

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ  
Факултет за физичку хемију

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ  
Веће научних области природних наука

Датум: 13.06.2024.  
Захтев број: 896/2

## **ЗАХТЕВ**

### **за давање сагласности на одлуку о прихватању теме докторске дисертације и о одређивању ментора**

Молимо да, сходно чл. 48 ст. 5 тач. 3) Статута Универзитета у Београду („Гласник Универзитета“ бр. 201/2018, 207/2019, 213/2020, 214/2020, 217/2020, 230/21, 232/22, 233/22, 236/22, 241/22, 243/22, 244/23 245/23 и 247/23), дате сагласност на одлуку о прихватању теме докторске дисертације:

**Синтеза и *in vitro* испитивање дејства нових деривата тетра hidroизохинолина на више потенцијалних терапеутских мета повезаних са Алцхајмеровом болешћу**

**НАУЧНА ОБЛАСТ: Физичка хемија - биофизичка хемија**

**ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:**

1. Име, име једног од родитеља и презиме кандидата: **Дуња, Мирослав, Јовановић**
2. Претходно образовање (назив и седиште факултета, студијски програм):  
**Универзитет у Београду - Факултет за физичку хемију, мастер академске студије физичке хемије**
3. Година дипломирања: **2021.**
4. Година уписа на докторске студије: **2021.**
5. Назив студијског програма докторских студија: **Докторске академске студије физичке хемије**
6. Датум подношења пријаве теме докторске дисертације: **06.06.2024.**

## ПОДАЦИ О МЕНТОРУ:

Име и презиме ментора: **др Ана Поповић Бијелић**

Звање: **ванредни професор, Универзитет у Београду - Факултет за физичку хемију**

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1) Milunovic, M.N.M, Ohui, K, Besleaga, I, Petrasheuskaya, T.V, Dömötör, O, Enyedy, É.A, Darvasiova, D, Rapta, P, Barbieriková, Z, Vegh, D, Tóth, S, Tóth, J, Kucsma, N, Szakács, G, Popović-Bijelić, A, Zafar, A, Reynisson, J, Shutalev, A.D, Bai, R, Hamel, E, Arion, V.B. Copper(II) Complexes with Isomeric Morpholine-Substituted 2-Formylpyridine Thiosemicarbazone Hybrids as Potential Anticancer Drugs Inhibiting Both Ribonucleotide Reductase and Tubulin Polymerization: The Morpholine Position Matters. *J Med Chem.* 2024 May 21. doi: 10.1021/acs.jmedchem.4c00259. Epub ahead of print. PMID: 38771959. (M21a)

2) Ohui, K, Afanasenko, E, Bacher, F, Lim Xue Ting, R, Zafar, A, Blanco-Cabra, N, Torrents, E, Dömötör, O, May, N.V, Darvasiova, D, Enyedy, É., Popović Bijelić, A, Reynisson, J, Rapta, P, Babak, M.V, Pastorin, G, Arion, V.B. New water-soluble copper(II) complexes with morpholine–thiosemicarbazone hybrids: insights into the anticancer and antibacterial mode of action. *J. Med. Chem.* 2019, 62, 512–530. (M21a)

3) Bacher, F, Dömötör, O, Kaltenbrunner, M, Mojović, M, Popović Bijelić, A, Gräslund, A, Ozarowski, A, Filipovic, L, Radulović, S, Enyedy, É.A, Arion, V.B. Effects of terminal dimethylation and metal coordination of proline-2-formylpyridine thiosemicarbazone hybrids on lipophilicity, antiproliferative activity, and hR2 RNR inhibition. *Inorg. Chem.* 2014, 53, 12595-12609. (M21a)

4) Popović-Bijelić, A., Kowol, C.R., Lind, M.E., Luo, J, Himo, F., Enyedy, E.A., Arion, V.B., Gräslund, A. Ribonucleotide reductase inhibition by metal complexes of Triapine (3-aminopyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone): a combined experimental and theoretical study. *J Inorg. Biochem.* 2011, 105, 1422-1431. (M21)

5) Vesković, A, Nakarada, Đ, Pavićević, A, Prokić, B, Perović, M, Kanazir, S, Popović Bijelić, A, Mojović, M. In Vivo/Ex Vivo EPR Investigation of the Brain Redox Status and Blood-Brain Barrier Integrity in the 5xFAD Mouse Model of Alzheimer's Disease, *Current Alzheimer Research* 2021, 18, 25-34. (M22)

## ПОДАЦИ О МЕНТОРУ:

Име и презиме ментора: **др Александра Бонцић**

Звање: **виши научни сарадник, ИНН "Винча"**

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1) Bondžić A. M.,\* Žakula J. J., Korićanac L. B., Keta O. D., Janjić G. V., Đorđević I. S. Rajković S. U. "Cytotoxic activity and influence on acetylcholinesterase of series dinuclear platinum(II) complexes with aromatic nitrogen-containing heterocyclic bridging ligands: Insights in the mechanisms of action", *Chemico-Biological Interactions*, 2022, 351, 109708. M21

