

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

Презиме, име једног
родитеља и име Коларевић (Нинослав) Ана

Датум и место рођења 02.04.1989. Ниш

Република Србија - Универзитет у Нишу
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ У НИШУ

Примљено:	15.03.2019.
Број:	06
Б.в.б.:	2987

Основне студије

Универзитет Универзитет у Нишу

Факултет Медицински факултет

Студијски програм Интегрисане академске студије фармације

Звање Магистар фармације

Година уписа 2008

Година завршетка 2013

Просечна оцена 9,81

Мастер студије, магистарске студије

Универзитет

Факултет

Студијски програм

Звање

Година уписа

Година завршетка

Просечна оцена

Научна област

Наслов завршног рада

Докторске студије

Универзитет Универзитет у Нишу

Факултет Медицински факултет

Студијски програм Докторске академске студије – фармацеутске науке

Година уписа 2013

Остварен број ЕСПБ бодова 146

Просечна оцена 10,00

НАСЛОВ ТЕМЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Наслов теме докторске дисертације Инхибиција дезоксирибонуклеазе I дериватима тиазолидина, бензимидазола, 4H-хромена и 5,6,7,8-тетрахидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидина у *in vitro* условима

Inhibition of Deoxyribonuclease I by the Derivatives of Thiazolidine, Benzimidazole, 4H-Chromene and 5,6,7,8-Tetrahydrobenzo[4,5]thieno[2,3-d]pyrimidine in *In Vitro* Conditions

Име и презиме ментора,
звање Андрија Шмелцеровић, ванредни професор

Број и датум добијања
сагласности за тему докторске дисертације НСВ број 8/19-01-005/18-041
06.07.2018. год.

ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Број страна 130

Број поглавља 7

Број слика (шема, графикона) 81 слика, 10 шема

Број табела	29	
Број прилога	0	
ПРИКАЗ НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КАНДИДАТА који садрже резултате истраживања у оквиру докторске дисертације		
Р. бр.	Аутор-и, наслов, часопис, година, број волумена, странице	Категорија
1	<p>Mavrova ATs, Dimov S, Yancheva D, Kolarević A, Ilić BS, Kocić G, Šmelcerović A. Synthesis and DNase I inhibitory properties of some 5,6,7,8-tetrahydrobenzo[4,5]thieno[2,3-<i>d</i>]pyrimidines. <i>Bioorg Chem</i> 2018; 80: 693-705.</p> <p>У овом раду је синтетисана серија од дванаест тиено[2,3-<i>d</i>]пиримидин-4-аминских који су затим коришћени као прекурсори за синтезу осам нових тиено[2,3-<i>d</i>]пиримидин-4-фталимида. Међу њима су осам једињења инхибирала говеђу панкреасну ДНазу I са IC₅₀ вредностима мањим од 200 μM, и уједно се показала ефикаснијом од референтног инхибитора кристал виолета. Три фталимидна деривата су се показала бољим инхибиторима ДНазе I у односу на своје аминске прекурсоре. 2-(2-(4-Нитробензил)-5,6,7,8-тетрахидробензо[4,5]тиено[2,3-<i>d</i>]пиримидин-4-ил)изоиндолин-1,3-дион, као најактивније једињење (IC₅₀ = 106 ± 16 μM), представља добру основу за дизајн нових инхибитора ДНазе I. Применом молекулског <i>docking</i>-а дефинисане су интеракције тиено[2,3-<i>d</i>]пиримидина са најзначајнијим каталитичким остацима ДНазе I.</p>	M21
2	<p>Kolarevic A, Yancheva D, Kocić G, Smelcerovic A. Deoxyribonuclease inhibitors. <i>Eur J Med Chem</i> 2014; 88: 101-111.</p> <p>Дезоксирибонуклеаза (ДНазе) представљају класу ензима који катализују хидролизу ДНК и имају важну улогу у нормалном функционисању ћелија, док инхибитори ДНаза контролишу или модификују њихову активност. У овом раду је дат преглед инхибитора ДНаза, како природних, тако и синтетских. Инхибитори ДНаза се разликују по хемијској структури, механизму деловања и специфичности за одређени тип ДНазе. Извршено је и предвиђање физичко-хемијских особина инхибитора ДНаза помоћу компјутерске апликације <i>Molinspiration</i>. Резултати указују да већина њих испуњава све критеријуме за добру растворљивост и пермеабилност. Инхибитори ДНаза могу имати потенцијалну примену у превенцији, праћењу и лечењу различитих болести.</p>	M21
3	<p>Kolarević A, Ilić BS, Kocić G, Džambaski Z, Šmelcerović A, Bondžić BP. Synthesis and DNase I inhibitory properties of some 4-thiazolidinone derivatives. <i>J Cell Biochem</i> 2019; 120: 264-274.</p> <p>У овом раду је испитивана инхибиторна активност 53 деривата тиазолидинона према ДНази I у <i>in vitro</i> условима. Десет једињења су инхибирала комерцијалну ДНазу I са IC₅₀ вредностима испод 200 μM и показала се бољим инхибиторима ДНазе I у односу на кристал виолет (IC₅₀ = 365,90 ± 47,33 μM) који је коришћен као позитивна контрола. Три једињења су била активна и против ДНазе I у хомогенату јетре пацова (IC₅₀ мања од 200 μM), а показала су и повољне физичко-хемијске, фармакокинетичке и токсиколошке карактеристике. Применом молекулског <i>docking</i>-а дефинисане су интеракције тиазолидинона са најважнијим каталитичким остацима ДНазе I.</p>	M22
4	<p>Kolarević A, Ilić BS, Anastassova N, Mavrova ATs, Yancheva D, Kocić G, Šmelcerović A. Benzimidazoles as novel deoxyribonuclease I inhibitors. <i>J Cell Biochem</i> 2018; 119: 8937-8948.</p> <p>Испитиван је инхибиторни потенцијал 19 бензимидазола према говеђој панкреасној ДНази I у <i>in vitro</i> условима. Три једињења су инхибирала ДНазу I са IC₅₀ вредностима испод 100 μM и показала се бољим инхибиторима ДНазе I од референтног инхибитора кристал виолета (IC₅₀ = 351,82 ± 29,41 μM). 2-(Бензо[<i>a</i>][1,3]диоксол-5-илметил)-7-бензоилбензо[4,5]имидазо[2,1-<i>b</i>]тиазол-3(2<i>H</i>)-он је показао најснажнију инхибицију ДНазе I (IC₅₀ = 79,46 ± 11,75 μM). Генерисани су и потврђени модели <i>Pharma/E-State R-group</i> квантитативне структуре-активности (<i>RQSAR</i>) помоћу <i>Schrödinger Suite</i>-а. Применом молекулског <i>docking</i>-а дефинисане су интеракције бензимидазола са најважнијим каталитичким остацима ДНазе I. Спроведена је и симулација молекуларне динамике за <i>docking</i> комплекс ДНазе I и најактивнијег једињења у <i>Desmond-y</i>.</p>	M22
5	<p>Ilić B, Kolarević A, Kocić G, Šmelcerović A. Ascorbic acid as DNase I inhibitor in prevention of male infertility. <i>Biochem Biophys Res Commun</i> 2018; 498: 1073-1077.</p> <p>Фрагментација ДНК у ћелијама сперме изазвана апоптозом или деловањем реактивних врста кисеоника (<i>ROS</i>) може допринети развоју мушке неплодности. Као познати антиоксидант, аскорбинска киселина спречава производњу <i>ROS</i>-а штитећи ћелије сперме од оштећења ДНК. Наши резултати показују да аскорбинска киселина има способност инхибиције ДНазе I, једне од главних ендонуклеаза одговорних за фрагментацију ДНК током апоптозе. Применом <i>Site Finder</i>-а и молекулског <i>docking</i>-а дефинисане су интеракције аскорбинске киселине са најважнијим остацима ДНазе I. Као дериват фурана, аскорбинска киселина се може сматрати пиониром супстратних инхибитора ДНазе I. Наши резултати указују на могући комбиновани механизам спречавања мушке неплодности помоћу аскорбинске киселине.</p>	M22
6	<p>Kolarević A, Kocić G, Yancheva D, Šmelcerović A. <i>In silico</i> pharmacokinetic and toxicological study of DNase inhibitors. <i>Acta Med Median</i> 2016; 55: 5-13.</p> <p>Дезоксирибонуклеаза (ДНазе) су ензими који катализују хидролизу ДНК и имају значајну улогу у нормалном ћелијском функционисању, док су инхибитори ДНаза супстанце које контролишу или модификују ове процесе. Коришћењем компјутерских програма <i>admetSAR</i>, <i>Toxtree</i> и <i>OSIRIS Property Explorer</i> испитиване су и упоређиване фармакокинетичке и токсиколошке особине неких природних и синтетских инхибитора ДНаза. На крају су селектовани они инхибитори ДНаза који имају најповољнији токсиколошки и фармакокинетички профил.</p>	M51
ИСПУЊЕНОСТ УСЛОВА ЗА ОДБРАНУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ		
Кандидат испуњава услове за оцену и одбрану докторске дисертације који су предвиђени Законом о високом образовању, Статутом Универзитета и Статутом Факултета.		<input type="checkbox"/> ДА <input type="checkbox"/> НЕ
Увидом у приложену документацију Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације је констатовала да магистар фармације Ана Коларевић испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању, Статутом Универзитета у Нишу и Статутом Медицинског факултета у Нишу за оцену и одбрану докторске дисертације под		

називом „Инхибиција дезоксирибонуклеазе I дериватима тиазолидина, бензимидазола, 4H-хромена и 5,6,7,8-тетрахидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидина у *in vitro* условима“. Из области докторске дисертације публиковала је пет радова категорије M20 (од којих су три ауторска) и један рад у часопису националног значаја.

ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Кратак опис појединих делова дисертације (до 500 речи)

Детаљном анализом докторске дисертације магистра фармације Ане Коларевић, Комисија је закључила следеће:

1. Докторска дисертација је написана на српском језику. Стил и изглед докторске дисертације у потпуности одговарају упутству за обликовање, објављивање и достављање докторских дисертација Универзитета у Нишу.
2. Насловна страна, упоредна насловна страна, страна са информацијама о ментору и дисертацији на српском и енглеском језику, израђене су у складу са датим упутством.
3. Резиме је написан на српском и енглеском језику и у потпуности одговара садржају докторске дисертације.
4. У уводу и теоријском делу докторске дисертације указано је на значај инхибиције ДНазе I, а дат је и детаљан преглед већ познатих инхибитора ДНазе I.
5. Циљеви научног рада су јасно и прецизно дефинисани.
6. Материјали и методе прецизно описују поступке коришћене у истраживању. Детаљно је описана метода испитивања инхибиције комерцијалне ДНазе I у *in vitro* условима, метода одређивања кинетике инхибиције ДНазе I, *docking* студије интеракција испитиваних једињења са ДНазом I, као и *in silico* методе за предвиђање физичко-хемијских, биофармацеутских, фармакокинетичких и токсиколошких особина инхибитора ДНазе I.
7. Резултати прате постављене циљеве рада. Приказани су резултати добијени испитивањем инхибиције говеђе панкреасне ДНазе I дериватима тиазолидина, бензимидазола, 4H-хромена и 5,6,7,8-тетрахидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидина у *in vitro* условима, као и резултати спроведених *in silico* студија. Резултати показују да 23, од 91 испитиваних, једињења инхибирају ДНазу I са IC_{50} вредностима мањим од 200 μM . Испитивана једињења су се показала ефикаснијим инхибиторима ДНазе I у односу на кристал виолет ($IC_{50} > 300 \mu M$) који је коришћен као позитивна контрола. На основу Лајнвивер-Беркових дијаграма утврђено је да неки од најефикаснијих инхибитора ДНазе I показују неконкурентан тип инхибиције. Међумолекулске интеракције испитиваних једињења са најзначајнијим каталитичким остацима ДНазе I предвиђене су методом молекулског *docking*-а. За велики број испитиваних деривата тиазолидина, бензимидазола, 4H-хромена и 5,6,7,8-тетрахидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидина који су инхибирани ДНазу I са IC_{50} вредностима мањим од 200 μM предвиђене су, применом *in silico* метода, повољне физичко-хемијске, биофармацеутске, фармакокинетичке и токсиколошке карактеристике.
8. Дискусија докторске дисертације прати циљеве и резултате рада. Извршена је јасна и детаљна дискусија добијених резултата, као и њихово поређење са резултатима других аутора.
9. Закључци, написани концизно и јасно, указују на значај резултата добијених испитивањем инхибиције ДНазе I дериватима тиазолидина, бензимидазола, 4H-хромена и 5,6,7,8-тетрахидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидина у *in vitro* условима, као и на допринос спроведеног истраживања у области Фармацеутске хемије и Биофармације.
10. Коришћена литература је адекватно презентована.

ВРЕДНОВАЊЕ РЕЗУЛТАТА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ниво остваривања постављених циљева из пријаве докторске дисертације (до 200 речи)

Докторанд Ана Коларевић је у пријави докторске тезе имала постављене следеће циљеве:

- развој методе којом ће се испитивати инхибиција говеђе панкреасне ДНазе I у *in vitro* условима;
- испитивање инхибиције говеђе панкреасне ДНазе I дериватима тиазолидина, бензимидазола, 4H-хромена и 5,6,7,8-тетрахидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидина у *in vitro* условима;
- одређивање физичко-хемијских (партициони коефицијент, поларна површина молекула, молекулска маса, молекулска запремина, број акцептора водоничних веза, број донора водоничних веза, број веза са могућношћу ротације), биофармацеутских (орална биорасположивост, растворљивост, пермеабилност), фармакокинетичких (апсорпција, метаболизам) и токсиколошких особина (мутагеност, туморогеност, ефекти иритације, ефекти на репродуктивни систем, *AMES* токсичност, канцерогеност, акутна орална токсичност, способност ковалентног везивања за протеине и/или ДНК) испитиваних тиазолидина, бензимидазола, 4H-хромена и 5,6,7,8-тетрахидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидина *in silico* методама у циљу стварања комплетније слике о њиховој могућој терапијској примени;
- одређивање кинетике инхибиције за најефикасније инхибиторе ДНазе I.

Анализом текста коначне верзије докторске дисертације, Комисија је потврдила потпуно остваривање свих задатих циљева.

Вредновање значаја и научног доприноса резултата дисертације (до 200 речи)

Иновативност и научни значај ове докторске дисертације огледа се у следећем:

- Први пут су урађена испитивања инхибиције говеђе панкреасне ДНазе I дериватима тиазолидина, бензимидазола, 4H-хромена и 5,6,7,8-тетрахидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидина у *in vitro* условима.
- Деривати тиазолидина, бензимидазола, 4H-хромена и 5,6,7,8-тетрахидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидина који су инхибирани ДНазу I у испитиваним концентрацијама ($IC_{50} < 200 \mu M$) показали су бољи инхибиторни ефекат у односу на референтни инхибитор кристал виолет ($IC_{50} > 300 \mu M$).

- За велики број испитиваних једињења, која су инхибирала ДНазу I са IC₅₀ вредностима мањим од 200 μM, предвиђене су, применом *in silico* метода, повољне физичко-хемијске, биофармацеутске, фармакокинетичке и токсиколошке карактеристике.
- С обзиром на то да не постоји инхибитор ДНазе I дефинисан као „златни стандард“, испитивана једињења која су се показала најефикаснијим инхибиторима ДНазе I могу представљати нове стандарде у будућим испитивањима.
- Испитивани деривати тиазолидина, бензимидазола, 4H-хромена и 5,6,7,8-тетрахидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидина представљају добру основу за дизајн нових, још ефикаснијих, инхибитора ДНазе I који, због значајне улоге ДНазе I у патофизиологији многих болести, могу имати и потенцијалну терапијску примену.

Оцена самосталности научног рада кандидата (до 100 речи)

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације је констатовала да је теза докторске дисертације оригинална и да је докторанд Ана Коларевић самостално урадила дисертацију под стручним надзором ментора проф. др Андрије Шмелцеровића.

ЗАКЉУЧАК (до 100 речи)

Комисија закључује следеће:



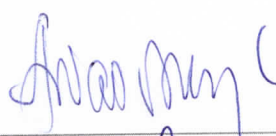
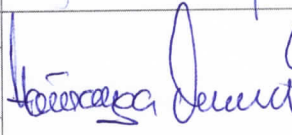
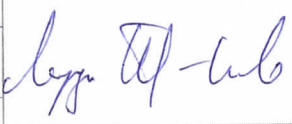
- Дисертација представља оригинални и самостални рад кандидата.
- Написана је у складу са пропозицијама Закона о високом образовању, Статутом Универзитета у Нишу и Статутом Медицинског факултета у Нишу.
- Садржај дисертације одговара називу и у складу је са претходно датим образложењем теме.
- Презентовани и дискутовани резултати су значајни за научну заједницу о чему сведоче публиковани радови (два рада категорије M21, три рада категорије M22 и један рад категорије M51).

На основу претходно наведеног, Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације је једногласно закључила да докторанд Ана Коларевић испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању, Статутом Универзитета у Нишу и Статутом Медицинског факултета у Нишу за оцену и одбрану докторске дисертације и једногласно подноси позитиван извештај за докторску дисертацију под насловом „Инхибиција дезоксирибонуклеазе I дериватима тиазолидина, бензимидазола, 4H-хромена и 5,6,7,8-тетрахидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидина у *in vitro* условима“.

КОМИСИЈА

Број одлуке ННВ о именовању Комисије НСВ број 8/19-01-001/19-004

Датум именовања Комисије 11.02.2019. год.

Р. бр.	Име и презиме, звање		Потпис
1.	Гордана Коцић, редовни професор		
	Медицина - Биохемија	Медицински факултет Универзитета у Нишу	
	(Научна област)	(Установа у којој је запослен)	
2.	Андрија Шмелцеровић, ванредни професор		
	Хемија - Фармацеутска хемија I, II и III	Медицински факултет Универзитета у Нишу	
	(Научна област)	(Установа у којој је запослен)	
3.	Даница Агбаба, редовни професор		
	Фармација - Фармацеутска хемија	Медицински факултет Универзитета у Београду	
	(Научна област)	(Установа у којој је запослен)	
4.	Наташа Милић, редовни професор		
	Фармација - Фармацеутска хемија	Медицински факултет Универзитета у Новом Саду	
	(Научна област)	(Установа у којој је запослен)	
5.	Марија Тасић-Костов, доцент		
	Фармација	Медицински факултет Универзитета у Нишу	
	(Научна област)	(Установа у којој је запослен)	

Датум и место:

15.03.2019, Ниш