

# NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU FARMACEUTSKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU

## Komisiji za poslediplomsku nastavu – doktorske studije

Na sednici Nastavno-naučnog veća Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, održanoj 17.05.2018. godine, imenovana je Komisija za ocenu i odbranu završene doktorske disertacije kandidatkinje magistra farmacije Jelene Srbljanović pod nazivom:

### **„Ispitivanje antimalarijskog potencijala novosintetisanih aminohinolina u *in vitro* i *in vivo* sistemima“**

Komisija u sastavu:

1. Prof. dr Marina Milenković (mentor), redovni profesor, Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet
2. Dr Olgica Đurković-Đaković (mentor), naučni savetnik, Univerzitet u Beogradu, Institut za medicinska istraživanja,
3. Akademik prof. dr Bogdan Šolaja, redovni profesor u penziji, Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet

pregledala je priloženu doktorsku disertaciju i podnosi Nastavno-naučnom veću Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu sledeći

## IZVEŠTAJ

### A. PRIKAZ SADRŽAJA DOKTORSKE DISERTACIJE

Doktorska disertacija pod nazivom: „Ispitivanje antimalarijskog potencijala novosintetisanih aminohinolina u *in vitro* i *in vivo* sistemima“ sastoji se od sedam poglavlja: Uvod, Cilj rada, Materijal i metode, Rezultati, Diskusija, Zaključak i Literatura. Disertacija počinje rezimeom (na srpskom i engleskom jeziku), a završava se kratkom biografijom kandidatkinje i

potpisanim izjavama kandidatkinje o autorstvu, istovetnosti štampane i elektronske verzije i korišćenju doktorske disertacije (obavezni Prilozi 1, 2 i 3).

Doktorska disertacija je napisana fontom Times New Roman (veličina slova 12), prored 1,5 na 119 strana. Disertacija sadrži 36 grafičkih priloga, od čega je 12 slika (2 u Uvodu, 9 u Materijalu i metodama i 1 u Rezultatima), 16 tabela (po 7 u Materijalu i metodama i Rezultatima i 2 u Diskusiji) i 8 grafikona u Rezultatima. Ukupan broj navoda u Literaturi je 182.

U **Uvodu** kandidatkinja ukazuje na globalni značaj malarije kao zdravstvenog problema iznoseći podatke o stopama morbiditeta i mortaliteta i njenoj učestalosti u endemskim i neendemskim zemljama. Ističe se da je kontrola ove parazitske bolesti sve teža i da unapređenje njene terapije ostaje predmet interesovanja naučnika širom Zemljine kugle. Navedena je aktuelna geografska distribucija pet vrsta roda *Plasmodium* koje izazivaju humanu malariju: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* i *P. knowlesi*. U kratkim crtama je opisan način transmisije sa akcentom na biološki vektor, ženke komarca roda *Anopheles*. Sledi detaljan opis životnog ciklusa parazita *Plasmodium* koji pomaže u razumevanju kako kliničke slike ove bolesti, tako i pristupa koji se koriste u terapiji. Posebna pažnja posvećenja je opisu kliničke slike malarije izazvane najvirulentnijom vrstom *P. falciparum*, koju karakterišu najteži klinički tok i najviša stopa smrtnosti. Takođe se ističe osobenost vrsta *P. vivax* i *P. ovale* da izazivaju relapse bolesti, što zahteva poseban terapijski pristup. Ovaj deo Uvoda završava se kratkim osvrtom na dijagnostiku malarije. Fokus je stavljen na značaj upotrebe kvantitativnog PCR-a (qPCR) kao metode koja prevazilazi nedostatke mikroskopije kao zlatnog standarda konvencionalne dijagnostike, naročito u diferencijalnoj dijagnozi pojedinačnih vrsta (razlučivanje *P. ovale* i *P. vivax*, *P. ovale* i *P. malariae*, *P. knowlesi* i *P. malariae*).

Druga uvodna celina posvećena je terapiji malarije. Prvo je dat pregled lekova koji pripadaju različitim klasama antimalarika, pa su tako opisani hinolinski derivati, antifolatni antimalarici, artemizininski derivati i ostali agensi. Za svaki lek navedeni su trenutak uvođenja u terapiju, mehanizam delovanja, indikacije za upotrebu kao i neželjena dejstva. Kandidatkinja posebnu pažnju posvećuje današnjem pristupu terapiji i profilaksi ove bolesti. Akcenat je na kombinovanoj terapiji zasnovanoj na artemizininu koja je trenutno preporučena kao prva linija terapije za malariju izazvanu vrstom *P. falciparum* u svim endemskim zemljama. Zatim su objašnjeni aktuelni problemi u kontroli malarije, koji se uglavnom odnose na razvoj rezistencije

na lekove, kao i na nepostojanje vakcine. Prvo je detaljno hronološki opisan razvoj rezistencije na gotove sve trenutno dostupne antimalarike. Naveden je mehanizam razvoja rezistencije na hlorokvin (CQ), osnovni predstavnik aminohinolina kao najbrojnije klase antimalarika. Sledi deo koje se odnosi na rezistenciju vektora na insekticide. Takođe, kandidatkinja iznosi podatke o trenutnoj situaciji na polju razvoja vakcine protiv malarije. Na kraju Uvoda, opisani su pristupi sintezi novih antimalarika. Ističe se da je osnovni cilj istraživanja koja se sprovede u ovoj oblasti prevazilaženje parazitske rezistencije inovativnim hemijskim modifikacijama, i ukazuje na aktuelnost svakog istraživanja koje će doprineti terapiji malarije.

Osnovni **Cilj** ovog rada bio je pronalaženje novih struktura sa antimalarijskom aktivnošću. Kako je predmet istraživanja bilo 37 novosintetisanih aminohinolina sa modifikacijama na jezgri i bočnom lancu sintetisanih na Hemijskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, uži cilj odnosio se na ispitivanje uticaja izvršenih strukturnih modifikacija na ispoljeni antimalarijski efekat. Zadaci koji su postavljeni da bi se cilj ostvario su uspostavljanje kako *in vitro*, tako i *in vivo* model sistema za održavanje sojeva parazita *Plasmodium*, a potom i samo ispitivanje aktivnosti jedinjenja u tim model sistemima.

Poglavlje **Materijal i metode** sačinjeno je iz četiri celine. Ukratko je opisan eksperimentalni dizajn čitavog istraživanja. U okviru korišćenih materijala dat je opis parazitskih sojeva (*P. falciparum*, *P. berghei*) i eksperimentalnih životinja (ženke miševa soja C57BL/6), kao i ispitivanih novosintetisanih jedinjenja (podela, nomenklatura, struktura, način rastvaranja). U okviru dela o primenjenim metodama detaljno su opisani enzimski test kojim se meri aktivnost laktat dehidrogenaze kao metod za ispitivanje efikasnosti ispitivanih jedinjenja *in vitro*, modifikovan *Thompson*-ov test kao metod za ispitivanje efikasnosti jedinjenja u *in vivo* modelu, kao i mikroskopija tankih krvnih razmaza i molekularna metoda qPCR za dokazivanje prisustva malaričnog parazita odn. njegove DNK. Poglavlje se završava opisom metoda primenjenih za statističku analizu rezultata.

**Rezultati** prate prethodno opisan eksperimentalni protokol i biće detaljno prikazani u sledećem delu ovog Izveštaja.

U okviru **Diskusije** kandidatkinja prvo definiše položaj ovde opisanog istraživanja u okviru dugotrajnog i složenog procesa razvoja novog antimalarika. Sledi analiza rezultata dobijenih ispitivanjem aktivnosti jedinjenja u *in vitro* i *in vivo* modelu, svakom za sebe a zatim i uporedo. Dobijeni rezultati razmotreni su u odnosu na rezultate sličnih publikovanih istraživanja. S obzirom na prirodu istraživanja, posebna pažnja je poklonjena mogućoj daljoj primeni dobijenih rezultata. Diskusija se završava kratkim osvrtom na nedostatke izvedenog istraživanja i neposredne pravce budućih ispitivanja.

Na osnovu detaljne analize rezultata dobijenih u okviru ovog istraživanja izvedeni su **Zaključci** koji su u skladu sa postavljenim ciljevima.

**Literaturu** sačinjavaju 182 navedene reference, među kojima je veliki broj iz najnovije literature (od 2015. do 2018.).

## **B. OPIS POSTIGNUTIH REZULTATA**

Rezultati ovog istraživanja su predstavljeni u okviru dve celine. Prvu celinu čine rezultati ispitivanja efikasnosti ispitivanih novosintetisanih aminohinolina u *in vitro* modelu, koje je obuhvatilo dve faze, fazu skrininga i fazu titracije odabranih jedinjenja do preciznih srednjih vrednosti inhibitornih koncentracija ( $IC_{50}$ ) u odnosu na CQ kao pozitivnu kontrolu. Druga celina obuhvata rezultate ispitivanja u *in vivo* model sistema, pri čemu je prvo obavljeno kliničko praćenje zdravih životinja tretiranih ispitivanim jedinjenjima, a potom je ispitana aktivnost netoksičnih jedinjenja na inficiranim tretiranim životinjama.

Rezultati skrining faze *in vitro* ispitivanja pokazali su da od 37 jedinjenja ispitanih u okviru ovog istraživanja čak 22 inhibira  $\geq 50\%$  rast bar jednog od dva soja *P. falciparum* (3D7 i/ili Dd2), zbog čega su ona bila odabrana za dalju titraciju do  $IC_{50}$  vrednosti. Poređenjem dobijenih  $IC_{50}$  vrednosti sa  $IC_{50}$  vrednostima kontrolnog CQ, 18 jedinjenja se pokazalo aktivnije od kontrole prema rezistentnom soju *P. falciparum*, dok je među njima samo jedno jedinjenje bilo aktivnije i prema osetljivom soju. Po predviđenom dizajnu istraživanja svih ovih 18 jedinjenja trebalo je da budu ispitana u *in vivo* modelu, ali tri jedinjenja (AQ4, CIAQ10, CIAQ12) su bila nedostupna iz tehničkih razloga, tako da je po ovom kriterijumu ostalo 15 jedinjenja za *in vivo* ispitivanja. Međutim, i sva četiri jedinjenja (CIAQ2, FAQ1, FCIAQ1, FCIAQ2) koja su u *in vitro* modelu

pokazala nedovoljnu aktivnost prema oba soja *P. falciparum* uključena su u dalja ispitivanja u *in vivo* model sistemu u cilju provere korelacije antimalarijske aktivnosti jedinjenja dobijene na osnovu ispitivanja u *in vitro* i *in vivo* sistemima, tako da je ukupno 19 jedinjenja je bilo odabrano za ispitivanje u *in vivo* sistemu.

U *in vivo* modelu su jedinjenja prvo administrirana zdravim životinjama i praćen je dalji klinički tok. Od 19 jedinjenja, tri (AQ2, AQ3 i CIAQ6) su isključena kao toksična dok jedno netoksično jedinjenje (AQ5) nije bilo dostupno za dalja ispitivanja. Svih 15 jedinjenja koja su primenjena na inficiranim miševima značajno je produžilo vreme preživljavanja u odnosu na inficirane netretirane (kontrolne) miševе (P<0,05). Aktivnost se međutim razlikovala na nivou pojedinačnih jedinjenja, i kretala se od produženog preživljavanja, preko preživljavanja određenog procenta životinja do samog kraja eksperimenta ali sa rezidualnom parazitacijom (4 jedinjenja), do preživljavanja svih životinja (3 jedinjenja: CIAQ1 i FCIAQ1 (u dozi i od 80 i od 160 mg/kg/dan) i CIAQ8 (u dozi od 160 mg/kg/dan)), uz klirens parazita (što je predstavljalo kriterijume izlječenja) dokazan negativnim mikroskopskim pregledom razmaza, i potvrđen odsustvom nalaza DNK parazita u uzorcima krvi i tkiva jetre preživelih životinja. Ovo je veoma vredan rezultat koji pokazuje ogroman antimalarijski potencijal ispitivane serije aminohinolinskih derivata. Osim ovih rezultata, zapažen je i biološki fenomen da su određena ispitana jedinjenja (CIAQ4, CIAQ5, CIAQ7, CIAQ9, CIAQ11 i FCIAQ1) omogućila miševima da (pre)žive sa izuzetno velikim brojem parazita (59-86%) u razmazu periferne krvi (skoro) tokom čitavog eksperimenta.

Uporedna analiza rezultata dobijenih ispitivanjem aktivnosti jedinjenja u dva model sistema pokazala je diskrepancu među njihovim rezultatima koja je ilustrovana na dva primera. Sva četiri jedinjenja sa lošijom *in vitro* aktivnošću prema oba soja *P. falciparum* u odnosu na CQ u *in vivo* sistemu pokazala su se kao veoma efikasna na miševima, štaviše među njima je bilo i jedno od tri najaktivnija jedinjenja (FCIAQ1); ovaj nalaz ukazuje na to da je u pitanju aktivnost ne samih jedinjenja već njihovih metabolita. Diskrepanca ovog tipa ali obrnutog smera pokazana je i na primeru jedinog jedinjenja, AQ1, koje se u *in vitro* sistemu na oba ispitivana soja pokazalo kao aktivnije od CQ, dok je u *in vivo* sistemu samo produžilo vreme preživljavanja.

### C. UPOREDNA ANALIZA REZULTATA SA PODACIMA IZ LITERATURE

Napori da se pronađu nove strukture sa antimalarijskom aktivnošću predstavljaju kontinuirani izazov kako za farmaceutsku industriju tako i za istraživače. Brojne studije zasnivaju se na ispitivanju antimalarijskog potencijala derivata aminohinolina, jer se pokazalo da hemijskom modifikacijom ove strukture mogu nastati novi potentniji derivati (Šolaja i sar., 2008; Manohar i sar., 2012; Sáenz i sar., 2012; Tukulula i sar., 2013). Shodno tome, ispitivanje potencijalne antimalarijske aktivnosti grupe novosintetisanih aminohinolina sa inovativnim hemijskim modifikacijama na jezgru i bočnom lancu predstavlja aktuelno istraživanje čiji rezultati predstavljaju značajan naučni doprinos dosadašnjim saznanjima u oblasti hemioterapije malarije.

Ispitivanje aktivnosti jedinjenja u *in vitro* uslovima pokazalo je da sva aktivna jedinjenja kao zajedničku strukturu imaju 4-aminohinolin što potvrđuje literaturne navode da antimalarijska aktivnost aminohinolina potiče upravo od ovog prstena (O'Neill i sar., 1998; O'Neill i sar., 2006). Takođe je pokazano da su svi aminohinolini sa benzotiofenom i tiofenom u bočnom lancu bili aktivniji od CQ prema soju rezistentnom na CQ. Ovaj rezultat je u saglasnosti sa istraživanjem Yearick i sar. koji su na osnovu rezultata ispitivanja antimalarijskog potencijala grupe novosintetisanih 7-hlor-4-aminohinolina sa modifikovanim bočnim lancem u *in vitro* sistemu zaključili da upravo ovaj vid modifikacije treba izvesti u cilju prevazilaženja rezistencije koju parazit ispoljava prema jedinjenjima koja kao metu imaju njegovu hranljivu vakuolu (Yearick i sar., 2008). Veliki procenat jedinjenja aktivnijih prema rezistentnom soju *P. falciparum* u odnosu na kontrolni CQ (80% jedinjenja efikasnih u skrining fazi) predstavlja najvredniji *in vitro* rezultat ovog istraživanja, jer je ova karakteristika upravo ono čemu danas teže istraživačke grupe širom sveta (Sparatore i sar., 2005; Khan i sar., 2009; Opsenica i sar., 2011; Sinha M i sar., 2014; Kondaparla i sar., 2016).

Međutim, suštinsku vrednost ove doktorske disertacije čine rezultati dobijeni ispitivanjem aktivnosti jedinjenja u *in vivo* sistemu, jer kakav god bio efekat u *in vitro* model sistemu suštinski je značajna efikasnost u animalnom modelu infekcije. Sva jedinjenja odabrana za ovu fazu istraživanja značajno su produžila život inficiranih životinja u odnosu na kontrolnu grupu što ukazuje na to da ispitivana grupa jedinjenja poseduje izuzetan antimalarijski potencijal. Vrlo je važan rezultat da svih sedam aminohinolina koji su se istakli po svojoj aktivnosti time što su kao učinak imali produženo preživljavanje 20-100% tretiranih životinja do samog kraja eksperimenta

(dan 31) kao zajedničku strukturu imaju 4-aminohinolinski prsten supstituisan atomom hlora na poziciji C(7). Ovim nalazom su potvrđeni literaturni podaci koji naglašavaju značaj postojanja supstituenta upravo na ovoj poziciji u molekulu 4-aminohinolina (De i sar., 1998, Kaschula i sar., 2002; Hwang i sar., 2011). Među pomenutih sedam jedinjenja, najaktivnija su bila dva adamantanska i jedan benzotiofenski derivat, koja su u određenim eksperimentalnim dozama dovela do izlečenja svih životinja, pa se tako skreće pažnja na adamantan i benzotiofen kao farmakofore čije uvođenje u bočni lanac aminohinolina pospešuje njihovu aktivnost. Na osnovu praćenja razvoja parazitemije u pojedinačnim životinjama tokom trajanja eksperimenta uočeno je da šest jedinjenja omogućava preživljavanje miševa sa nalazom parazita u perifernoj krvi do čak 86%, što upućuje na to da ta jedinjenja utiču na patogenost parazita *P. berghei*. Primena molekularnih metoda radi verifikacije odsustva parazitemije kod miševa koji su preživeli čitav tok eksperimenta predstavlja metodološko unapređenje u odnosu na slične studije jer pregledom dosadašnje literature nije uočeno da je ovakva potvrda rađena.

Na kraju, treba se osvrnuti i na originalni metodološki pristup primenjen u ovoj disertaciji. Većina istraživačkih grupa vodi se standardnim principom da se samo jedinjenja koja su se ispitivanjem u *in vitro* sistemu pokazala najaktivnijim ispitaju i u *in vivo* modelima (Yeo i sar., 2017; Singh S i sar., 2016; Ongarora i sar., 2015; Birrell i sar., 2003; Sparatore, 2008). U okviru ove doktorske disertacije pri odabiru jedinjenja za ispitivanje u *in vivo* sistemu primenjen je nestandardni pristup, tako da su u eksperimente na životinjama bila uključena i (sva) četiri jedinjenja koja nisu bila aktivnija od kontrolnog ni prema jednom od dva ispitivana soja *P. falciparum*. Ovakav pristup omogućio je da bude uočen terapijski potencijal koji bi bio propušten u slučaju konvencionalnog pristupa. Među četiri pomenuta derivata čak tri su bila jedinjenja sa fluorom na poziciji C(3) aminohinolinskog prstena. Njihovim isključivanjem iz daljeg rada izostao bi svaki podatak o efektu fluoro derivata u *in vivo* sistemu koji su od izuzetne vrednosti, jer u literaturi još nije opisana antimalarijska aktivnost serije aminohinolina sa atomom fluora na ovoj poziciji. Takođe, bio bi izgubljen i jedan od najvrednijih rezultata ovog istraživanja jer se upravo među fluoro derivatima našlo jedno od tri jedinjenja koja su dovela do izlečenja svih eksperimentalnih životinja. Na osnovu ovakvog rezultata može se pretpostaviti da su za antimalarijsku aktivnost ovih jedinjenja odgovorni njihovi metaboliti pre nego ona sama, što ukazuje i na potencijalni pravac daljeg rada.

## Literatura

- Birrell GW, Chavchich M, Ager AL, Shieh HM, Heffernan GD, Zhao W, et al. (2003). JPC-2997, a new aminomethylphenol with high *in vitro* and *in vivo* antimalarial activities against blood stages of *Plasmodium*. *Wien Klin Wochenschr*, 115 Suppl 3, 23-7.
- De D, Krogstad FM, Byers LD, Krogstad DJ (1998): Structure–activity relationships for antiplasmodial activity among 7-substituted 4-aminoquinolines. *J Med Chem*, 41(25): 4918-26.
- Hwang JY, Kawasuji T, Lowes DJ, Clark JA, Connelly MC, Zhu F, et al. (2011): Synthesis and evaluation of 7-substituted 4-aminoquinoline analogs for antimalarial activity. *J Med Chem*, 54(20): 7084–93.
- Kaschula CH, Egan TJ, Hunter R, Basilico N, Parapini S, Taramelli D, et al. (2002): Structure–activity relationships in 4-aminoquinoline antiplasmodials. The role of the group at the 7-Position. *J Med Chem*, 45(16): 3531-9.
- Khan MOF, Levi MS, Tekwani BL, Khan SI, Kimura E, Borne RF (2009): Synthesis and antimalarial activities of cyclen 4-aminoquinoline analogs. *Antimicrob Agents Chemother*, 53(4): 1320–4.
- Kondaparla S, Soni A, Manhas A, Srivastava K, Puri SK, Katti SB (2016): Antimalarial activity of novel 4-aminoquinolines active against drug resistant strains. *Bioorg Chem*, 70: 74-85.
- Manohar S, Rajesh UC, Khan SI, Tekwani BL, Rawat DS (2012): Novel 4-aminoquinoline-pyrimidine based hybrids with improved *in vitro* and *in vivo* antimalarial activity. *ACS Med Chem Lett*, 3(7): 555-9.
- Ongarora DSB, Strydom N, Wicht K, Njoroge M, Wiesner L, Egan TJ, Wittlin S i sar. (2015): Antimalarial benzoheterocyclic 4-aminoquinolines: Structure-activity relationship, *in vivo* evaluation, mechanistic and bioactivation studies. *Bioorg Med Chem*, 23(17): 5419-32.
- O'Neill PM, Bray PG, Hawley SR, Ward SA, Park KB (1998): 4 - aminoquinolines - past, present, and future: a chemical perspective. *Pharmacol Ther*, 77(1): 29-58.
- O'Neill PM, Ward SA, Berry NG, Jeyadevan JP, Biagini GA, Asadollaly E, et al. (2006): A medicinal chemistry perspective on 4-aminoquinoline antimalarial drugs. *Curr Top Med Chem*, 6(5): 479-507.



- Opsenica I, Burnett JC, Gussio R, Opsenica D, Todorović N, Lanteri CA, et al. (2011): A chemotype that inhibits three unrelated pathogenic targets: the botulinum neurotoxin serotype a light chain, *P. falciparum* malaria, and the *Ebola* filovirus. *J Med Chem*, 54(5): 1157-69.
- Sáenz FE, Mutka T, Udenze K, Oduola AMJ, Kyle DE (2012): Novel 4-aminoquinoline analogs highly active against the blood and sexual stages of *Plasmodium* *in vivo* and *in vitro*. *Antimicrob Agents Chemother*, 56(9): 4685-92.
- Singh S, Agarwal D, Sharma K, Sharma M, Nielsen MA, Alifrangis M, et al. (2016). 4-Aminoquinoline derivatives: Synthesis, *in vitro* and *in vivo* antiplasmodial activity against chloroquine-resistant parasites. *Eur J Med Chem*, 122: 394-407.
- Sinha M, Dola VR, Agarwal P, Srivastava K, Haq W, Puri SK, Katti SB (2014). Antiplasmodial activity of new 4-aminoquinoline derivatives against chloroquine resistant strain. *Bioorg Med Chem Lett*, 22(14): 3573-86.
- Sparatore A, Basilico N, Parapini S, Romeo S, Novelli F, Sparatore F, Taramelli D (2005). 4-Aminoquinoline quinolizidinyl- and quinolizidinylalkyl-derivatives with antimalarial activity. *Bioorg Med Chem*, 13(18): 5338-45.
- Sparatore A, Basilico N, Casagrande M, Parapini S, Taramelli D, Brun R, et al. (2008). Antimalarial activity of novel pyrrolizidinyl derivatives of 4-aminoquinoline. *Bioorganic Med Chem Lett*, 18(13): 3737-40.
- Šolaja BA, Opsenica D, Smith KS, Milhous WK, Terzić N, Opsenica I, et al. (2008): Novel 4-aminoquinolines active against chloroquine-resistant and sensitive *P. falciparum* strains that also inhibit botulinum serotype A. *J Med Chem*, 51(15): 4388-91.
- Tukulula M, Njoroge M, Abay ET, Mugumbate GC, Wiesner L, Taylor D, et al. (2013): Synthesis and *in vitro* and *in vivo* pharmacological evaluation of new 4-aminoquinoline-based compounds. *ACS Med Chem Lett*, 4(12): 1198-202.
- Yearick K, Ekoue-Kovi K, Iwaniuk DP, Natarajan JK, Alumasa J, de Dios AC, et al. (2008): Overcoming drug resistance to heme-targeted antimalarials by systematic side chain variation of 7-chloro-4-aminoquinolines. *J Med Chem*, 51(7): 1995-8.
- Yeo SJ, Liu DX, Kim HS, Park H (2017): Anti-malarial effect of novel chloroquine derivatives as agents for the treatment of malaria. *Malar J*, 16(1): 80.

## D. OBJAVLJENI REZULTATI KOJI ČINE DEO DISERTACIJE

Rezultati dobijeni u okviru ove doktorske disertacije objavljeni su u jednom časopisu izuzetnih vrednosti (kat. M21a) i dva vrhunska međunarodna časopisa kategorije (M21) i saopšteni na četiri naučna skupova, od čega tri međunarodna.

Posebno treba naglasiti da je za svoj rad „*The antimalarial potential of novel aminoquinolines enhanced by adamantane as a carrier*“ saopšten na Evropskom kongresu parazitologije (*European Multicolloquium of Parasitology (EMOP) XII*), održanom 2016. god. u Finskoj, Jelena Srbljanović nagrađena Nagradom za mlade istraživače (*Young Scientist Award*), kao jedan od svega dva dobitnika ove prestižne nagrade Evropske federacije parazitologa (*EFP*) koja se dodeljuje jednom u četiri godine.

Takođe, Jelena je i prvi autor rada publikovanom u IJAA, za koji je nagrađena godišnjom nagradom za najbolji rad mladog istraživača „Dr Vera i dr Dušan Kentera“ za 2017. godinu matične kuće Instituta za medicinska istraživanja Univerziteta u Beogradu, kao i godišnjom nagradom za naučnoistraživački rad Društva parazitologa Srbije za 2017. godinu.

Podaci o publikovanim radovima dati su u nastavku:

### Rad u međunarodnom časopisu izuzetnih vrednosti (M21a)

- Terzić N, Konstantinović J, Tot M, Burojević J, Djurković-Djaković O, **Srbljanović J**, Štajner T, Verbić T, Zlatović M, Machado M, Albuquerque SI, Prudêncio M, Sciotti JR, Alessandro DS, Taramelli D, Šolaja BA (2015). Re-investigation of old pharmacophores: Are aminoquinolines and tetraoxanes potential two-stage antimalarials? *J Med Chem* 59 (1): 264-281. (M21a, IF 2015 5,589, rang 3/59).

### Radovi u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21)

- **Srbljanović J**, Štajner T, Konstantinović J, Terzić-Jovanović N, Uzelac A, Bobić B, Šolaja BA, Djurković-Djaković O (2017). Examination of the antimalarial potential of experimental aminoquinolines: poor *in vitro* effect does not preclude *in vivo* efficacy. *Int J Antimicrob Ag* 50 (3): 461-466. (M21, IF 2016 4,307, rang 14/84).

- Konstantinović J, Videnović M, **Srbljanović J**, Djurković-Djaković O, Bogojević K, Sciotti R, Šolaja BA (2017). Antimalarials with benzothiophene moieties as aminoquinoline partners. *Molecules* 22: 343. (M21, IF 2016 2,861, rang 17/59).

#### **Radovi saopšteni na skupu međunarodnog značaja štampani u izvodu (M34)**

- **Srbljanović J**, Bobić B, Štajner T, Uzelac A, Konstantinović J, Terzić-Jovanović N, Opsenica I, Šolaja BA, Djurković-Djaković O (2018). Novel antimalarials: aminoquinolines affording murine survival with huge levels of parasitemia. FEMS-supported Symposium „Emerging infections“, 6th Congress of Macedonian Microbiologists with international participation, Ohrid, Macedonia, 30.05-02.06., Abstract Book p. 60.
- **Srbljanović J**, Štajner T, Konstantinović J, Terzić-Jovanović N, Uzelac A, Bobić B, Šolaja BA, Djurković-Djaković O (2017). The antimalarial potential of novel aminoquinolines. 51<sup>th</sup> Days of Preventive Medicine. Niš, Serbia, 26.-29.09., Abstract Book p. 15.
- **Srbljanović J**. (2016). The antimalarial potential of novel aminoquinolines enhanced by adamantane as a carrier. The 12th European Multicolloquium of Parasitology. Turku, Finland, 20-24.07., eAbstract book, O2.10.pdf (oral presentation: O2.10). *EFP Young Scientist Award*

#### **Radovi saopšteni na skupu nacionalnog značaja štampani u izvodu (M64)**

- **Srbljanović J**, Marković M, Slavić K, Bobić B, Štajner T, Opsenica I, Šolaja BA, Djurković-Djaković O (2015). Assessment of the antimalarial potential of novel quinoline derivatives. Belgrade International Molecular Life Science Conference for Students, Belgrade, Serbia, 15-18.01., Abstract book, p. 35.

## E. ZAKLJUČAK I OBRAZLOŽENJE NAUČNOG DOPRINOSA DISERTACIJE

S obzirom na značaj malarije kao zdravstvenog problema i manjkavosti postojeće terapije ovog parazitskog oboljenja, istraživanja novih hemijskih struktura sa potencijalnim antimalarijskim efektom predstavljaju važan naučni doprinos.

Originalnost naučnog doprinosa ove doktorske disertacije ogleda se u dobijenim saznanjima koja su u svakom smislu inovativna u oblasti hemioterapije malarije jer predstavljaju rezultat ispitivanja antimalarijske aktivnosti jedinjenja sintetisanih *de novo*. Čitava grupa jedinjenja pokazala je izuzetnu antimalarijsku aktivnost, što govori u prilog nastavku rada na ispitivanju aminohinolina sa inovativnim hemijskim modifikacijama. Uočena je bolja aktivnost velikog broja jedinjenja prema rezistentnom soju *P. falciparum*, što je jedan od osnovnih zahteva za savremene antimalarike. Jezgro 7-hlor-4-aminohinolina pokazalo se kao neophodno za antimalarijski efekat, dok su se adamantan i benzotiofen istakli kao strukture čije uvođenje u bočni pospešuje aktivnost. Biološki fenomen visoke parazitemije ukazao je na uticaj primenjenih jedinjenja na patogenost parazita *P. berghei*, a pokazana diskrepanca rezultata dobijenih ispitivanjem u *in vitro* i *in vivo* model sistemima možda ukazuje na to da su za aktivnost ovih jedinjenja odgovorni njihovi metaboliti.

Podaci dobijeni u toku izrade ove doktorske disertacije predstavljaju dragocena saznanja na polju razvoja novih antimalarika koja su značajna sama za sebe, ali i predstavljaju polaznu osnovu za dalje strukturne modifikacije aminohinolina.

## F. PREDLOG KOMISIJE ZA OCENU ZAVRŠENE DOKTORSKE DISERTACIJE

Doktorska disertacija pod naslovom: „**Ispitivanje antimalarijskog potencijala novosintetisanih aminohinolina u *in vitro* i *in vivo* sistemima**“ kandidatkinje magistra farmacije Jelene Srbljanović po svom sadržaju i obliku ispunjava sve kriterijume adekvatno napisanog naučnog dela. Rezultati prikazani u ovoj doktorskoj disertaciji predstavljaju originalan i značajan naučni doprinos oblasti Farmaceutске mikrobiologije.

Komisija u navedenom sastavu predlaže Nastavno-naučnom veću Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati pozitivan izveštaj o napisanoj doktorskoj disertaciji kandidatkinje magistra farmacije Jelene Srbljanović i odobri njenu javnu odbranu po dobijanju saglasnosti Veća naučnih oblasti medicinskih nauka Univerziteta u Beogradu.

Beograd, 06.07.2018.

**Članovi komisije:**

---

Prof. dr Marina Milenković (mentor), redovni profesor  
Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet

---

Dr Olgica Đurković-Đaković (mentor), naučni savetnik  
Univerzitet u Beogradu, Institut za medicinska istraživanja

---

Akademik prof. dr Bogdan Šolaja, redovni profesor u penziji  
Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet