

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ – ФАРМАЦЕУТСКОГ ФАКУЛТЕТА

КОМИСИЈИ ЗА ПОСЛЕДИПЛОМСКЕ СТУДИЈЕ – ДОКТОРСКЕ АКАДЕМСКЕ
СТУДИЈЕ

ПРЕДМЕТ: ИЗВЕШТАЈ КОМИСИЈЕ ЗА ОЦЕНУ И ОДБРАНУ ЗАВРШЕНЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Одлуком Наставно-научног већа Универзитета у Београду – Фармацеутског факултета, број 01.бр.1458/2, донетој на седници одржаној 18.6.2026. године, именована је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата Милана Ј. Јовановића, магистра фармације, под називом „Хеминформатичка анализа, дизајн и испитивање инхибитора липидних и протеин киназа као потенцијално нових антинеопластика“, у следећем саставу:

1. Др сц. Бранка Ивковић, ванредни професор, Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет (ужа научна област: Фармацеутска медицинска хемија) (Председник Комисије)
2. Др сц. Мара Алексић, редовни професор, Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет (ужа научна област: Физичка хемија)
3. Др сц. Славица Ољачић, ванредни професор, Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет (ужа научна област: Фармацеутска медицинска хемија)
4. Др сц. Марија Поповић Николић, виши научни сарадник, Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет (ужа научна област: Фармација - Фармацеутска хемија)
5. Др сц. Бранислав Станковић, виши научни сарадник, Универзитет у Београду – Институт за нуклеарне науке „Винча“ (ужа научна област: Физичка хемија)

Ментори докторске дисертације су др сц. Катарина Николић, редовни професор, Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет (ужа научна област: Фармацеутска медицинска хемија) и др сц. Милкица Цревар, ванредни професор, Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет (ужа научна област: Фармацеутска медицинска хемија)

Комисија у наведеном саставу прегледала је докторску дисертацију и сачинила Извештај у складу са чланом 23. Правилника о докторским академским студијама Универзитета у Београду – Фармацеутског факултета који подноси Наставно-научном већу.

1. ОСНОВНИ ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ И ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Кандидат: Милан Ј. Јовановић

Тренутно стручно/академско звање кандидата: магистар фармације

Установа: Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет

Наслов докторске дисертације: „Хеминформатичка анализа, дизајн и испитивање инхибитора липидних и протеин киназа као потенцијално нових антинеопластика”

Научна област: Фармација

Ужа научна област: Фармацеутска медицинска хемија

Достављена електронска верзија дисертације садржи 223 стране. Основни текст дисертације организован је у седам поглавља: 1. Увод, 2. Циљ истраживања, 3. Експериментални део, 4. Резултати и дискусија, 5. Закључак, 6. Литература и 7. Прилози. Према нумерацији у тексту, дисертација садржи 48 слика/графичких приказа, 24 табеле и 520 библиографских јединица.

На почетку дисертације налазе се насловне стране на српском и енглеском језику, подаци о менторима и члановима Комисије, захвалница, сажетак на српском и енглеском језику, листа скраћеница и садржај, док се у завршном делу налазе прилози, биографија аутора и изјаве кандидата о ауторству, истоветности штампане и електронске верзије и коришћењу докторске дисертације.

2. ПРЕДМЕТ И ЦИЉЕВИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Предмет докторске дисертације је интегрисано експериментално и хеминформатичко испитивање одабраних инхибитора липидних и протеин киназа, као и структурно сродних једињења, са циљем бољег разумевања њихових молекулских особина, односа структуре и активности, као и различитих фармакокинетичких и токсиколошких особина. Истраживање обухвата процену пасивне пермеабилности инхибитора киназа кроз модел крвно-мождане баријере, електрохемијску карактеризацију ерлотиниба и његовог потенцијала за интеракцију са ДНК, као и рационални дизајн нових потенцијално селективних инхибитора *PI3K α* изоформе (енгл. *phosphatidylinositol 3-kinase alpha isoform*) применом савремених *CADD* (енгл. *Computer-Aided Drug Design*) метода.

Основни циљ докторске дисертације био је да се кроз повезивање експерименталних техника и рачунарских метода дефинишу структурни фактори који утичу на пермеабилност, редокс понашање, потенцијал интеракције са ДНК, активност и селективност киназних инхибитора. На тај начин дисертација обједињује анализу већ познатих представника циљане антитуморске терапије и дизајн нових једињења усмерених ка *PI3K α* као релевантном циљном месту дејства у развоју нових антинеопластика.

Специфични циљеви истраживања обухватали су:

- испитивање пасивне пермеабилности одабраних киназних инхибитора и експерименталних структурно сродних једињења кроз *in vitro* модел крвно-мождане баријере применом *PAMPA* (енг. *Parallel Artificial Membrane Permeability Assay*) теста;
- формирање, поређење, валидацију и интерпретацију *QSPR* (енгл. *Quantitative Structure-Property Relationship*) модела за предвиђање пермеабилности, уз примену *MLR* (енгл. *Multiple Linear Regression*), *ANN* (енгл. *Artificial Neural Network*) и *SVR* (енгл. *Support Vector Regression*) приступа;
- електрохемијску карактеризацију ерлотиниба на електроди од стакластог угљеника применом *CV* (енгл. *Cyclic Voltammetry*), *DPV* (енгл. *Differential Pulse Voltammetry*) и *SWV* (енгл. *Square-Wave Voltammetry*) техника;
- испитивање интеракције ерлотиниба са ДНК применом електрохемијског ДНК-биосензора, као и упоредну *in silico* анализу начина везивања ерлотиниба са ДНК применом молекулског докинга и молекулске динамике;
- развој и примену протокола за моделовање *PI3K* инхибитора селективних за α изоформу - молекулску динамику, ансамбл докинг и *3D-QSAR* (енгл. *Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationship*) анализу за *PI3K α* , *PI3K β* , *PI3K γ* и *PI3K δ* изоформи;
- дефинисање структурних смерница за дизајн нових потенцијално селективних *PI3K α* инхибитора, *in silico* процену њихове активности и селективности за *PI3K α* , као и додатну *in silico* процену њихових физичко-хемијских, фармакокинетичких и токсиколошких особина.