2) Filipović, A., Džambaski, Z., Bondžić, A.M., Bondžić B.P. „, Visible-light promoted photoredox catalysis in flow: addition of biologically important  $\alpha$ -amino radicals to Michael acceptors. *Photochemical and Photobiological Sciences*, 2023, 22, 2259. M21

3) Bondžić A.M.\*, Lazarević-Pašti T.D., Leskovic, A.R., Petrovića Ž.P., Čolović M. B., Parac-Vogt T. N., Janjić G.V. "A new acetylcholinesterase allosteric site responsible for binding voluminous negatively charged molecules – the role in the mechanism of AChE inhibition" *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2020, 151, 105376. M21

4) Bondžić, A. M.\*, Senčanski, M. V., Vujačić Nikezić, A.V., Kirillova, M. V., André, V., Kirillov, A. M.\*, Bondžić, B. P.\* "Aminoalcoholate-driven tetracopper(II) cores as dual acetyl and butyrylcholinesterase inhibitors: experimental and theoretical elucidation of the mechanism of action" *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2020, 205, 110990 M21

5) Džambaski Z., Bondžić A. M., Triandafillidi, I., Kokotos, C. G., Bondžić, B. P., "Organocatalytic, Organic Oxidant Promoted, Enamine C-H Oxidation/Cyclopropanation Reaction", *Advanced Synthesis and Catalysis*, 2021, 363, 4002 – 4008. M21a

Обавештавамо вас да је **Наставно-научно веће** на седници одржаној **13.06.2024. године** размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације јер садржи оригиналну идеју и да је од значаја за развој науке, примену њених резултата, односно развој научне мисли уопште.

**ДЕКАН ФАКУЛТЕТА**

---

Прилог: 1. Одлука о прихватању теме докторске дисертације и о одређивању ментора.  
2. Извештај Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације.

Датум: 13.06.2024.

Број: 897

На основу члана 33. Статута Универзитета у Београду - Факултета за физичку хемију, Наставно-научно веће Факултета на IX редовној седници одржаној 20.05.2024. године доноси следећу

**О Д Л У К У**  
**о прихватању теме докторске дисертације и одређивању ментора**

**1.-** Прихвата се позитивни извештај Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **маст. физ.-хем. Дуње Јовановић**, студента докторских студија, под називом „Синтеза и *in vitro* испитивање дејства нових деривата тетрахидроизохинолина на више потенцијалних терапеутских мета повезаних са Алцхајмеровом болешћу“, Комисије у саставу:

- 1) др Јасмина Димитрић-Марковић, редовни професор,
- 2) др Ана Поповић-Бијелић, ванредни професор, Факултет за физичку хемију,
- 3) др Александра Бонџић, виши научни сарадник, ИНН "Винча".

**2.-** За менторе се именују др Ана Поповић-Бијелић, ванредни професор Факултета за физичку хемију и др Александра Бонџић, виши научни сарадник ИНН "Винча".

**3.-** Ова одлука, са потребном документацијом, доставља се Универзитету у Београду – Већу научних области природних наука ради давања сагласности.

По добијеној сагласности, кандидат може да приступи изради дисертације.

**4.-** По урађеној докторској дисертацији, кандидат подноси Наставно-научном већу захтев за одбрану дисертације и доставља примерак дисертације.

**Одлуку доставити:**

- кандидату,
- ментору,
- Стручном већу Универзитета,
- Служби за студентска питања,
- архиви Факултета.

**Универзитет у Београду - Факултет за физичку хемију**

---

**проф. др Мирослав Кузмановић, декан**

**УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ**  
**ФАКУЛТЕТ ЗА ФИЗИЧКУ ХЕМИЈУ**  
**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ**

На VII редовној седници Наставно-научног већа Факултета за физичку хемију одржаној 20.05.2024. године именовани смо за чланове Комисије за одбрану теме и припрему извештаја о одобрењу предлога теме докторске дисертације у оквиру предмета Специјални курс кандидата Дуње Јовановић, мастер физикохемичара, под насловом: **„Испитивање нових деривата тетрахидроизохинолина са истовременим деловањем на више потенцијалних терапеутских мета повезаних са Алцхајмеровом болешћу“**. Дана 24.05.2024. кандидат је одбранио специјални курс. Након прегледа поднетог материјала и успешне одбране специјалног курса у коме је детаљно образложена тема докторске дисертације, Наставно-научном већу подносимо следећи

**ИЗВЕШТАЈ**

**А. Биографија кандидата**

Дуња Јовановић је рођена 05.01.1997. године у Зворнику. Основну и средњу школу завршила је у Сребреници. Школске 2015/2016. године је уписала основне академске студије на Универзитет у Београду - Факултету за физичку хемију, које је завршила у септембру 2020. године са просечном оценом 9,16 и оценом 10 на дипломском раду са темом „Одређивање утицаја поларности растварача на ЕПР спектар спинских проба 5-доксилстеаринске киселине и 16-доксилстеаринске киселине“ под менторством др Ане Поповић Бијелић, ванредног професора Факултета за физичку хемију. Током основних студија била је учесник у пројектима промоције науке „Фестивал науке“, „Наука око нас“ и „Ноћ истраживача“.

Мастер академске студије је уписала школске 2020/2021. године на Факултету за физичку хемију, и завршила у септембру 2021. године са просечном оценом 10 и оценом 10 на мастер раду са темом „Испитивање адсорпције говеђег серумског албумина на Л-метионин стабилисаним наночестицама сребра“ под менторством др Ане Поповић Бијелић, ванредног професора Факултета за физичку хемију и др Александре Бонцић, вишег научног сарадника Института за нуклеарне науке „Винча“. Експериментални део мастер рада урадила је на Институту за нуклеарне науке „Винча“ у Лабораторији за физичку хемију где је волонтирала годину дана.

Докторске академске студије је уписала школске 2021/2022. године на Факултету за физичку хемију и положила је све испите предвиђене планом и програмом. Одлуком Наставно-научног већа Универзитет у Београду - Факултета за физичку хемију број 1764 од 16.11.2021. године изабрана је у звање истраживач-приправник. Од јануара 2022. године запослена је у Лабораторији за физичку хемију, Института за нуклеарне науке „Винча“ где учествује у истраживањима везаним за проучавање потенцијалних лекова у терапији

Алцхајмерове болести у оквиру програмске теме „Дизајн и развој комплексних хемијских структура и иновативних метода у третману неуродегенеративних поремећаја, канцера и у уклањању ксенобиотика из животне средине“.

У јулу 2023. године похађала је тродневну школу обуке у оквиру COST акције IG17104 – „*Pan-European Educational Platform on Multidrug Resistant Tumours and Personalised Cancer Treatment*“ у Лисабону. Од 2023. учесник је COST акције CA22147 – „*European metal-organic framework network: combining research and development to promote technological solutions (EU4MOFs)*“ док је од 2024. године учесник билатералног пројеката са Турском под називом „*MOF compounds as carriers for tetrahydroisoquinoline based inhibitors of acetylcholinesterase – improved solution for the treatment of Alzheimer’s disease*“ и Програма ПРИЗМА, Фонда за науку Републике Србије, под називом „*Plasmonic-based light harvesting for photocatalytic microfluidic devices*“.

## **Б. Објављени научни радови и саопштења кандидата**

### **Рад у врхунском међународном часопису (M21):**

1. Bondžić, A. M., **Jovanović, D.**, Arsenijević, N., Laban, B., Lazarević-Pašti, T., Klekotka, U., Bondžić, B. P., „Soft Protein Corona“ as the Stabilizer of the Methionine-Coated Silver Nanoparticles in the Physiological Environment: Insight into the Mechanism of the Interaction, *International Journal of Molecular Science*, 2022;23(16):8985  
<https://doi.org/10.3390/ijms23168985>

### **Саопштења са међународног скупа штампана у целини (M33):**

1. **Jovanović, D.**, Filipović, A., Bondžić, B. P., Bondžić, A. M., Influence of the structures of THIQ derivatives on their inhibitory properties toward acetyl- and butyrylcholinesterase, 11<sup>th</sup> International Conference on Radiation, Natural Sciences, Medicine, Engineering, Technology and Ecology Herceg Novi, Montenegro, Jun. 19-23 2023  
<https://doi.org/10.21175/rad.abstr.book.2023.23.2>

2. Bondžić, A. M., **Jovanović, D.**, Quenching of bovine serum albumin fluorescence by methionine coated silver nanoparticles: Insight in the mechanism of interaction, 16th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry, Belgrade, Serbia, Sept. 26-30 2022

3. Bondžić, A. M., **Jovanović, D.**, Džambaski, Z., Filipović, A., Bondžić, B. P., New derivatives of 2-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline as dual inhibitors of cholinergic enzymes, 16th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry, Belgrade, Serbia, Sept. 26-30 2022

4. Bondžić, A. M., **Jovanović, D.**, Džambaski, Z., Bondžić, B. P., Kinetic of adsorption bovine serum albumin on the silver nanoparticles, 15th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry, Belgrade, Serbia, Sept. 20-24 2021; F-08:65-66

## Саопштење са националног скупа штампано у изводу (M64)

1. Kovačević, M., Jovanović, D., Živković, S., Vasić-Anićijević, D., DFT screening of the adhesion affinity of transition metals on TiO<sub>2</sub> (001) surface, 9th Conference of Young Chemists of Serbia, Novi Sad, Serbia, Nov. 4<sup>th</sup> 2023

### В. Образложење теме

#### 1. НАУЧНА ОБЛАСТ

Истраживања у оквиру докторске дисертације кандидата Дуње Јовановић обухватају синтезу деривата *N*-арил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолина и испитивање могућности њихове примене као потенцијалних лекова у терапији Алцхајмерове болести. Ужа научна област докторске дисертације је **Физичка хемија – биофизичка хемија**.

#### 2. ПРЕДМЕТ ИСТРАЖИВАЊА

Предмет истраживања ове докторске тезе је синтеза и испитивање деловања деривата тетраhydroизохинолина (*THIQ*) на ензиме ацетил- и бутирилхолинестеразу (*AChE*, *BuChE*), моноамин оксидазу-Б (*MAO-B*),  $\beta$ -секретазу (*BACE-1*), као и на  $\beta$ -амилоидни пептид. Водећи се овом идејом, биће синтетисана серија *C*-1 супституисаних тетраhydroизохинолина користећи реакцију фотокаталитичког укрштеног дехидрогенативног купловања у присуству видљиве светлости. Као супстрати биће коришћени различито супституисани тетраhydroизохинолини и терминални алкини. Потом ће бити испитан утицај супституције у *C*-1 позицији *N*-арил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолина на инхибициони потенцијал горе поменутих ензима, како би се поставила јасна веза између структуре и биолошке активности ових једињења. За она једињења која буду показивала биолошку активност биће урађене кинетичке студије, чиме ће се добити увид у механизам инхибиције ових ензима. Коришћењем флуоресцентне спектроскопије добиће се информација да ли везивање инхибитора доводи до конформационих промена у *AChE* и *BuChE*. Такође из ових експеримената биће израчунат стехиометријски однос везивања инхибитора за *AChE* и *BuChE*, константе везивања и константе гашења флуоресценције ензима. На основу добијених резултата ће бити урађена селекција најбољих инхибитора и биће одређена њихова способност укањања слободних радикала коришћењем антиоксидативног теста. Теоријски прорачуни и молекулско моделовање ће дати увид у потенцијална места везивања инхибитора на испитиваним ензимима и молекулске интеракције одговорне за добијену инхибицију.

Други део докторске дисертације односиће се на *in silico* предвиђања физичкохемијских особина изабраних тетраhydroизохинолинских деривата, фармакокинетику и подобности за потенцијалну примену у терапији Алцхајмерове болести (АБ). Након теоријских предвиђања, физичкохемијске особине ће бити и експериментално испитане за једињења која показују највећи потенцијал. Липофилност селектованих

тетрахидроизохинолина ће бити одређена коришћењем методе течне хроматографије док ће њихова способност проласка кроз крвно-мождану баријеру бити испитана коришћењем *in vitro* теста пермеабилности на вештачким мембранама.

### 3. НАУЧНИ ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА

Циљ докторске дисертације је да се синтетишу деривати тетрахидроизохинолина који могу да представљају основу за развој потенцијалних лекова у терапији Алцхајмерове болести остваривањем свог ефекта истовременим деловањем на више терапеутских мета. Интеракције новосинтетисаних једињења из групе *N*-арил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолина са холинергичким ензимима, *AChE* и *BuChE*, као и са *MAO-B*, *BACE-1* и пептидом  $\beta$ -амилоидом, биће испитане на молекулском нивоу у циљу расветљавања механизма интеракције ове групе једињења са поменутиим протеинима и постављања везе између структуре ових једињења и њихове активности. Након тога, теоријским прорачунима и експериментално биће процењени, односно одређени, физичкохемијски и фармаколошки параметри.

Први део истраживања биће усмерен на синтезу деривата *THIQ* и испитивање њиховог дејства на протеине укључене у патогенезу Алцхајмерове болести. Синтетисани *THIQ* деривати биће подељени у две групе на основу врсте супституције у *C-1* положају *N*-арил-тетрахидроизохинолина. У првој фази истраживања биће испитан инхибициони потенцијал свих добијених једињења према холинергичким ензимима *AChE* и *BuChE*, коришћењем Елманове методе, која подразумева спектрофотометријско праћење ензимске активности. Затим ће бити селектовани најбољи инхибитори из обе групе и на њима ће бити испитана инхибиторна активност на осталим протеинским метама које су значајне у терапији Алцхајмерове болести у циљу добијања једињења које ће показивати истовремено дејство на више од једне терапеутске мете у АБ. За потребе добијања ових резултата користиће се флуоресцентна спектроскопија и оптимизовани ензимски есеји. Затим ће бити селектовани најбољи инхибитори чија ће антиоксидативна активност бити одређена применом антиоксидативног теста базираног на неутрализацији слободних радикала.

У другом делу докторске дисертације биће спроведена *in silico* анализа одабраних деривата тетрахидроизохинолина применом софтверског алата *SwissADME*. Ова анализа ће укључивати предвиђања њихових физичкохемијских својстава, као што су растворљивост, липофилност и способност проласка кроз крвно-мождану баријеру (КМБ). Такође ће се анализирати њихова фармакокинетика, укључујући апсорпцију, дистрибуцију, метаболизам и излучивање (*ADME* параметри), како би се проценила њихова подобност за даљи развој у потенцијалној примени у терапији АБ. Након *in silico* анализе, биће извршена експериментална испитивања липофилности изабраних деривата тетрахидроизохинолина коришћењем течне хроматографије ултрависоких перформанси. Коначно, биће испитана пермеабилност ових једињења кроз КМБ користећи *in vitro* тест пермеабилности на вештачким мембранама. Циљ овог дела истраживања је да се боље разуме потенцијал ових



деривата тетраhydroизохинолина као лекова, са посебним акцентом на њихову способност да достигну и делују у мозгу, што је кључно за третман неуролошких болести.

#### 4. МЕТОДЕ ИСТРАЖИВАЊА

- 1) Синтеза испитиваних једињења ће бити изведена коришћењем Ru катализованог укрштеног дехидрогенативног купловања, користећи компактну флуоресцентну лампу снаге 16 W као извор светлости. Праћење реакције и пречишћавање жељеног производа биће изведено користећи аналитичку и препаративну хроматографију на танком слоју силика гела са флуоресцентним индикатором. Даље ће за потребе доктората у сарадњи са Институтом за хемију, технологију и металургију Универзитета у Београду, синтетисани деривати тетраhydroизохинолина бити окарактерисани коришћењем  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  нуклеарне магнетне резонантне (НМР) спектроскопије, масене и ФТИР спектроскопије.
- 2) Утицај синтетисаних деривата тетраhydroизохинолина на активност *AChE* и *BuChE* биће одређен коришћењем Елманове методе. Ова метода се заснива на спектрофотометријском мерењу концентрације тиохолина, који настаје ензимском хидролизом супстрата (ацетил- или бутирилтиохолина). Тиохолин затим реагује са 5,5'-дитио-бис-2-нитробензоевом киселином (*DTNB*), при чему се формира жути производ, јон тионитробензоеве киселине (*TNB*), са карактеристичним апсорпционим максимумом на 412 nm. Кинетичке криве инхибиције *AChE* и *BuChE* биће утврђене за концентрације супстрата у опсегу од 0,01 до 1 mM. Вредности максималне брзине реакције и Михаелис-Ментен константе биће израчунате линеарним фитовањем експерименталних података на Лајнвивер-Бурковом графику.
- 3) Флуоресцентна спектроскопија ће бити коришћена за одређивање конформационих промена холинергичних ензима након интеракције са испитиваним дериватима *N*-арил-*THIQ*. Пратиће се утицај деривата на флуоресценцију триптофана, пошто се триптофан у холинергичким ензимима налази на местима где се очекује везивање инхибитора. Биће одређен стехиометријски однос везивања, константа везивања инхибитора за ензим и константа гашења флуоресценције триптофана.
- 4) Реверзибилност инхибиције ензима најефикаснијих инхибитора биће одређена коришћењем *Pur-A-Lyzer*<sup>TM</sup> 6000 комплета за дијализу. Реверзибилност инхибиције ће бити одређена поређењем активности неинхибираног и *THIQ* инхибираног ензима након њихове дијализе у фосфатном пуферу. Као референтна једињења користеће се стандардни инхибитори испитиваних ензима.
- 5) Утицај *N*-арил-*THIQ* на активност ензима *MAO-B*, *BACE-1*, као и агрегацију  $\beta$ -амилоидних плакова, биће праћено флуоресцентном спектроскопијом. Ови ензимски есеји биће оптимизовани за испитивану класу једињења (време преинкубације, време инкубације, температура, концентрација супстрата, концентрација протеина) коришћењем стандардних инхибитора као позитивних контрола.

- 6) Трансмисиона електронска микроскопија (ТЕМ) биће коришћена за визуализацију утицаја *THIQ* на агрегацију  $\beta$ -амилоида.
- 7) Липофилност синтетисаних једињења, изражена коефицијентом дистрибуције датог једињења између водене и органске фазе, *logP*, биће одређена течном хроматографијом ултрависоких перформанси (енг. *Ultra Performance Liquid Chromatography, UPLC*). Пермеабилност кроз крвно-мождану баријеру испитиваних једињења биће процењена *in vitro* тестом пермеабилности на вештачким паралелним мембранама (енг. *Parallel Artificial Membrane Permeability Assay, PAMPA*) при чему ће се *UPLC* користити за одређивање концентрације инхибитора у акцепторском и донорском одељку. Овај тест може да идентификује једињења или као КМБ пропусна (КМБ+) или непропусна (КМБ-) у зависности од добијене вредности за коефицијент пермеабилности.
- 8) Теоријским методама биће предвиђена подобност деривата тетра hidroизохинолина за потенцијалну примену у третману АБ, квантно-механички прорачуни и молекулско моделовање. *ADME* параметри за одабране *THIQ*, укључујући фармакокинетичке податке и физичкохемијска својства, као што су липофилност и растворљивост у води, биће *in silico* предвиђена коришћењем софтверског алата *SwissADME*. За објашњење разлика у инхибиторским активностима испитиваних *THIQ*, у првом кораку теоријских студија биће оптимизоване структуре одабраних *THIQ* помоћу софтвера *Gaussian09* коришћењем  $\omega B97X-D$  методе и  $6-311++g^{**}$  основног сета. Припрема ензима и оптимизованих структура *THIQ* биће спроведено у *AutoDockTools* програму, док ће за молекулско моделовање бити коришћен *AutoDock Vina* софтверски алат. Метода ће се извести на целим молекулима како би се утврдило да ли лиганди имају већи афинитет везивања ка другим местима у односу на активна места. За визуализацију интеракција ензим-*THIQ* током молекулског моделовања користиће се *BIOVIA Discovery Studio*. Како би се разумеле различите инхибиторне активности *THIQ*, програм *Gaussian09* ће омогућити да се одреди њихова расподела наелектрисања, поларна површина, запремина молекула и активност молекула у липофилном или хидрофилном окружењу.

## 5. АКТУЕЛНОСТ ТЕМАТИКЕ У СВЕТУ

Алцхајмерова болест је облик неуродегенеративне болести коју карактерише прогресивни губитак меморије, отежана способност комуникације појединца, промене у његовом карактеру и понашању као и дезоријентација у времену и простору. Болест се углавном дијагностикује код особа старијих од 65 година, мада је заступљена и у млађој популацији у малом проценту, до 5% [1].

Детаљна патогенеза АБ је још увек нејасна и постоје бројне хипотезе којима се објашњавају узроци и механизми ове болести који укључују холинергичку дисфункцију, акумулацију  $\beta$ -амилоидних плакова (А $\beta$ ), формирање неурофибриларних чворова, поремећај хомеостазе калцијума, инфламацију и оксидативни стрес. Стога, дизајн и развој

лекова за терапију ове болести је усмерен ка циљању горе наведених специфичних патолошких процеса [2]. Тренутно одобрени лекови пружају привремено и делимично ублажавање симптома болести али њихова дуготрајна употреба доводи до нежељених ефеката. Из ових разлога потребан је развој нових лекова којима би се превазишли недостаци већ постојеће терапије што би довело до ефикаснијег третмана АБ.

Побољшање холинергичке неуротрансмисије и спречавање акумулације А $\beta$  плакова је и данас примарни приступ у лечењу АБ. АБ је неуродегенеративна болест коју карактеришу ниски нивои неуротрансмитера ацетилхолина (*ACh*) укљученог у когнитивне процесе [3]. Клинички третман АБ укључује побољшање функције холинергичког система продужавањем активности *ACh*, а постиже се употребом инхибитора ензима ацетилхолинестеразе. Инхибиција овог ензима обезбеђује сталан ниво *ACh* у синаптичкој пукотини побољшавајући неуротрансмисиону активност. Поред *AChE*, способност хидролизе *ACh* показује и ензим бутирилхолинестераза [3]. У каснијим стадијумима АБ долази до значајног смањења активности *AChE* док је примећено повећање активности *BuChE*. Ова чињеница наглашава улогу *BuChE* у одржавању нивоа *ACh* у каснијим фазама болести и истиче могућност да овај ензим поред *AChE* може бити једна од мета у терапији АБ. Поред улоге у хидролизи *ACh*, оба ензима такође доприносе и повећању токсичности  $\beta$ -амилоида. *AChE* учествује у формирању токсичних А $\beta$ -*AChE* депозита, везивањем А $\beta$  за њено периферно анјонско место [4]. А $\beta$  плакови су састављени од пептидних фрагмената (А $\beta$  (1–40) и А $\beta$  (1–42)) који су резултат процеса цепања амилоидног прекурсорског протеина (АПП). До цепања долази узастопним протеолитичким процесом у коме учествују  $\beta$ - и  $\gamma$ -секретаза. Иницијални корак укључује хидролизу АПП деловањем  $\beta$ -секретазе, што резултује стварањем мембрански везаног С-терминалног фрагмента (С99, СТФ $\beta$ ). Затим,  $\gamma$ -секретаза делује на С99 и долази до формирања пептидних фрагмената А $\beta$  (1–40) и А $\beta$  (1–42). Иако су оба типа А $\beta$  пептида присутна у А $\beta$  плаковима, А $\beta$ (1-42) је познат по својој већој неуротоксичности и склоности формирању нерастворних структура [5]. Стога  $\beta$ -секретаза представља један од кључних ензима у процесу стварања А $\beta$  плакова па је дизајн и развој њених инхибитора важан корак у унапређењу терапије ове болести [6]. Моноамин оксидаза (*MAO*) је ензим присутан у митохондријама, и игра важну улогу у оксидативној деаминацији биогених амина и неуротрансмитера у мозгу и другим ткивима. *MAO* постоји у облику два изоензима, *MAO-A* и *MAO-B*, при чему повишени нивои *MAO-B* представљају биомаркере АБ. Повишена активност *MAO-B* је заслужна за прекомерну производњу хидроксилних радикала у мозгу који доводе до формирања А $\beta$  плакова. Различите фармаколошке студије сугеришу да *MAO-B* инхибитори показују неуропротективно дејство управо смањењем оксидативног стреса регулацијом митохондријалне функције. Такође, познато је и да инхибицијом *MAO-B* долази до повећања концентрације неуротрансмитера допамина и продужења његове активности унутар синаптичке пукотине неурона [3]. Стога, потенцијална терапија АБ која укључује терапију инхибиторима *MAO-B* може представљати једну од обећавајућих приступа у лечењу ове болести.

Међу фармаколошки важним хетероцикличним једињењима, деривати 1,2,3,4-тетрахидроизохинолина су добро познати у медицинској хемији због свог широког спектра терапеутских активности, укључујући антитуморске, антибактеријске, антивирусне, антикоагулантне, антиинфламаторне, анти-Алцхајмер, антиконвулзивне итд. [7]. Недавно објављени подаци показују да хибридна једињења са *THIQ* скелетом поседују неуропротективне и анти-Алцхајмер ефекте, што се огледа у способности заштите нервних ћелија од оштећења и одумирања као и у ублажавању симптома повезаних са Алцхајмеровом болешћу. Терапеутски ефекти везани за Алцхајмерову болест приписују се реверзибилној инхибицији *AChE* и/или *BuChE* микромоларним концентрацијама инхибитора при чему се *THIQ* скелет везује за периферно анјонско место (енг. *Peripheral Anionic Site, PAS*) оба ензима спречавајући их да разграђују ацетилхолин који је кључан за пренос нервних сигнала [8]. Са овим се постиже одржавање нивоа ацетилхолина у мозгу и побољшање когнитивних функција код пацијента са Алцхајмеровом болешћу. Међутим, *THIQ* једињења могу да инхибирају не само холинергичке ензиме већ и друге ензиме, *MAO-A* и *MAO-B* [9], и мемапсин 2 ( $\beta$ -секретаза), заслужан за цепање протеина  $\beta$ -амилоида [6], као и да спречавају агрегацију токсичног  $A\beta(1-42)$  [10]. Поред широког спектра биолошке активности коју показују деривати *THIQ*, прекурсори *THIQ* представљају важне ендogene аminer у мозгу указујући на чињеницу да могу бити потенцијално корисни у развоју лекова за третман различитих поремећаја централног нервног система [7].

#### Литературни подаци који подржавају тему:

- [1] Mendez, M.F.: Early-onset Alzheimer's Disease: Nonamnestic Subtypes and Type 2 AD. Arch Med Res. 43, 677–685 (2012). <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2012.11.009>
- [2] Du, X., Wang, X., Geng, M.: Alzheimer's Disease Hypothesis and Related Therapies. Transl Neurodegener. 7, 2 (2018). <https://doi.org/10.1186/s40035-018-0107-y>
- [3] Jin, Q.-H., Zhang, L.-P., Zhang, S.-S., Zhuang, D.-N., Zhang, C.-Y., Zheng, Z.-J., Guan, L.-P.: (S)-N-Benzyl-1-phenyl-3,4-dihydroisoquinoline-2(1H)-carboxamide Derivatives, Multi-Target Inhibitors of Monoamine Oxidase and Cholinesterase: Design, Synthesis, and Biological Activity. Molecules. 28, 1654 (2023). <https://doi.org/10.3390/molecules28041654>
- [4] Colovic, M.B., Krstic, D.Z., Lazarevic-Pasti, T.D., Bondzic, A.M., Vasic, V.M.: Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. Curr Neuropharmacol. 11, 315–335 (2013). <https://doi.org/10.2174/1570159X11311030006>
- [5] Gholami, A.: Alzheimer's disease: The Role of Proteins in Formation, Mechanisms, and New Therapeutic Approaches. Neurosci Lett. 817, 137532 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2023.137532>
- [6] Fang, Y., Zhou, H., Gu, Q., Xu, J.: Synthesis and Evaluation of Tetrahydroisoquinoline-benzimidazole Hybrids as Multifunctional Agents for the Treatment of Alzheimer's Disease. Eur J Med Chem. 167, 133–145 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.02.008>
- [7] Singh, I.P., Shah, P.: Tetrahydroisoquinolines in Therapeutics: A Patent Review (2010-2015). Expert Opin Ther Pat. 27, 17–36 (2017). <https://doi.org/10.1080/13543776.2017.1236084>

[8] Sang, Z., Wang, K., Han, X., Cao, M., Tan, Z., & Liu, W.: Design, Synthesis, and Evaluation of Novel Ferulic Acid Derivatives as Multi-Target-directed Ligands for The Treatment of Alzheimer's Disease. ACS Chem. Neurosci. 10, 1008-1024 (2018). <https://doi.org/10.1021/acscemneuro.8b00530>

[9] Thangeswaran, D., Shamsuddin, S., Balakrishnan, V.: A Comprehensive Review on the Progress and Challenges of Tetrahydroisoquinoline Derivatives as a Promising Therapeutic Agent to Treat Alzheimer's Disease. Heliyon. 10, e30788 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e30788>

[10] Chen, Y., Su, C., Wang, L., Qin, J., Wei, S., Tang, H.: Hybrids of Oxoisoporphine–Tetrahydroisoquinoline: Novel Multi-Target Inhibitors of Inflammation and Amyloid- $\beta$  Aggregation in Alzheimer's Disease. Mol Divers. 23, 709–722 (2019). <https://doi.org/10.1007/s11030-018-9905-5>

## 6. ОЧЕКИВАНИ РЕЗУЛТАТИ И НАУЧНИ ДОПРИНОС

Научни допринос ове докторске дисертације се огледа у дизајну *N*-арил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолинских деривата који ће показивати потенцијал за истовремени утицај на више потенцијалних терапеутских мета повезаних са Алцхајмеровом болешћу. Такође резултати добијени у оквиру ове тезе могу отворити нове истраживачке правце у развоју лекова на бази деривата *N*-арил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолина. Развој *N*-арил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолина са тзв. „мултитаргет“ ефектом за терапију Алцхајмерове болести може значајно унапредити третман ове сложене неуродегенеративне болести, нудећи нови приступ који може бити ефикаснији и имати мање нежељених ефеката у поређењу са тренутним терапијама. Ово може бити од великог значаја јер може успорити прогресију болести, побољшати когнитивне функције и повећати квалитет живота пацијентима са Алцхајмеровом болешћу.

Прелиминарни резултати у испитивању инхибиторне активности према холинергичким ензимима су показали да одређени синтетисани деривати *N*-арил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолина испољавају висок инхибициони потенцијал према наведеним ензимима. Такође, теоријски прорачуни у софтверском алату *SwissADME* су дали увид о физичкохемијским својствима, фармакокинетици и сличности са већ постојећим лековима, где су се одређена једињења показала као потенцијални лекови у третману Алцхајмерове болести због испуњавања два важна захтева, поседовања оптималне липофилности и способности да прођу кроз крвно-мождану баријеру. За једињење које је показало највећи терапеутски потенцијал, експериментално је потврђено да може да прође кроз крвно-мождану баријеру и да поседује липофилност у оптималном опсегу за лекове који се користе у терапији неуродегенеративних болести. Из прелиминарних резултата добијено је једињење које може послужити као основна структура за развој нових једињења са терапеутским потенцијалом за Алцхајмерову болест.

## Г. Закључак и предлог комисије

На основу изложеног, као и успешно одбрањеног специјалног курса, закључујемо да је предложена тема актуелна, да су одабране истраживачке методе одговарајуће и доступне, као и да је кандидат својим досадашњим радом и резултатима показао склоност и

способност за научно-истраживачки рад у области Физичка хемија - биофизичка хемија. Комисија сматра да је предложена тема научно заснована и предлаже Наставно-научном већу Факултета за физичку хемију да се кандидату Дуњи Јовановић, мастер физикохемичару, студенту докторских академских студија, одобри израда докторске тезе под насловом који је Комисија у односу на предложени наслов: „Испитивање нових деривата тетра hidroизохинолина са истовременим деловањем на више потенцијалних терапеутских мета повезаних са Алцхајмеровом болешћу“, кориговала у:

**„Синтеза и *in vitro* испитивање дејства нових деривата тетра hidroизохинолина на више потенцијалних терапеутских мета повезаних са Алцхајмеровом болешћу“.**

За менторе се предлажу др Ана Поповић Бијелић, ванредни професор, Универзитет у Београду - Факултет за физичку хемију и др Александра Бонцић, виши научни сарадник, Институт за нуклеарне науке „Винча“, Универзитет у Београду.

---

др Јасмина Димитрић Марковић, редовни професор  
Универзитет у Београду - Факултет за физичку хемију

---

др Ана Поповић Бијелић, ванредни професор  
Универзитет у Београду - Факултет за физичку хемију

---

др Александра Бонцић, виши научни сарадник  
Универзитет у Београду - Институт за нуклеарне науке „Винча“  
Институт од националног значаја за Републику Србију

У Београду, 06.06.2024. године