (ОЦ) добијена селективном оксидацијом целулозе увођењем карбоксилне групе у положају С6 пиранозног прстена може се користити као носач активних компоненти. Познато је да садржај карбоксилних група у ОЦ зависи од реакционих услова, рН средине, температуре, врсте оксиданса и његове концентрације [20]. Оксидована целулоза са мање од 3% карбоксилних група користи се као ексципијент у фармацеутској индустрији, док ОЦ са 3-25 % карбоксилних група представља биокompatibilни и биоразградиви полимер који се највише користи као хемостатик и средство за спречавање постхируршких адхезија [21]. Испитивања су показала да ОЦ посједује антибактеријска [22], антиканцерогена [23], имуностимулативна [24] и зацјељујућа својства [25].

Везивање активних компоненти на оксидовану целулозу може се постићи преко ковалентне везе [22], јонске везе [26], хидрофобних интеракција [27] као и амидном везом [28].

Антимикробна влакна имају за циљ да сузбију размножавање или да потпуно униште патогене микроорганизме који се развијају на површини влакнастих материјала, или да постепеним отпуштањем антимикробног средства заштите површину коју покривају од патогене микрофлоре. Данас је у употреби широк спектар антимикробних средстава која се користе за добијање антимикробних влакана. То су антибиотици широког спектра дејства [29], N-халамин [30], једињења на бази дифенил-етера (триклосан) [31], квартерна амонијумова једињења [32], бигванидини, метални јони (сребра, бакра, цинка, живе) [33], зеолит [34], хитозан [35] и екстракти биљака као што су гинко, сибирска јела, рузмарин и кантарион [36]. Аналгетска влакна имају за циљ локално уклањање или умањивање бола. Аналгетска влакна углавном се добијају везивањем аналгетика као што су диклофенак [37], трамадол [5], ибупрофен [38], парацетамол [39], аспирин [9]. Такође, аналгетска влакна се могу добити и везивањем локалних анестетика [40].

Од укупног фонда литературе кориштене у овој дисертацији, који износи 219 литературних навода, у овом попису су само извори који су кориштени у овом Извјештају:

1. V.A. Zhukovskii. Current status and prospects for development and production of biologically active fibre material for medical applications. *Fibre chemistry*. 2005; 37: 352–355.
2. Б. Родић-Грабовац, Р. Ђуђић. Добијање оксидираног целулозног влакна са анестезијским и антимикробним дјеловањем, Гласник хемичара технолога и еколога Републике Српске. 2008; 47: 55-59.
3. P. Salvinija. Advanced textile materials and biopolymers in woundmanagement. *Danish medical*

- bulletin*. 2008; 55(1): 72-77.
4. Б. Родић-Грабовић, Р. Ђуђић, Љ. Топалић-Тривуновић, М. Балабан, Антимикробно дјеловање модификованог целулозног влакна са везаним цефалексин монохидратом, Гласник хемичара технолога и еколога Републике Српске. 2011; 6: 1-9.
 5. H. O. Ammar, M. Ghorab, S. A. El-Nahhas, R. Kamel, Polymeric Matrix System for Prolonged Delivery of Tramadol Hydrochloride, Part I: Physicochemical Evaluation, *AAPS PharmSciTech*. 2009; 10(1): 7-20.
 6. J. Buchenska, S. Slomkowski, J. Tazbir, E. Sobolewska, Antibacterial poly(ethylene terephthalate) yarn containing cephalosporin type antibiotic, *FIBERS & TEXTILES in Eastern Europe*. 2003; 11(1): 41-47.
 7. P. Škundrić, A. Medović, Lj. Simović, S. Dimitrijević, M. Kostić. Development and characterization of antibacterial bioactive fibers as transdermal therapeutic systems. In: 5th World Textile Conference AUTEX 2005, Book 1, Portorož, Slovenia, 2005; pp. 232.
 8. T. E. Nikiforova, V. A. Kozlov. Study of the effect of oxidative-bisulfite modification of the cotton cellulose on its ion exchange properties, *Russian journal of general chemistry*. 2011; 81(10): 2136-2141.
 9. K. Hänninen. Characterization of Ion-Exchange Fibers for Controlled Drug Delivery. Academic dissertation, Department of Pharmacy, Helsinki, Finland, 2008.
 10. S. Saini, Ç. Y. Falco, M. N. Belgacem J. Bras. Surface cationized cellulose nanofibrils for the production of contact active antimicrobial surfaces. *Carbohydrate polymers*. 2016; 135: 239-247.
 11. R. B. Kozakevych, Y. M. Bolbukh, V. A. Tertykh. Controlled release of diclofenac sodium from silica-chitosan composites. *World Journal of Nano Science and Engineering*. 2013; 3(3): 69-78.
 12. A. Watthanaphanit, P. Supaphol, H. Tamura, S. Tokura, R. Rujiravanit. Wet-spun alginate/chitosan whiskers nanocomposite fibers: Preparation, characterization and release characteristic of the whiskers. *Carbohydrate polymers*. 2010; 79(3): 738-746.
 13. P. B. Aiello, F. A. Borges, K. M. Romeira, M. C. Romeiro Miranda, L. B. de Arruda, P. N. L. Filho, B. de C. Drago, R. D. Herculano. Evaluation of sodium diclofenac release using natural rubber latex as carrier. *Materials research*. 2014; 17(1): 146-152.
 14. A. M. Abdelgawad, S. M. Hudson, O. J. Rojas. Antimicrobial wound dressing nanofiber mats from multicomponent (chitosan/silver-NPs/polyvinyl alcohol) systems. *Carbohydrate Polymers*. 2014; 100: 166-178.
 15. S. S. Kim, J. Lee. Antibacterial activity of polyacrylonitrile-chitosan electrospun nanofibers. *Carbohydrate Polymers*. 2014; 102: 231-237.
 16. E. K. Karanikas, N. F. Nikolaidis, E. G. Tsatsaroni. Preparation of novel ink-jet inks with antimicrobial and bacteriostatic properties to be used for digital printing of polyester and polyamide fibers. *Progress in organic coatings*. 2013; 76(7-8): 1112-1118.
 17. M. E. Üreyen, A. Doğan, A. S. Koparal. Antibacterial functionalization of cotton and polyester fabrics with a finishing agent based on silver-doped calcium phosphate powders. *Textile research journal*. 2012; 82(17): 1731-1742.
 18. P. V. Divya, K. Nandakumar. "Local drug delivery-Periocol" In periodontics. *Trends in biomaterials and artificial organs*. 2006; 19(2): 74-80.
 19. S. Varavinit, N. Chaokasem, S. Shobsngob. Covalent immobilization of a glucoamylase to bagasse dialdehyde cellulose. *World journal of microbiology & biotechnology*. 2001; 17(7): 721-725.
 20. V. Kumar, T. Yang. HNO₃/H₃PO₄-NaNO₂ mediated oxidation of cellulose-preparation and characterization of bioabsorbable oxidized celluloses in high yields and with different levels of oxidation. *Carbohydrate Polymer*. 2002; 48(4): 403-412.
 21. Johnson & Johnson Patient Care, Inc., Surgicel Absorbable Hemostate, PC-0506, 08901-2023, New Brunswick, NJ, 1989.
 22. J. Vytrasova, A. Tylsova, I. Brozkova, L. Cervenka, M. Pejchalova, P. Havelka. Antimicrobial effect of oxidized cellulose salts. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*. 2008; 35: 1247-1252.
 23. Y. Tokunaga, T. T. Naruse. Antitumor effect of oxycellulose as a hemostatic during operation. *Cancer biotherapy and radiopharmaceuticals*. 1998; 13(6): 437-445.
 24. M. Otterlei, T. Espevik, G. Skjak-Brock, O. Smidsrod. Diequatorially bound β (1-4) polyuronates and use of the same for cytokine stimulation, US Patent 5,169,840; dec. 1992.
 25. M. D. Finn, S. R. Schow, E. D. Schneidemann. Osseous regeneration in the presence of four common

- hemostatic agents. *Journal of oral maxillofacial surgery*. 1992 50(6): 608-612.
26. R. Đudić, P. Sailović, B. Rodić Grabovac, B. Rudić. Uticaj koncentracije rastvora cefaleksina na sorpciju na modifikovano celulozno vlakno. *Glasnik hemičara, tehnologa i ekologa Republike Srpske*. 2015; 11: 19-23.
 27. B. Rodić Grabovac, R. Đudić, P. Sailović. The obtaining of materials with antibacterial activity by bonding of cefazoline on modified cellulosic bandage. *Contemporary materials*. 2014; V(2): 222-227.
 28. B. Rodić-Grabovac, Prilog proučavanju hemijskog modifikovanja vlakana u cilju dobijanja medicinskog tekstila sa terapijskim djelovanjem. doktorska disertacija, Tehnološki fakultet, Banjaluka, BiH, 2009.
 29. T.L. Yurkshtovich, V.A. Alinovskaya, N.S. Butrim. Specific features of lincomycin and gentamicin sorption from aqueous solutions of their salts and bases by monocarboxyl cellulose. *Colloid Journal*. 2002; 64(3): 379-383.
 30. Simoncic B, Tomsic B. Structures of Novel Antimicrobial Agents for Textiles – A Review. *Textiles Research Journal*. 2010; 80(16): 1721–1737.
 31. M. Orhan, D. Kut, C. Gunesoglu. Improving the antibacterial activity of cotton fabrics finished with triclosan by the use of 1,2,3,4-butanetetracarboxylic acid and citric acid. *Journal of applied polymer science*. 2009; 111(3): 1344–1352.
 32. L. Guiqian, W. Dingcai, Fu. Ruowen. Studies on the synthesis and antibacterial activities of polymeric quaternary ammonium salts from dimethylaminoethyl methacrylate. *Reactive and Functional Polymers*. 2007; 67(4): 355-366.
 33. Gao Y, Cranston R. Recent Advances in Antimicrobial Treatments of Textiles. *Textile Research Journal*. 2008; 87:60-72.
 34. A.M. Grancarić, A. Tarbuk, I. Kovaček. Nanoparticles of activated natural zeolite on textiles for protection and therapy. *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*. 2009; 15(4): 203–210.
 35. M. Rinaudo. Chitin and chitosan: properties and applications. *Progress in Polymer Science*. 2006; 31(7): 603-632.
 36. K. Mihajlovski. Proučavanje i izbor prirodnih jedinjenja za proizvodnju tekstilnih materijala sa antimikrobnim svojstvima. magistarska teza. Tehnološkometalurški fakultet, Beograd, 2007.
 37. R. B. Kozakevych, Y.M. Bolbukh, V.A. Tertykh. Controlled release of diclofenac sodium from silica-chitosan composites. *World Journal of Nano Science and Engineering*. 2013; 3(3): 69-78.
 38. H. Jia, Lei L. Kerr. Sustained ibuprofen release using composite poly(lactic-co-glycolic acid)/titanium dioxide nanotubes from ti implant surface. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013; 102(7): 2341–2348.
 39. H. S. Samanta, S. K. Ray. Synthesis, characterization, swelling and drug release behavior of semi interpenetrating network hydrogels of sodium alginate and polyacrylamide. *Carbohydrate polymers*. 2014; 99: 666-678.
 40. United States Patent Application Publication, broj US 2009/0142400 A1, 2009

3) У дисертацији је дата карактеризација добијене оксидоване целулозе и хемизам везивања лијека на ОЦ. Дефинисан је тип веза оксидовано влакно-лијек те оптимални услови исцрпљења лијека током везивања љековитих препарата различите хемијске структуре и геометрије молекула. Процесом отпуштања антибиотика и аналгетика везаних на влакно у физиолошком раствору утврђени су услови и временски период у ком долази до контролисаног отпуштања лијека и како везе формиране између влакна и љековитих препарата утичу на процес десорпције. Установљено је како активирање карбоксилних група оксидованог влакна везивањем катјона утиче на касније везивање и отпуштање лијека. На крају је тестирано антимикурно дјеловање узорака завоја са везаним антибиотикима, као и стабилност везе влакно-антибиотик и трајности антимикурног ефекта.

4) Оксидована целулоза са већим садржајем карбоксилних група има већи број активних центара који омогућавају везивање љековитих препарата, али са повећањем садржаја COOH група долази и до смањења сорпционих особина и

механичких карактеристика. Приликом сорпције лијекова на ОЦ долази до успостављања јонских веза и хидрофобних интеракција, у зависности од структуре лијека. У случају испитиваних антибиотика и аналгетика, везане количине лијекова на ОЦ су биле довољне за добијање биолошки активног влакна са потенцијалном медицинском примјеном. Такође, отпуштање лијекова одвија се постепено у трајању 24 сата што омогућава продужено дјеловање.

V МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

1) У изради докторске дисертације као основни материјал кориштен је природни полимер, целулоза у облику памучног завоја. Кориштен је калико завој (100 % целулоза) произвођача „Нива“, Србија.

За везивање на полимерни носач кориштени су антибиотици цефуроксим и цефотаксим и аналгетици диклофенак и трамадол, регистровани у БиХ према АТЦ-класификацији.

Цефуроксим је кориштен у облику праха за инјекције као чиста активна супстанца, произвођача Алкалоид Македонија, а цефотаксим у облику праха за инјекције као чиста активна супстанца, произвођача MN pharmaceuticals, Турска.

Диклофенак је кориштен као чиста активна супстанца произвођача Amoli Organics PVT LTD, Индија, а трамадол као чиста активна супстанца произвођача Pharmaceuticals industries LTD, Индија.

Код избора лијекова пресудни су били сљедећи критеријуми:

- да су лијекови регистровани у БиХ према АТЦ-класификацији
- да су доступни у облику праха у хемијски чистом стању, односно без помоћних супстанци, које би могле утицати на хемизам везивања
- да је њихова структура таква да дају карактеристичан пик у УЛБ подручју, и да се њихова количина може одредити спектофотометријски
- да се ради о антибиотцима и аналгетцима за које се може вршити компарација утацаја структуре на количину везаног лијека и врсте успостављених веза.

2) Модификовање структуре целулозе оксидацијом вршено је са циљем увођења погодних јоноизмјењивачких група, односно карбоксилних група у положају С6. Модификовање је вршено употребом оксидационе смјесе $\text{HNO}_3/\text{H}_3\text{PO}_4/\text{NaNO}_2$, у трајању од 5, 10 и 20 сати. За карактеризацију немодификоване и модификоване целулозе кориштене су електрохемијске методе и класичне аналитичке методе за одређивање карактеристика полимера и класичне методе одређивања сорпционих и физичко-механичких особина немодификоване и оксидоване целулозе.

Оксидованој целулози је одређен садржај карбоксилних, карбонилних и алдехидних група употребом стандардних волуметријских метода. Одређивање сорпције влаге (према стандарду СРПС:Ф.С3.101) и вриједности везивања воде методом центрифугирања урађено је и за немодификовану и за оксидовану целулозу, као и одређивање прекидне чврстоће, јодног броја и степена кристаличности.

Активирање оксидованог целулозног влакна везивањем Na^+ јона вршено је са циљем побољшања јоноизмјењивачких карактеристика влакна. Сорпција на немодификовано и оксидовано целулозно влакно вршена је у статичким условима на

собној температури (25 ± 1 - 26 ± 1 °C) током 24 часа. Узорци оксидованог завоја (1 g) потапани су у 200 мл воденог раствора цефуроксима, цефотаксима, диклофенака и трамадола, концентрација $c = 1,7 \cdot 10^{-3}$, $2,5 \cdot 10^{-3}$, $3,4 \cdot 10^{-3}$, $4,3 \cdot 10^{-3}$ и $5,1 \cdot 10^{-3}$ mol/L. Отпуштање антибиотика и аналгетика са оксидоване целулозе вршено је у статичким условима тако што су узорци оксидоване целулозе са везаним лијеком потапани у 100 ml физиолошког раствора (0,95 % NaCl) на собној температури (25 ± 1 °C) током 24 сата.

Количине везаних и отпуштених антибиотика и аналгетика са оксидованог целулозног влакна одређене су спектрофотометријски на УЉ-ВИС спектрофотометру у растворима у којима је вршена сорпција и десорпција, код апсорпционог максимума испитиваних антибиотика и аналгетика. Цефуроксим је одређен код λ_{max} 274 nm, цефотаксим код λ_{max} 233 nm, диклофенак код λ_{max} 276 nm и трамадол код λ_{max} 271 nm.

ИЦ (ФТИР) спектроскопија је кориштена за праћење хемијске структуре ОЦ и утицаја трајања оксидације на садржај карбоксилних група, као и праћење интеракција полимерног носача са везаним антибиотикима и аналгетикима.

Скенирајућом електронском микроскопијом кориштењем дифракције високоенергетских електрона снимљене су морфолошке карактеристике ОЦ, као и ОЦ са везаним лијековима.

Методом дифузије на агарној плочи тестирана је ефикасност добијених биолошки активних целулозних влакна са антимикуробним дјеловањем.

Методе примјењене у овој докторској дисертацији су савремене и поуздане, те адекватне за ову врсту истраживања. Приликом провођења истраживања није дошло до промјене плана истраживања који је дат приликом пријаве докторске дисертације што је омогућило прикупљање резултата и свеобухватно сагледавање испитиваних параметара. Резултати микробиолошког тестирања влакана са везаним антибиотикима су статистички обрађени у Excel-у одређивањем стандардне девијације.

VI РЕЗУЛТАТИ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ИСТРАЖИВАЊА

1) Селективном оксидацијом целулозног влакна у форми завоја смјесом $\text{HNO}_3/\text{H}_3\text{PO}_4/\text{NaNO}_2$ примарне хидроксилне групе целулозе оксидоване су у карбоксилне и добијена је оксидована целулоза (ОЦ) са 0,547, 1,163 и 2,109 mmol/g карбоксилних група. Селективна оксидација доводи до промјена у структури и кристаличности, као и механичким и сорпционим карактеристикама ОЦ. Поређењем узорака ОЦ са различитим садржајем карбоксилних група установљено је да са повећањем садржаја карбоксилних група долази до смањења сорпционих особина, као и до слабљена механичких карактеристика.

Сорпцијом цефуроксима, цефотаксима, диклофенака и трамадола на ОЦ могуће је добити биолошки активно целулозно влакно са антимикуробним и аналгетским дјеловањем. На количину везаних лијекова утичу хемијска структура лијека, сорпционе карактеристике ОЦ, рН вриједности приликом сорпције као и дужина сорпције.

Максималне количине везаних антибиотика на ОЦ након 24 сата сорпције у воденим

растворима антибиотика износиле су 0,0395 mmol/g за цефуроксим и 0,0580 mmol/g за цефотаксим. Максималне количине везаних аналгетика на ОЦ након 24 сата сорпције у воденим растворима аналгетика износиле су 0,8141 mmol/g за диклофенак и 0,2232 mmol/g за трамадол.

Уочено је повећање количине везаних антибиотика на ОЦ са порастом садржаја карбоксилних група ОЦ и са временом сорпције. Разлике у количини везаних и отпуштених лијекова објашњене су различитом структуром лијекова и њихових pK_a вриједности. У поређењу са цефуроксимом, цефотаксим се везао у већој количини, а мање се отпуштао. Разлика у везивању и отпуштању антибиотика објашњена је одсуством базних функционалних група и немогућношћу јонског везивања цефуроксима који се може везати само Ван дер Валсовим интеракцијама са глукозним јединицама целулозе (π - π интеракције) и преко ОН група целулозе (π -Н интеракције).

Код аналгетика, диклофенак се везао у већој количини у поређењу са трамадолом, а мање се отпуштао. Бољем везивању диклофенака на ОЦ доприноси више фактора. Мање димензије молекуле диклофенака у односу на трамадол и конформациона флексибилност молекуле омогућавају приступ већем броју активних центара оксидоване целулозе, док рН вриједности током сорпције омогућавају потпуну јонизацију карбоксилних група и стварање великог броја водоничних веза. Такође, боље везивање диклофенака на ОЦ у односу на трамадол тумачи се грађењем агрегата молекула лијека приликом везивања на влакно, као и немогућношћу јонског везивања трамадола на ОЦ.

Активирањем ОЦ везивањем Na^+ постигнуто је повећање количине везаног цефотаксима и трамадола на узорку ОЦ са 0,547 mmol/gCOOH.

Установљено је да се везивање сва четири лијека одвија се по Лагранжовом моделу кинетике псеудо-другог реда, што указује да се ради о комбинацији адсорпције и хемисорпције.

Антимикробно дјеловање узорака ОЦ са везаним антибиотикима тестирано је методом дифузије на агарној плочи у односу на културе *E. coli*, *S. aureus* и *B. cereus*. Најбоље антибактеријско дјеловање према све три кориштене културе показао је узорак ОЦ са везаним цефотаксимом. Тестирање трајности везе ОЦ са везаним антибиотикима истом методом показала је да узорци ОЦ са везаним цефуроксимом испољавају продужено антибактеријско дјеловање и након 48 сати проведених на хранљивој подлози према *S. aureus*, а узорци ОЦ са везаним цефотаксимом према *S. aureus* и *E. Coli*.

2) Добијени резултати су јасно приказани, правилно, логично и јасно растумачени у поређењу са резултатима других аутора.

3) Ова докторска дисертација се бави везивањем лијекова на селективно оксидованој целулози у форми завоја. Већина радова у доступној литератури се бави хеMOSTАТИЧКИМ својствима селективно оксидоване целулозе у положају С6, а само неколико радова везивањем лијекова, без детаљног поређења структура различитих лијекова и њиховог утицаја на типове остварених веза влакно-лијек. Због тога ова дисертација представља значајан теоријски допринос на подручју истраживања биолошки активних материјала на бази оксидоване целулозе. Ова истраживања такође дају практични допринос јер представљају путоказ за потенцијалну

комерцијалну примјену оксидованог целулозног влакна са антимикробним и аналгетским дјеловањем.

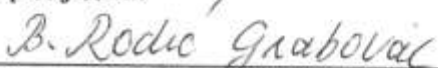
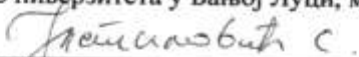
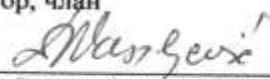
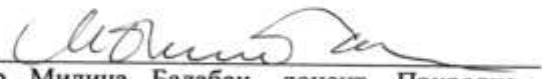
VII ЗАКЉУЧАК И ПРИЈЕДЛОГ

Докторска дисертација мр Пере Саиловића под називом *Утицај хемијске структуре антибиотика и аналгетика на добијање биолошки активних влакана на бази целулозе* урађена је према правилима и принципима научно-истраживачког рада. Дефинисани предмет и циљ истраживања, предложене хипотезе, примијењене методе истраживања, коришћена литература те детаљна анализа предложене теме показују да ова дисертација представља оригинални научни допринос у области која проучава биолошки активна влакна.

Обзиром на актуелност теме и мали број истраживања у овој области на нашим просторима, те на основу укупне оцјене ове докторске дисертације, Комисија једногласно даје позитивну оцјену о завршеној докторској дисертацији под називом *Утицај хемијске структуре антибиотика и аналгетика на добијање биолошки активних влакана на бази целулозе* мр Пере Саиловића и предлаже члановима Наставно-научног вијећа Природно-математичког факултета у Бањој Луци и Сенату Универзитета у Бањој Луци да прихвати овај Извјештај и омогући кандидату јавну одбрану докторске дисертације.

ПОТПИС ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

Датум: 17.05.2018. године

1. 
Др Зоран Кукрић, редовни професор,
Технолошки факултет Универзитета у Бањој
Луци, предсједник
2. 
Др Бранка Родић Грабовац, ванредни
професор, Технолошки факултет
Универзитета у Бањој Луци, ментор, члан
3. 
Др Снежана Улетиловић, редовни професор,
Медицински факултет Универзитета у Бањој
Луци, ментор, члан
4. 
Др Љубица Васиљевић, ванредни професор,
Технолошки факултет Универзитета
у Источном Сарајеву, члан
5. 
Др Милица Балабан, доцент, Природно-
математички факултет Универзитета у Бањој
Луци, члан

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем
да је докторска дисертација

Наслов рада УТИЦАЈ ХЕМИЈСКЕ СТРУКТУРЕ АНТИБИОТИКА И АНАЛГЕТИКА НА ДОБИЈАЊЕ БИОЛОШКИ АКТИВНИХ ВЛАКАНА НА БАЗИ ЦЕЛУЛОЗЕ

Наслов рада на енглеском језику THE INFLUENCE OF THE CHEMICAL STRUCTURE OF ANTIBIOTICS AND ANALGESICS ON OBTAINING BIOLOGICALLY ACTIVE FIBERS BASED ON CELLULOSE

- ☒ резултат сопственог истраживачког рада,
- ☒ да докторска дисертација, у цјелини или у дијеловима, није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- ☒ да су резултати коректно наведени и
- ☒ да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

У Бањој Луци, дана 15.05.2018. године

Потпис докторанта
Саиловић Перо

Саволућ Перо

Изјава 2

Изјава којом се овлашћује Универзитет у Бањој Луци да докторску дисертацију учини јавно доступном

Овлашћујем Универзитет у Бањој Луци да моју докторску дисертацију под насловом
УТИЦАЈ ХЕМИЈСКЕ СТРУКТУРЕ АНТИБИОТИКА И АНАЛГЕТИКА НА ДОБИЈАЊЕ
БИОЛОШКИ АКТИВНИХ ВЛАКАНА НА БАЗИ ЦЕЛУЛОЗЕ

која је моје ауторско дјело, учини јавно доступном.

Докторску дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату
погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у дигитални репозиторијум Универзитета у
Бањој Луци могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце
Креативне заједнице (*Creative Commons*) за коју сам се одлучио/ла.

- ☐ Ауторство
- ☐ Ауторство – некомерцијално
- ☒ Ауторство – некомерцијално – без прераде
- ☐ Ауторство – некомерцијално – дијелити под истим условима
- ☐ Ауторство – без прераде
- ☐ Ауторство – дијелити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци
дат је на полеђини листа).

У Бањој Луци, дана 15.05.2018. године

Потпис докторанта

Саиловић Неро

Саиловић Неро

Изјава 3

Изјава о идентичности штампане и електронске верзије докторске дисертације

Име и презиме аутора	Перо Саиловић
Наслов рада	Утицај хемијске структуре антибиотика и аналгетика на добијање биолошки активних влакана на бази целулозе
Ментор	проф. др Бранка Родић Грабовац проф. др Снежана Улетиловић

Изјављујем да је штампана верзија моје докторске дисертације идентична електронској верзији коју сам предао/ла за дигитални репозиторијум Универзитета у Бањој Луци.

У Бањој Луци, дана 15.05.2018. године

Потпис докторанта
Саиловић Перо