3. ПРИКАЗ САДРЖАЈА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Структура докторске дисертације омогућава праћење истраживачког тока од теоријске основе о улози липидних и протеин киназа у малигним болестима, преко експерименталног и рачунарског испитивања одабраних киназних инхибитора, до рационалног дизајна селективних *PI3K* инхибитора.

Поглавље „Увод” даје свеобухватан преглед малигнух тумора, структуре и класификације протеин киназа, улоге липидних киназа и *PI3K* сигналног пута, као и значаја *PI3K* инхибитора у терапији малигнух тумора. Посебна пажња посвећена је *PI3K* селективним инхибиторима, изазовима постизања изоформне селективности и значају оптимизације фармакокинетичког и токсиколошког профила. У наставку увода приказане су методе рачунарског дизајна лекова засноване на структури циљног места и структури лиганда, укључујући хомологно моделовање, молекулски докинг, молекулску динамику, виртуелни скрининг, *QSAR/QSPR* анализе, машинско учење и дефинисање домена применљивости развијених модела. У завршном делу увода обрађени су терапијски потенцијал и изазови проласка киназних инхибитора кроз крвно-мождану баријеру, као и могућност интеракције киназних инхибитора са ДНК и њихово електрохемијско испитивање.

Поглавље „Циљ истраживања” дефинише основни циљ рада и специфичне задатке који су распоређени у три истраживачке целине: *PAMPA*-КМБ/*QSPR* анализу пермеабилности, електрохемијско и *in silico* испитивање ерлотиниба и његове интеракције са ДНК, као и *CADD* студију усмерену на дизајн и селекцију потенцијално селективних *PI3K* инхибитора.

Поглавље „Експериментални део” обухвата опис коришћених стандарда, хемикалија, опреме и рачунарских програма, као и методолошке протоколе за све експерименталне и рачунарске поступке. У првом делу описани су *PAMPA*-КМБ тест, *HPLC* (енгл. *High-Performance Liquid Chromatography*) анализа резултата, припрема скупа података, израчунавање молекулских дескриптора, развој *MLR*, *ANN* и *SVR QSPR* модела, њихова валидација и дефинисање домена применљивости. У другом делу приказани су поступци волтаметријских испитивања, припрема ДНК-биосензора, као и протоколи молекулског докинга и молекулске динамике за испитивање интеракције ерлотиниба са ДНК. У трећем делу описани су поступци припреме сетова података, хомологног моделовања, молекулске динамике, ансамбл докинга, *3D-QSAR* моделовања заснованог на *PLS* (енгл. *Partial Least Squares*) методологији, *LDA-SBVS* (енгл. *Linear Discriminant Analysis-Structure-Based Virtual Screening*) виртуелног скрининга, процене *ADMET* (енгл. *Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion and Toxicity*) особина и додатне примене *PAMPA-SVR* модела на новодизајнирана и једињења добијена виртуелним скринингом, као и структурне анализе са циљем процене могућег редокс понашања и примене волтаметријских испитивања дизајнираних једињења.

Поглавље „Резултати и дискусија” подељено је на три тематски повезане целине. Прва целина обухвата резултате *PAMPA*-КМБ *QSPR* студије, укључујући експерименталне вредности пермеабилности кроз КМБ, формирање и интерпретацију

QSPR модела и поређење са доступним литературним и фармакокинетичким подацима. Друга целина приказује резултате електрохемијске студије ерлотиниба, анализу оксидоредукционих процеса, испитивање интеракције са ДНК и рачунарску процену могућих начина везивања. Трећа целина посвећена је *PI3K* дизајн студији, од хомологног моделовања *PI3K*β изоформе, молекулске динамике и валидације докинг протокола, преко развоја *3D-QSAR* модела за *PI3K*α, *PI3K*β, *PI3K*γ и *PI3K*δ изоформе, до дефинисања структурних смерница, дизајна нових једињења применом *scaffold hopping* методе, виртуелног скрининга, анализе хемијског простора и процене *ADMET* особина, укључујући примену *PAMPA*-КМБ *QSPR* модела, као и структурне анализе уз процену могућег редокс понашања и потенцијалну корелацију са волтаметријским испитивањем дизајнираних једињења. У оквиру резултата су предложени најбољи кандидати за даља истраживања.

Поглавље „Закључак” систематично сумира најважније резултате и научне доприносе дисертације. Закључци су формулисани у складу са постављеним циљевима и јасно повезују експерименталне налазе, валидацију добијених резултата и структурне смернице за даљи развој киназних инхибитора.

Поглавље „Литература” садржи 520 библиографских јединица, што указује на темељно обрађену релевантну литературу из области фармацеутске-медицинске хемије, *CADD* метода, *QSAR/QSPR* моделовања, *PI3K* инхибитора, испитивања пермеабилности кроз КМБ и електрохемијских метода у фармацеутској анализи.

Поглавље „Прилози” садржи додатне податке које употпуњују резултате из дисертације, укључујући структуре испитиваних једињења, као и њихове експерименталне и предвиђене активности

4. ПРЕГЛЕД РЕЗУЛТАТА ПРЕДСТАВЉЕНИХ У ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

У првој истраживачкој целини испитана је ефективна пермеабилност 34 структурно различита једињења применом *PAMPA*-КМБ теста. Скуп података обухватио је 15 одобрених инхибитора протеин киназа, N-дезметилиматиниб (иматиниб *EP* нечистоћу C), експериментални *ROCK* (енгл. *Rho-Associated Coiled-Coil Containing Protein Kinase*) инхибитор *RKI-1447*, као и структурно сродна експериментална једињења која укључују деривате арил-2-аминопиридина, тиазолил-хидразона и селеназолил-хидразона. Овакав избор једињења омогућио је да се испитају различити структурни делови присутни у киназним инхибиторима и сродним једињењима.

На основу експериментално одређених $\log P_e$ вредности, испитивана једињења су класификована у групе ниске, средње и високе пермеабилности. Добијени резултати су показали да се киназни инхибитори међусобно значајно разликују у способности пасивне дифузије кроз мембрански модел КМБ, што је у складу са структурном разноврсношћу ове групе лекова. Поређење *PAMPA* резултата са доступним клиничким и фармакокинетичким подацима указало је да пасивна мембранска пермеабилност представља важан, али не и једини фактор који одређује пролазак лекова у ЦНС, јер на дистрибуцију додатно утичу активни транспорт, везивање за протеине плазме, и метаболизам.

За опис и предвиђање пермеабилности развијени су *QSPR* модели применом *MLR*, *ANN* и *SVR* приступа. *MLR* модел је издвојио четири кључна дескриптора: *CATS2D_09_DA*, *CATS2D_04_AA*, *B04[N-S]* и *F07[C-N]*. Дескриптор *CATS2D_04_AA* имао је најизраженији позитиван допринос $\log P_e$ вредности, док су *B04[N-S]* и *F07[C-N]* такође позитивно корелирали са пасивном пермеабилношћу. Насупрот томе, *CATS2D_09_DA* имао је негативан утицај, што указује да одређени тополошки распоред донорских и акцепторских центара може неповољно утицати на пролаз кроз модел КМБ.

Након поређења статистичких параметара, најпоузданијим моделом оцењен је *QSPR-SVR* модел, са вредностима $R^2 = 0,839$, $Q^2 = 0,648$ и $R^2_{\text{pred}} = 0,777$. Овај модел је задовољио кључне критеријуме интерне и екстерне валидације, а графици одзива указали су на постојање нелинеарних односа између појединих дескриптора и $\log P_e$ вредности. Дефинисање домена применљивости омогућило је процену поузданости предикција и додатно подржало примену модела као алата за прелиминарни избор нових киназних инхибитора са повољним профилем пермеабилности кроз КМБ.

У другој истраживачкој целини ерлотиниб је испитан као представник киназних инхибитора 4-анилинохиназолинског типа, ради процене његовог редокс понашања и потенцијала за интеракцију са ДНК. Електрохемијска карактеризација спроведена је на немодификованој електроди од стакластог угљеника применом цикличне волтаметрије, диференцијално пулсне волтаметрије и волтаметрије правоугаоних таласа. Испитиван је утицај рН вредности, концентрације ерлотиниба и брзине промене потенцијала на положај и интензитет оксидационих и редукционих пикова.

Резултати су показали да су редокс процеси ерлотиниба претежно иреверзибилни. Најизраженији оксидациони процес повезан је са секундарном ароматичном аминок групом, која је на основу експерименталних резултата издвојена као највероватније електроактивно место. Анализа утицаја брзине промене потенцијала указала је да је главни анодни процес претежно контролисан адсорпцијом, док је за поједине редукционе процесе уочен мешовит дифузионо-адсорпциони карактер. Испитивање утицаја рН допринело је разумевању броја протона и електрона укључених у редокс процесе и омогућило претпоставку о могућем механизму оксидационих и редукционих реакција.

Интеракција ерлотиниба са ДНК испитана је применом електрохемијског ДНК-биосензора. Пад струје деоксиаденозинског сигнала у присуству растућих концентрација ерлотиниба указао је на интеракцију овог једињења са ДНК. Израчуната константа везивања износила је $K = 8,25 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, док је мали померај потенцијала пика указао на могућност делимично интеркалационог начина везивања и/или везивања у жлеб ДНК. Ови резултати су допуњени молекулским докинг и молекулском динамиком, који су показали да ерлотиниб може да се веже и интеркалацијом и у мали жлеб ДНК, али да су рачунарски резултати указали на интеркалацију као вероватнији начин стабилног везивања.

Ова целина дисертације има методолошки значај јер повезује класичне електроаналитичке технике, ДНК-биосензор и рачунарске методе у процени потенцијалних интеракција киназних инхибитора са ДНК. Добијени резултати представљају основу за будућа испитивања структурно сродних инхибитора киназа, укључујући дизајниране *PI3K* инхибиторе који садрже хетероцикличне фрагменте и потенцијално електроактивне функционалне групе.

Трећа и најобимнија истраживачка целина посвећена је рационалном дизајну нових потенцијално селективних инхибитора *PI3K*α изоформе. Основни сет испитиваних инхибитора укључивао је једињења из бензоксазепинског и тиазолног кластера, која су коришћена за анализу односа структуре, активности и изоформне селективности. Будући да је процена селективности захтевала испитивање могућег *off-target* везивања *PI3K*α-усмерених инхибитора за *PI3K*β, *PI3K*γ и *PI3K*δ изоформе, у дисертацији су анализирани све четири *PI3K* изоформе класе I. За *PI3K*β изоформу је, услед недоступности одговарајуће хумане кристалографске структуре, израђен хомологни модел на основу кристалне структуре 2Y3A. Валидација хомологног модела и каснија анализа молекулске динамике потврдиле су његову применљивост у даљим докинг и QSAR студијама.

Молекулски докинг је валидиран докинг лиганада из кристалографских структура, при чему су добијене *RMSD* вредности биле ниже од 2 Å за све испитиване *PI3K* изоформе. Након тога су припремљени комплекси референтних лиганада са *PI3K*α, *PI3K*β, *PI3K*γ и *PI3K*δ изоформама, а молекулска динамика је коришћена за избор репрезентативних конформација активног места. Кластери добијени из трајекторија молекулске динамике послужили су за ансамбл докинг, што је омогућило да се у анализу укључи флексибилност активног места и да се добију реалистичније везивне позе лиганада.

На основу одабраних везаних конформација развијени су *3D-QSAR* модели за све четири *PI3K* изоформе. Модели су показали високе вредности параметара интерне и екстерне валидације, са вредностима R^2 у опсегу 0,93–0,96, Q^2 у опсегу 0,77–0,88 и R^2_{pred} у опсегу 0,71–0,75. Додатно су примењене методе валидације као што су *r*-метрика, *CCC* и анализа домена применљивости, што је потврдило статистичку стабилност и поузданост формираних модела. Интерпретација најважнијих *GRIND-2* променљивих формираних модела омогућила је дефинисање кључних структурних карактеристика испитиваних једињења које утичу на активност и селективност на *PI3K α* , као и дизајн селективних *PI3K α* инхибитора.

За *PI3K α* *3D-QSAR* модел идентификовани су повољни доприноси везани за просторни распоред хидрофобних, стерних и водонично-везујућих карактеристика, што је повезано са правилним позиционирањем фрагмената лиганда у зглобном региону, афинитетном цепу и региону у ком се везује модификатор селективности. Посебно значајне интеракције обухватају водоничне везе са *Val851*, *Ser854*, *Thr856* и *Gln859*, као и хидрофобне контакте са остацима *Met772*, *Ile800*, *Tyr836*, *Ile848*, *Val850*, *Met922*, *Phe930* и *Ile932*. Упоредна анализа *PI3K β* , *PI3K γ* и *PI3K δ* модела омогућила је идентификацију карактеристика које треба избегавати ради смањења *off-target* активности и побољшања селективности ка *PI3K α* .

На основу интегрисане анализе *3D-QSAR* модела и молекулског докинга дефинисане су смернице за дизајн нових *PI3K α* инхибитора. У оквиру стратегије *scaffold hopping* и структурних модификација *R*-остатака изабрани су нови структурни фрагменти за везивање у зглобном региону, афинитетном цепу и региону у ком се везује модификатор селективности за *PI3K α* . Дизајнирана су 23 нова једињења, а њихова активност и селективност за *PI3K α* процењене су ансамбл докингом и *3D-QSAR* анализом. Поред тога, спроведен је *LDA-SBVS* виртуелни скрининг *Enamine* библиотеке киназних инхибитора, након чега је осам једињења издвојено као потенцијално активни и селективни *PI3K α* инхибитори.

Додатно су анализирани хемијски простор, физичко-хемијске особине, сложеност синтезе, *ADMET* профил и предвиђена пермеабилност кроз КМБ. *PCA* (енгл. *Principal Component Analysis*) анализа показала је да дизајнирана једињења покривају најшири и најразноврснији хемијски простор у односу на полазне кластере *PI3K* инхибитора, док су *VS* једињења заузимаала делимично издвојен регион. Коначна интегрисана процена, укључујући анализу *ADMET* карактеристика процена довела је до издвајања **D4**, **D5**, **D23** и **VS1** као најперспективнијих *PI3K α* инхибитора и кандидата за даљу оптимизацију.

Применом претходно развијеног *PAMPA-SVR QSPR* модела из прве целине дисертације додатно је процењена пасивна пермеабилност новодизајнираних и *VS* једињења. Водеће једињење **B1** сврстано је у групу једињења средње пермеабилности, док је више дизајнираних једињења показало једнаку или већу предвиђену пермеабилност. Сва испитивана једињења налазила су се у домену применљивости *PAMPA-SVR QSPR* модела, што подржава поузданост добијених предикција и показује вредност интеграције *QSPR* модела пермеабилности са дизајном нових *PI3K α* инхибитора.

5. УПОРЕДНА АНАЛИЗА РЕЗУЛТАТА КАНДИДАТА СА ПОДАЦИМА ИЗ ЛИТЕРАТУРЕ

Резултати докторске дисертације су у значајној мери усклађени са актуелним правцима медицинске хемије киназних инхибитора, у којима се примењују *in silico* методе, анализа односа структуре и активности, молекулско моделовање и рана процена фармакокинетичких особина [1].

У делу који се односи на пермеабилност кроз КМБ, дисертација се надовезује на савремене приступе раног профилисања ЦНС пермеабилности киназних инхибитора, што је у складу са радом *Di* и сар. [2], у коме је *PAMPA*-КМБ приступ представљен као брз модел за процену пасивне дифузије кроз КМБ. Добијени *PAMPA*-КМБ и *QSPR* резултати могу се тумачити у оквиру општих принципа који одређују пролазак једињења кроз КМБ. *Zhang* и сар. [3], *Barn* и сар. [4] и *Wager* и сар. [5] показали су да ЦНС пермеабилност зависи од више међусобно повезаних особина, укључујући липофилност, поларност, молекулску величину, способност формирања водоничних веза, јонизационе карактеристике и тополошке дескрипторе. У односу на наведене опште моделе ЦНС пермеабилности, *PAMPA*-КМБ *QSPR* модели развијени у дисертацији засновани су на скупу структурно разноврсних киназних инхибитора и њима сродних једињења, због чега пружају додатни увид у тополошке и структурне карактеристике значајне за ову групу једињења [6]. Ово је посебно важно јер поларни хетероциклични фрагменти киназних инхибитора често учествују у везивању за активно место ензима, па оптимизација пермеабилности мора бити разматрана заједно са очувањем афинитета и селективности према циљаној кинази.

Део докторске дисертације посвећен електрохемијским испитивањима заснива се на значају електрохемијских метода у испитивању редокс понашања лекова и њихових интеракција са ДНК. *Chiorcea-Paquim* и *Oliveira-Brett* [7], као и *Ramotowska* и сар. [8], приказали су да електрохемијски приступи, укључујући ДНК-биосензоре, могу бити корисни за испитивање интеракција малих молекула са ДНК. Овакав приступ је релевантан и за киназне инхибиторе, јер поједини представници ове групе садрже хетероароматске системе и функционалне групе које могу учествовати у редокс процесима или интеракцијама са ДНК. У том контексту, претходно су испитиване интеракције лапатиниба [9], дасатиниба [10] и сунитиниба [11] са ДНК. Код ерлотиниба, *Bakırhan* и сар. [12] су испитивали његово оксидационо понашање, волтаметријско одређивање и извршили *DFT* (енгл. *Density Functional Theory*) анализу као подршку предложеном механизму оксидације, док су *Chen* и сар. [13] испитивали интеракцију ерлотиниба са ДНК применом спектроскопских метода. У односу на наведене радове, у дисертацији је анализа ерлотиниба проширена повезивањем волтаметријских резултата, електрохемијског ДНК-биосензора, молекулског докинга и молекулске динамике. На тај начин су редокс понашање ерлотиниба, његов потенцијал за интеракцију са ДНК и молекулска основа добијених експерименталних резултата сагледани у оквиру јединственог експериментално-рачунашког приступа [14].

Протокол који је примењен за дизајн селективних *PI3K* инхибитора у складу је са доступним литературним подацима у којим се истиче значај изоформно селективних *PI3Kα* инхибитора који показују антитуморско дејство уз повољнији безбедносни профил. Значај овог приступа потврђују примена клинички одобрених *PI3Kα* инхибитора, као што су алпелисиб [15] и инаволисиб [16], као и других *PI3K* инхибитора који се налазе у различитим фазама клиничких студија. У поређењу са алпелисибом, чија је селективност у литератури описана преко *IC50* вредности, више дизајнираних једињења је показало повољан предвиђени профил селективности ка *PI3Kα* у односу на *PI3Kβ*, *PI3Kγ* и *PI3Kδ* [17]. У поређењу са инаволисибом, за који су у литератури доступне *pK_i* вредности и подаци о израженој селективности ка *PI3Kα*, код дизајнираних једињења предвиђена селективност је била мање наглашена, али је и даље указивала на јасну усмереност ка *PI3Kα* изоформи [18]. Овакво поређење са клинички релевантним *PI3Kα* инхибиторима показује да је примењена стратегија дизајна довела до структурно нових једињења са релевантним селективним профилем, чиме се додатно потврђује иновативност дисертације.

Структурна основа селективности тумачена је у складу са радовима *Frazzetto* и сар. [19] и *Zheng* и сар. [20], који су указали на значај неконзервисаних аминокиселинских остатака у каталитичком цепу *PI3K* изоформи. Значај укључивања флексибилности активног места додатно је подржан резултатима добијеним криоелектронском микроскопијом, који показују да *PI3Kα* може заузимати више конформационих стања [21]. Новије *in silico* студије *PI3Kα* инхибитора комбинују различите методологије са фокусом на моделовање *PI3Kα* инхибиције. *Halder* и сар. [22] су применили фрагментно заснован дизајн, биоизостерну замену, докинг, *MM/GBSA* (енгл. *Molecular Mechanics/Generalized Born Surface Area*), *DFT*, молекулску динамику и *ADMET* анализу. *Dibia* и сар. [23] су комбиновали молекулски докинг и *3D-QSAR* моделовање, док су *Wang* и сар. [24] користили *3D-QSAR*, *ADMET* предвиђања, докинг и молекулску динамику. Ова дисертација примењује свеобухватнији *CADD* протокол који обухвата моделовање све четири изоформе - *PI3Kα*, *PI3Kβ*, *PI3Kγ* и *PI3Kδ*. Исти протокол укључује и хомологно моделовање *PI3Kβ*, молекулску динамику, ансамбл докинг, *3D-QSAR* моделовање *PI3Kα*, *PI3Kβ*, *PI3Kγ* и *PI3Kδ* изоформе, као и виртуелни скрининг и *ADMET* профилисање. На основу тога су дефинисане структурне смернице за очување активности ка *PI3Kα* уз смањење вероватноће неповољног везивања за *PI3Kβ*, *PI3Kγ* и *PI3Kδ* [25].

- [1] Z. Gagic, D. Ruzic, N. Djokovic, T. Djikic, K. Nikolic, In silico Methods for Design of Kinase Inhibitors as Anticancer Drugs, *Front. Chem.* 7 (2020) 501168. <https://doi.org/10.3389/FCHEM.2019.00873/FULL>.
- [2] L. Di, E.H. Kerns, K. Fan, O.J. McConnell, G.T. Carter, High throughput artificial membrane permeability assay for blood-brain barrier, *Eur. J. Med. Chem.* 38 (2003) 223–232. [https://doi.org/10.1016/S0223-5234\(03\)00012-6](https://doi.org/10.1016/S0223-5234(03)00012-6).

- [3] L. Zhang, H. Zhu, T.I. Oprea, A. Golbraikh, A. Tropsha, QSAR modeling of the blood-brain barrier permeability for diverse organic compounds, *Pharm. Res.* 25 (2008) 1902–1914. <https://doi.org/10.1007/S11095-008-9609-0>.
- [4] D. Barn, W. Caulfield, P. Cowley, R. Dickins, W. Iwema Bakker, R. McGuire, J. Richard Morphy, Z. Rankovic, M. Thorn, Design and synthesis of a maximally diverse and druglike screening library using REM resin methodology, *J. Comb. Chem.* 3 (2001) 534–541. <https://doi.org/10.1021/CC000096T>.
- [5] T.T. Wager, X. Hou, P.R. Verhoest, A. Villalobos, Moving beyond rules: The development of a central nervous system multiparameter optimization (CNS MPO) approach to enable alignment of druglike properties, *ACS Chem. Neurosci.* 1 (2010) 435–449. https://doi.org/10.1021/CN100008C/SUPPL_FILE/CN100008C_SI_003.PDF.
- [6] M. Jovanović, M. Radan, M. Čarapić, N. Filipović, K. Nikolic, M. Crevar, Application of parallel artificial membrane permeability assay technique and chemometric modeling for blood–brain barrier permeability prediction of protein kinase inhibitors, *Future Med. Chem.* 16 (2024) 873–885. <https://doi.org/10.4155/FMC-2023-0390>; WEBSITE:WEBSITE:TFOPB;PAGEGROUP:STRING:PUBLICATION.
- [7] V.C. Diculescu, A.M. Chiorcea-Paquim, A.M. Oliveira-Brett, Applications of a DNA-electrochemical biosensor, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 79 (2016) 23–36. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2016.01.019>.
- [8] S. Ramotowska, A. Ciesielska, M. Makowski, What Can Electrochemical Methods Offer in Determining DNA–Drug Interactions?, *Molecules* 2021, Vol. 26, Page 3478 26 (2021) 3478. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26113478>.
- [9] B. Dogan-Topal, B. Bozal-Palabiyik, S.A. Ozkan, B. Uslu, Investigation of anticancer drug lapatinib and its interaction with dsDNA by electrochemical and spectroscopic techniques, *Sens. Actuators B Chem.* 194 (2014) 185–194. <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2013.12.088>.
- [10] Y.J. Luo, B.L. Wang, S.B. Kou, Z.Y. Lin, K.L. Zhou, Y.Y. Lou, J.H. Shi, Assessment on the binding characteristics of dasatinib, a tyrosine kinase inhibitor to calf thymus DNA: insights from multi-spectroscopic methodologies and molecular docking as well as DFT calculation, <https://doi.org/10.1080/07391102.2019.1676824> 38 (2019) 4210–4220.
- [11] E. Kiss, A. Mirzahosseini, Á. Hubert, A. Ambrus, L. Örfi, P. Horváth, DNA binding of sunitinib: Spectroscopic evidence via circular dichroism and nuclear magnetic resonance, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 150 (2018) 355–361. <https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2017.12.004>.
- [12] N.K. Bakirhan, T.T. Tok, S.A. Ozkan, The redox mechanism investigation of non-small cell lung cancer drug: Erlotinib via theoretical and experimental techniques and its host–

- guest detection by B-Cyclodextrin nanoparticles modified glassy carbon electrode, *Sens. Actuators B Chem.* 278 (2019) 172–180. <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2018.09.090>.
- [13] X.J. Chen, B.L. Wang, K.L. Zhou, Y.Y. Lou, S.B. Kou, Z.Y. Lin, J.H. Shi, Characterizing the Binding Interaction between Erlotinib and Calf Thymus DNA In Vitro Using Multi-Spectroscopic Methodologies and Viscosity Measurement Combined with Molecular Docking and DFT Calculation, *ChemistrySelect* 4 (2019) 3774–3781. <https://doi.org/10.1002/SLCT.201900089>.
- [14] M. Jovanović, K. Nikolic, M. Čarapić, M.M. Aleksić, Electrochemical and theoretical study on interaction between erlotinib and DNA, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 234 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2023.115560>.
- [15] T. Wilhoit, PharmD, J. M. Patrick, PharmD, BCOP, M. B. May, PharmD, BCOP, Alpelisib: A Novel Therapy for Patients With PIK3CA-Mutated Metastatic Breast Cancer, *J. Adv. Pract. Oncol.* 11 (2020) 768. <https://doi.org/10.6004/JADPRO.2020.11.7.9>.
- [16] De, S. K., Inavolisib: A Selective Inhibitor of Mutant PI3K α for the Treatment of Breast Cancer, <Http://Www.Xiahepublishing.Com/> 0 (2025) 0–0. <https://doi.org/10.14218/ONA.2025.00012>.
- [17] P. Furet, V. Guagnano, R.A. Fairhurst, P. Imbach-Weese, I. Bruce, M. Knapp, C. Fritsch, F. Blasco, J. Blanz, R. Aichholz, J. Hamon, D. Fabbro, G. Caravatti, Discovery of NVP-BYL719 a potent and selective phosphatidylinositol-3 kinase α inhibitor selected for clinical evaluation, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 23 (2013) 3741–3748. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.05.007>.
- [18] Benzoxazepin oxazolidinone compounds and methods of use, 2016.
- [19] M. Frazzetto, C. Suphioglu, J. Zhu, O. Schmidt-Kittler, I.G. Jennings, S.L. Cranmer, S.P. Jackson, K.W. Kinzler, B. Vogelstein, P.E. Thompson, Dissecting isoform selectivity of PI3K inhibitors: the role of non-conserved residues in the catalytic pocket, *Biochem. J.* 414 (2008) 383–390. <https://doi.org/10.1042/BJ20080512>.
- [20] Z. Zheng, S.I. Amran, P.E. Thompson, I.G. Jennings, Isoform-selective inhibition of phosphoinositide 3-kinase: Identification of a New Region of nonconserved amino acids critical for p110 α inhibition, *Mol. Pharmacol.* 80 (2011) 657–664. <https://doi.org/10.1124/mol.111.072546>.
- [21] X. Liu, S. Yang, J.R. Hart, Y. Xu, X. Zou, H. Zhang, Q. Zhou, T. Xia, Y. Zhang, D. Yang, M.W. Wang, P.K. Vogt, Cryo-EM structures of PI3K α reveal conformational changes during inhibition and activation, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 118 (2021) e2109327118. <https://doi.org/10.1073/PNAS.2109327118>; WEBSITE: WEBSITE: PNAS-SITE; WGROU: STRING: PUBLICATION.
- [22] D. Halder, S. Mukherjee, R.S. Jeyaprakash, Exploring target selectivity in designing and identifying PI3K α inhibitors for triple negative breast cancer with fragment-based and

bioisosteric replacement approach, *Scientific Reports* 2025 15:1 15 (2025) 1890-. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-83030-1>.

- [23] K. Tochukwu Dibia, S. Nneka Van-Dibia, P. Kanwulia Igbokwe, Rational drug design from phosphatidylinositol 3-kinase- α inhibitors through molecular docking and 3D-QSAR methodologies for cancer immunotherapy, *INNOSC Theranostics and Pharmacological Sciences* 7 (2024) 2340. <https://doi.org/10.36922/ITPS.2340>.
- [24] M. Wang, X. Liu, X. Chen, J. Li, R. Liu, L. Zou, W. Yang, Y. He, M. Shu, Design of Novel PI3K α Inhibitors by Combining 3D-QSAR, ADMET Screening, Molecular Docking, and Molecular Dynamics Simulations, *Chemistry Africa* 2025 8:9 8 (2025) 4527–4545. <https://doi.org/10.1007/S42250-025-01398-7>.
- [25] M. Jovanović, T. Djikic-Stojisic, K. Nikolic, A Computational Framework for the Design and Development of Isoform Selective PI3K α inhibitors as Novel Anticancer Agents, (2025). <https://doi.org/10.26434/CHEMRXIV-2025-5KH41-V2>.

6. ОБЈАВЉЕНИ И САОПШТЕНИ РЕЗУЛТАТИ КОЈИ ЧИНЕ ДЕО ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Рад у водећем међународном часопису (M21)

Jovanović, M.; Nikolić, K.; Čarapić, M.; Aleksić, M.M. Electrochemical and Theoretical Study on Interaction between Erlotinib and DNA. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2023, 234, 115560, doi:10.1016/j.jpba.2023.115560.

(M21, *Chemistry, Analytical* (24/87), IF2021 = 3,571)

Jovanović, M.; Radan, M.; Čarapić, M.; Filipović, N.; Nikolić, K.; Crevar, M. Application of Parallel Artificial Membrane Permeability Assay Technique and Chemometric Modeling for Blood–Brain Barrier Permeability Prediction of Protein Kinase Inhibitors. *Future Med. Chem.* 2024, 16, 873–885, doi:10.4155/fmc-2023-0390.

(M21, *Chemistry, Medicinal* (16/63), IF2022 = 4,2)

Рад у националном часопису (M52)

Jovanović, M.; Nikolić, K.; Gagić, Ž.; Agbaba, D. Molecular Modeling and Analysis of the 3D Pharmacophore Structure of the Selective PI3K- α Inhibitors as Antitumor Agents. *Arh. Farm.* 2018, 68, 860–873, doi:10.5937/ArhFarm1804860J.

Саопштења са међународних скупова штампана у целини (M33)

Gagić, Ž.; Jovanović, M.; Agbaba, D.; Nikolić, K. 3D Molecular Pharmacophore Determination of PI3K- α Kinase Inhibitors. *14th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry, Physical Chemistry 2018*, Belgrade, Serbia, September 24–28, 2018, Proceedings, 97–100.

Aleksić, M.; Jovanović, M.; Čarapić, M.; Nikolić, K. Square Wave Voltammetric Method for Erlotinib Determination at DNA Modified Glassy Carbon Electrode. *Physical Chemistry 2024*, E-08-P, 199–202, doi:10.46793/Phys.Chem24I.199A.

Čebzan, A.; Jovanović, M.; Radan, M.; Čarapić, M.; Filipović, N.; Nikolić, K.; Crevar, M. Chemometric Modeling for Blood–Brain–Barrier Permeability Prediction of Protein Kinase Inhibitors. *3rd International Conference on Chemo and BioInformatics, ICCBIKG 2025*, Kragujevac, Serbia, September 25–26, 2025, Book of Proceedings, 666–669, doi:10.46793/ICCBIKG25.664C.

Саопштења са међународних скупова штампана у изводу (M34)

Jovanović, M.J.; Gagić, Ž.P.; Nikolić, K.M. 3D-QSAR Studies and Design of Selective PI3K- α Kinase Inhibitors as Potential Antineoplastics. *Seventh Conference of the Young Chemists of Serbia*, Belgrade, Serbia, November 2, 2019, Book of Abstracts, 125.

Jovanović, M.; Radan, M.; Čarapić, M.; Filipović, N.; Nikolić, K.; Crevar, M. Utilization of Parallel Artificial Membrane Permeability Assay and Chemometric Modeling for Predicting Blood–Brain Barrier Permeability of Protein Kinase Inhibitors for Brain Anticancer Therapy. *2nd Net4Brain Annual Meeting*, Bucharest, Romania, July 2–4, 2025, Book of Abstracts, 83.

Radović, B.; Jovanović, M.; Radan, M.; Đikić, T.; Obradović, D.; Čarapić, M.; Filipović, N.; Crevar, M.; Nikolić, K. Application of PAMPA Technique and *in silico* Blood-Brain Barrier Permeation Prediction of Protein Kinase Inhibitors and Selected CNS Drugs. *29th International Symposium on Separation Sciences, ISSS 2025*, Belgrade, Serbia, September 25–27, 2025, Book of Abstracts, 132.

7. ОБРАЗЛОЖЕЊЕ НАУЧНОГ ДОПРИНОСА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Докторска дисертација кандидата магистра фармације Милана Ј. Јовановића представља оригинално и интердисциплинарно истраживање у области фармацеутске медицинске хемије, усмерено на хеминформатичку анализу, експериментално испитивање и рационални дизајн инхибитора липидних и протеин киназа као потенцијално нових антинеопластика. Рад обједињује експерименталне методе, електроаналитичке технике, ДНК-биосензоре, молекулски докинг, молекулску динамику, *3D-QSAR/QSPR* моделовање, машинско учење, виртуелни скрининг и *ADMET* профилисање, што дисертацији даје јасно мултидисциплинарно обележје.

Научни допринос прве целине огледа се у експерименталном испитивању пасивне пермеабилности великог и структурно разноврсног скупа киназних инхибитора и сродних једињења, као и у развоју валидираног *PAMPA-SVR* модела који се може користити за рану процену пермеабилности нових киназних инхибитора кроз модел КМБ. Анализа дескриптора омогућила је разумевање утицаја тополошког распореда донорских и акцепторских центара, као и специфичних атомских парова, на пасивну пермеабилност.

Научни допринос друге целине огледа се у детаљној електрохемијској карактеризацији ерлотиниба, дефинисању највероватнијег електроактивног места главног оксидационог процеса и процени његове интеракције са ДНК. Комбиновање волтаметријских техника, ДНК-биосензора и рачунарских метода омогућило је да се експериментални резултати тумаче у ширем структурном и механистичком контексту.

Научни допринос треће целине односи се на развој интегрисаног *CADD* протокола за дизајн нових потенцијално селективних *PI3K α* инхибитора. У дисертацији су развијени и валидирани *3D-QSAR* модели за *PI3K α* , *PI3K β* , *PI3K γ* и *PI3K δ* изоформе, дефинисане су структурне детерминанте активности и селективности, дизајнирана су 23 нова једињења, а виртуелним скринингом издвојено је осам потенцијално активних *PI3K α* инхибитора. Интегрисаном проценом предвиђене активности, селективности, *ADMET* особина и пермеабилности издвојена су једињења **D4**, **D5**, **D23** и **VS1** као најперспективнији кандидати за даљу оптимизацију.

Укупно посматрано, дисертација доприноси разумевању односа структуре и дејства киназних инхибитора, као и развоју нових приступа за рачунарски дизајн *PI3K α* инхибитора као циљаних антинеопластика. Добијени резултати имају значај за даља истраживања у области циљане антитуморске терапије, посебно у контексту избора једињења са повољним профилем активности, селективности, пермеабилности и *ADMET* карактеристика.

8. ПРОВЕРА ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

ИЗВЕШТАЈ О ПРОВЕРИ ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

У складу са *Правилником о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду*, и на основу резултата анализе добијених применом софтверског програма *iThenticate*, извршена је провера оригиналности докторске дисертације под називом: **„Хеминформатичка анализа, дизајн и испитивање инхибитора липидних и протеин киназа као потенцијално нових антинеопластика”**, коју је поднео кандидат магистар фармације Милан Јовановић.

Утврђени степен текстуалног подударања износи 5%. Највећа подударност од 1% утврђена је са претходно публикованим радом кандидата који је саставни део докторске дисертације. Остале подударности су последица понављања цитата, имена аутора, библиографских навода коришћене литературе, опште познатих формулација и научних података, као и претходно објављених резултата самог кандидата који су саставни део дисертације. Сви наведени елементи у потпуности су у складу са чланом 9. наведеног Правилника.

На основу свега изнетог, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, изјављујемо да извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Датум

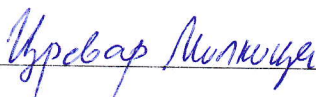
30.06.2026. године

Ментори:



Др сц. Катарина Николић, редовни професор

Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет



Др сц. Милкица Цревар, ванредни професор

Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет

9. ИЗЈАВА МЕНТОРА И КАНДИДАТА ДА ИСТРАЖИВАЊЕ ЗА ПОТРЕБЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ НИЈЕ РАЂЕНО У ЗДРАВСТВЕНОЈ УСТАНОВИ

Изјављујемо да истраживање за потребе израде докторске дисертације под насловом:

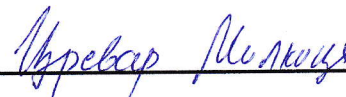
„Хеминформатичка анализа, дизајн и испитивање инхибитора липидних и протеин киназа као потенцијално нових антинеопластика”

није рађено у здравственој установи.

Потписи ментора:



Проф. др Катарина Николић, редовни професор
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет



Проф. др Милкица Цревар, ванредни професор
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет

Потпис кандидата:



Маг.фарм. Милан Јовановић

У Београду, дана 30.6.2026.године

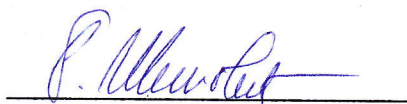
10. ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ ЗА ОЦЕНУ ЗАВРШЕНЕ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

На основу прегледа докторске дисертације, Комисија закључује да је кандидат магистар фармације Милан Ј. Јовановић успешно реализовао постављене циљеве истраживања, применио савремене експерименталне и рачунарске методе и остварио оригиналан научни допринос у области фармацеутске медицинске хемије. Дисертација је написана јасно и прегледно, резултати су систематично приказани и критички дискутовани, а закључци су у складу са добијеним резултатима.

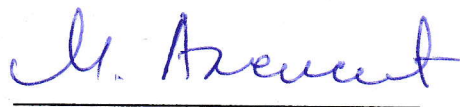
Комисија сматра да докторска дисертација под називом „Хеминформатичка анализа, дизајн и испитивање инхибитора липидних и протеин киназа као потенцијално нових антинеопластика” испуњава услове прописане Законом о високом образовању, Статутом Универзитета у Београду, Статутом Универзитета у Београду – Фармацеутског факултета и Правилником о докторским академским студијама Универзитета у Београду – Фармацеутског факултета.

Комисија предлаже Наставно-научном већу Универзитета у Београду – Фармацеутског факултета да прихвати позитиван Извештај о оцени завршене докторске дисертације и одобри кандидату Милану Ј. Јовановићу јавну одбрану докторске дисертације.

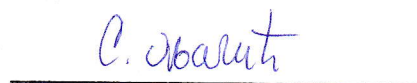
У Београду, 2.7.2026.



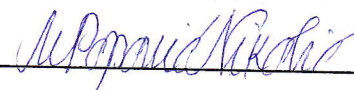
1. Др сц. Бранка Ивковић, ванредни професор
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет



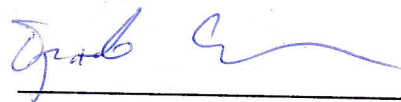
2. Др сц. Мара Алексић, редовни професор
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет



3. Др сц. Славица Ољачић, ванредни професор
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет



4. Др сц. Марија Поповић Николић, виши научни сарадник
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет



5. Др сц. Бранислав Станковић, виши научни сарадник
Институт за нуклеарне науке „Винча”,
Институт од националног значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду