

UNIwersYTET JAGIELLOŃSKI COLLEGIUM MEDICUM



**AKTYWNOŚĆ ANALGETYCZNO-
PRZECIWPALNA NOWYCH
POCHODNYCH KSANTYNY**

Autoreferat

Małgorzata Zygmunt

**Katedra Farmakodynamiki
Zakład Wstępnych Badań Farmakologicznych
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Jagielloński**

Kraków 2015

Spis treści

I.	Imię i nazwisko. Posiadane stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.....	2
II.	Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.....	2
III.	Wskazanie osiągnięcia naukowego wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14.03.2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym	2
	1. Tytuł osiągnięcia naukowego.....	2
	2. Wykaz wybranego monotematycznego cyklu publikacji (autorzy, tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, wskaźnik Impact Factor i punktacja MNiSW)	2
	3. Oświadczenia współautorów monotematycznego cyklu publikacji.....	3
	4. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.....	4
	4.1 WSTĘP.....	4
	4.2 CEL PODJĘTYCH BADAŃ	9
	4.3 ETAPY BADAŃ OBEJMUJĄCYCH HABILITACJĘ.....	9
	4.4 WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA.....	10
	4.5 PODSUMOWANIE WYNIKÓW BADAŃ STANOWIĄCYCH PODSTAWĘ HABILITACJI.....	24
	4.6 PIŚMIENNICTWO.....	26
IV.	Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych	32
	1. Działalność naukowa przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych.....	32
	1.1 Wykaz publikacji w czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym, opublikowanych przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych	33
	2. Działalność naukowa po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych.....	33
	2.1 Publikacje w czasopismach naukowych międzynarodowych i krajowych inne niż przedstawione w punkcie III/2	33
	2.2 Udział w konferencjach naukowych krajowych i międzynarodowych po uzyskaniu tytułu doktora nauk farmaceutycznych.....	36
	2.3 Referaty wygłoszone na konferencjach i seminariach naukowych... 36	36
	2.4 Projekty badawcze prowadzone po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych.....	37
	2.5 Współpraca naukowa krajowa i zagraniczna	39
	3. Nagrody i wyróżnienia	40
	4. Inna aktywność naukowa	40
	5. Działalność dydaktyczna i organizacyjna	41
	6. Aktualnie prowadzone badania i plany naukowe na przyszłość	42

I. Imię i nazwisko. Posiadane stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

Małgorzata Zygmunt

Doktor nauk farmaceutycznych w zakresie farmakologii nadany przez Radę Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego w dniu 20.01.2006 na podstawie rozprawy doktorskiej zatytułowanej „Powinowactwo do receptorów adrenergicznych a aktywność farmakologiczna 7,8-dipodstawionych analogów teofiliny”

II. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

Od grudnia 1995 roku do chwili obecnej jestem zatrudniona w Katedrze Farmakodynamiki Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie; od października 2006 roku na etacie adiunkta

III. Wskazanie osiągnięcia naukowego wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14.03.2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym

1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Osiągnięciem naukowym będącym podstawą habilitacji jest monotematyczny cykl publikacji (9 publikacji) pod wspólną nazwą „Aktywność analgetyczno-przeciwzapalna nowych pochodnych ksantyny”

2. Wykaz wybranego monotematycznego cyklu publikacji (autorzy, tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, wskaźnik Impact Factor i punktacja MNiSW)

[1] Zygmunt M, Żmudzki P, Chłoń-Rzepa G, Sapa J, Pawłowski M: Synthesis and Analgesic Activity of 3,7-dimethylpurine-2,6-dione-1-yl Derivatives of Acetic and Butanoic Acid. **Letters in Drug Design & Discovery**, 2014, 11(10), 1204-1213. (Bentham Science; IF₂₀₁₄ 0.770; MNiSW₂₀₁₄ 15 pkt.)

[2] Zygmunt M, Chłoń-Rzepa G, Sapa J, Pawłowski M: Analgesic Activity of New 8-Methoxy-1,3-dimethyl-2,6-dioxo-purin-7-yl Derivatives with Carboxylic, Ester or Amide Moieties. **Pharmacological Reports**, 2015, 67(1), 9-16. (Elsevier; IF₂₀₁₄ 1.928; MNiSW₂₀₁₄ 25 pkt.)

[3] Chłoń-Rzepa G, Jankowska A, Zygmunt M, Pocięcha K, Wyska E: Synthesis of 8-alkoxy-1,3-dimethyl-2,6-dioxopurin-7-yl-substituted acetohydrazides and butanehydrazides as analgesic and anti-inflammatory agents. **Heterocyclic Communications**, 2015, 21(5), (De Gruyter; IF₂₀₁₄ 0.593; MNiSW₂₀₁₄ 15 pkt.)

[4] Zygmunt M, Chłoń-Rzepa G., Sapa J: Analgesic and Anti-inflammatory Activity of 7-Substituted purine-2,6-diones. **Pharmacological Reports**, 2014, 66(6), 996-1002. (Elsevier; IF₂₀₁₄ 1.928; MNiSW₂₀₁₄ 25 pkt.)

[5] **Zygmunt M**, Chłoń-Rzepa G, Sapa J: The Effect of Serotonin 5-HT_{1A}, 5-HT₂ Receptor Ligands, Ketoprofen And Their Combination In Models of Induced Pain In Mice. **Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research**, 2015, 72(3), 579-585. (Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne; IF₂₀₁₄ 0.737; MNiSW₂₀₁₄ 15 pkt.)

[6] Pytka K, **Zygmunt M**, Filipek B: Pharmacotherapy of Parkinson's disease: Progress or regress ?. **Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej**, 2013, 6, 700-708. (Bentham Science; IF₂₀₁₄ 0.633; MNiSW₂₀₁₄ 15 pkt.)

[7] Drabczyńska A, **Zygmunt M**, Sapa J, Filipek B, Müller C.E, Kieć-Kononowicz K: Antiparkinsonian Effects of Novel Adenosine A_{2A} Receptor Antagonists. **Archiv der Pharmazie Chemistry in Life Sciences**, 2011, 344(1), 20-27. (Wiley - VCH; IF₂₀₁₁ 1.708; MNiSW₂₀₁₁ 20 pkt.)

[8] **Zygmunt M**, Gołombiowska K, Drabczyńska A, Kieć-Kononowicz K, Sapa J: Anti-inflammatory, antioxidant, and antiparkinsonian effects of adenosine A_{2A} receptor antagonists. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 2015, 132, 71–78. (Elsevier; IF₂₀₁₄ 2.781; MNiSW₂₀₁₄ 25 pkt.)

[9] **Zygmunt M**, Sapa J, Drabczyńska A, Karcz T, Müller C.E, Köse M, Latacz G, Schabikowski J, Bednarski M, Kieć-Kononowicz K: Synthesis and analgesic activity of annelated xanthine derivatives in experimental models in rodents. **Archiv der Pharmazie Chemistry in Life Sciences**, 2015, 348, 1-11. (Wiley - VCH; IF₂₀₁₄ 1.531; MNiSW₂₀₁₄ 20 pkt.)

- **Sumaryczny *Impact Factor* monotematycznego cyklu publikacji: 12.609**
- **Sumaryczna ilość punktów MNiSW dla monotematycznego cyklu wybranych publikacji: 175**
- **Średni udział % w publikacjach cyklu monotematycznego: 58.7%**
- ***Indeks Hirscha* dorobku naukowego na dzień 5.10.2015: 7**
- **Łączna ilość cytowań wg bazy ISI Web of Science na dzień 5.10.2015: 153**
- **Łączny *Impact Factor* dorobku naukowego: 55.023**
- **Łączna liczba punktów MNiSW dla całego dorobku naukowego: 674**

W przypadku prac opublikowanych w roku 2015, podano *Impact Factor* oraz punktację MNiSW za rok 2014, ponieważ w dniu złożenia do Centralnej Komisji do Spraw Stopni i Tytułów, wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego nie był jeszcze dostępny *Impact Factor*, ani punktacja MNiSW za rok 2015.

3. Oświadczenia współautorów monotematycznego cyklu publikacji

4. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Przedstawiony do oceny cykl publikacji składa się z dziewięciu prac opublikowanych w latach 2011-2015. Dotyczy on tematu „**Aktywność analgetyczno-przeciwzapalna nowych pochodnych ksantyny**”

We wszystkich tych pracach, oprócz pracy [3] oraz [7], które mają charakter chemiczno-farmakologiczny oraz pracy [6], w której dokonano przeglądu literatury, dotyczącej współczesnej farmakoterapii choroby Parkinsona, jestem pierwszym autorem, jak również autorem korespondencyjnym. Prace te zostały opublikowane w czasopiśmie o zasięgu światowym, a dwie z nich w czasopiśmie polskich. Ich łączny *Impact Factor* wynosi 12.609.

Badania *in vivo* przedstawione w publikacjach zostały wykonane w oparciu o zezwolenie wydane przez I Lokalną Komisję Etyczną ds. Badań na Zwierzętach działającą przy Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie (ZI/863/2013).

4.1 WSTĘP

Według Międzynarodowego Towarzystwa Badań nad Bólem (*International Association for Study of Pain*) ból jest nieprzyjemnym, zmysłowym i emocjonalnym odczuciem towarzyszącym istniejącemu lub zagrażającemu uszkodzeniu tkanki [Dobrogowski 2010]. Leczenie bólu wciąż stanowi nowi poważne wyzwanie dla farmakologów i klinicystów. Farmakoterapia bólu, pomimo wieloletnich badań, nadal nie jest satysfakcjonująca zarówno dla pacjentów jak i lekarzy i nadal stanowi ważny problem terapeutyczny [Sołek-Pastuszka 2015].

Współczesna farmakoterapia bólu obejmuje kilka grup leków przeciwbólowych, spośród których opioidowe leki przeciwbólowe oraz niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) wraz z paracetamolem stanowią podstawę leczenia większości stanów bólowych [Dobrogowski 2010, Khan 2011, Patil 2015]. Pierwsze z nich to leki stosowane w stanach bólowych o większym nasileniu, działające ośrodkowo poprzez mechanizmy receptorowe związane z układem endogennych opioidów [Hirst 2015]. Natomiast druga grupa, to leki stosowane w bólach o niewielkim nasileniu, których działanie przeciwbólowe, przeciwzapalne i przeciwgorączkowe, wynika z hamowania aktywności enzymu – cyklooksygenazy [Dobrogowski 2010, Khan 2011].

Światowa Organizacja Zdrowia uwzględnia również stosowanie leków uzupełniających tzw. koanalgetyków (adjuwantów analgetycznych) - niezwykle zróżnicowanej pod względem farmakologicznym grupy leków, wspomagającej działanie analgetyków, wykorzystywanej w terapii bólu, w skład której wchodzi m.in. leki przeciwpadaczkowe (np. gabapentyna, pregabalina, karbamazepina, klonazepam, kwas walproinowy, tiagabina), przeciwdepresyjne (np. amitryptylina, mianseryna, klomipramina, paroksetyna, doksepina, duloksetyna), bisfosfoniany i niektóre hormony (glikokortykosteroidy, kalcytonina, gestageny), miorelaksanty [Dobrogowski 2010, Harada 2015, Kchan 2011].

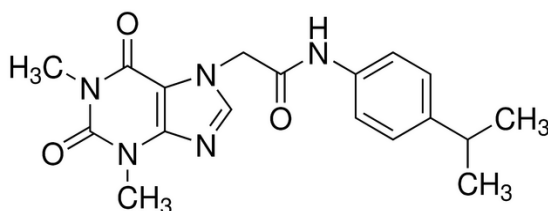
Reakcja bólowa jest objawem towarzyszącym zapaleniu, związana z wydzieleniem bradykininy, prostacykliny oraz prostaglandyn PGE₁, PGE₂ i czynnika aktywującego płytki – PAF [Całkosiński 2009]. Szczególnym rodzajem jest ból neuropatyczny, w którym istotną rolę odgrywają m.in. prozapalne cytokiny — czynnik martwicy nowotworów α (TNF- α , *tumor necrosis factor alpha*) oraz interleukiny 1 i 6 [Dobrogowski 2011].

Pomimo wielu leków stosowanych w farmakoterapii bólu, ich kliniczna skuteczność jest niekiedy niewystarczająca w niektórych stanach bólowych. Szybki rozwój tolerancji ich działania przeciwbólowego, ponadto występujące liczne działania niepożądane, zjawisko lekozależności, skłaniają do poszukiwania nowych leków, ze szczególnym uwzględnieniem innych niż dotychczas mechanizmów działania, co może nie tylko przyczynić się do uzyskania efektywnej analgezji, ale także bezpieczeństwa farmakoterapii stanów bólowych [Dobrogowski 2010, Heim 2015, Liu 2015, Sołek-Pastuszka 2015]. Zrozumienie procesów towarzyszących odczuwaniu bólu umożliwiłoby skuteczniejsze jego łagodzenie, tak ważne dla wielu chorych.

W ostatnich latach wyjaśniono wiele zjawisk oraz mechanizmów odpowiedzialnych za procesy nocycepcji, dzięki czemu możliwa jest terapia zorientowana na mechanizm powstawania bólu [Fasick 2015]. Prowadzone w wielu ośrodkach naukowych badania koncentrują się m.in. na **poszukiwaniu nowych, aktywnych analgetycznie lub/i przeciwzapalnie struktur wpływających na:**

- receptory serotonergiczne 5-HT_{1A}, 5-HT₂ oraz 5-HT₃, które pełnią istotną rolę w hamowaniu reakcji nocyceptywnej (np. AS1069562), [Jesse 2009, Lacitva 2012, Li 2013, Murai 2014, Wang 2013, Valhondo 2013]
- receptory NMDA, AMPA, GABA_A, GABA_B, α_2 -adrenergiczne [Hama 2014]
- receptory adenozynowe A₁, A_{2A}, A_{2B}, A₃ [Constantino 2015, Janes 2014, Janes 2015, Little 2015, Ferrari 2015, Schiedel 2011]
- receptory aktywowane proliferatorami peroksysomów (PPAR) izotyp γ [Paragomi 2014, Quintanilla 2014]
- kanały jonowe: sodowe, wapniowe i potasowe (np. zikonotydy), [Burgess 2010]
- aktywność deacetylazy histonowej [Cosio 2009, Barnes 2013, Morfin 2010].
- wybrane wskaźniki stresu oksydacyjnego (enzymatyczne i nieenzymatyczne mechanizmy antyoksydacyjne – dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza, glutation), [Burgess 2010, Sałat 2013]
- substancje uwrażliwiające receptory zaangażowane w proces nocycepcji (czynnik wzrostu nerwów – NGF; *Nerve Growth Factor* (np. tanezumab-monoklonalne przeciwciało przeciwko NGF) oraz mózgowy czynnik neurotroficzny – BDNF; *Brain derived Neurotrophic Factor*), [Burgess 2010, Mizumura 2015, Tao 2015]
- substancje neuroprzebieżnikowe zaangażowane w procesy obwodowej i ośrodkowej sensytyzacji oraz zjawisko zapalenia neurogenego (aminokwasy pobudzające, aktywne biologicznie neuropeptydy, w tym substancja P i peptyd pochodny genu kalcytoniny – CGRP; Calcitonin Gene-Related Peptide), układy antynocyceptywne (układ endokannabinoidowy – receptory CB₁ i CB₂), [Burgess 2010]

- fosfodiesterazy (PDE), szczególnie izoenzym 4B, który odgrywa kluczową rolę w zapaleniu [Conforti 2008, Huang 2011, Savi 2014].
- poziom TNF- α [Fasick 2015]
- receptory proteaz, tzw. PAR (*Protease-Activated Receptors*), które biorą udział w procesach odczuwania bólu oraz w procesach zapalnych [Fiorucci 2002, Yau 2013]
- kanał jonowy TRPA1 (*Transient Receptor Potential Ankyrin 1*), a dokładnie główny receptor kanałów jonowych układu nocycyptycznego, który może pełnić istotną funkcję w bólu, w stanach zapalnych (np. chorobach zapalnych dróg oddechowych, w tym w astmie), w bólu neuropatycznym [Dubuis 2014, Facchinetti 2010, Moilanen 2012, Nassini 2012, Sałat 2015, Taylor-Clark 2008] i podlega stymulacji niską temperaturą, allicyną, karagenem, formaliną oraz licznymi związkami drażniącymi, jak np. izotiocyjanian allilu (AITC), a dodatkowo w stanach zapalnych aktywują go endogenne mediatory zapalne [Eid 2008, Materazzi 2012], natomiast antagoniści tych kanałów zmniejszają naciekanie leukocytów oraz obniżają cytokiny prozapalne. Selektywny antagonistą tych kanałów, czyli związek HC-030031 (Rycina 1), wykazał istotną aktywność przeciwzapalną (przeciwobrzękową) w obrzęku karageninowym [Moilanen 2012], aktywność przeciwbólową w bólu indukowanym AITC oraz przeciwbólową i przeciwzapalną w teście formalinowym [Eid 2008, McNamara 2007, Taylor-Clark 2008].



Rycina 1. Struktura chemiczna związku HC-030031

Badania prowadzone od kilku lat w Zakładzie Wstępnych Badań Farmakologicznych Wydziału Farmaceutycznego UJ, zmierzają do uzyskania nowych pochodnych ksantyn, w tym teofiliny oraz teobrominy, o bardziej wybiórczym i niejednokrotnie nowym profilu działania farmakologicznego, z równoczesnym ograniczeniem działań niepożądanych [Chłoń 2001, Zagórska 2006, Zygmunt 2014a, Zygmunt 2014b, Zygmunt 2014c, Zygmunt 2015a].

Mając na uwadze fakt, że większość NLPZ to pochodne różnych układów heterocyklicznych lub aromatycznych, charakteryzujące się posiadaniem grupy funkcyjnej o charakterze kwasowym w postaci wolnej grupy karboksylowej lub jej pochodnej estrowej, bądź amidowej, zmodyfikowano macierzystą strukturę teofiliny. Zmiany strukturalne polegały na wprowadzeniu w położenie 7 układu teofiliny, istotnego dla aktywności przeciwzapalnej, ugrupowania o charakterze kwasów karboksylowych, o różnej długości łańcucha alifatycznego oraz ich estrów i amidów. Otrzymano kilka związków, należących do kwasów teofilino-7-karboksylowych: octowego oraz propionowego, jak również ich estrów i amidów. Natomiast w celu zwiększenia lipofilności, w niektórych związkach wprowadzono w położenie 8 grupę metoksyłową. W wyniku tych modyfikacji, w Katedrze Chemii Farmaceutycznej

Wydziału Farmaceutycznego UJ CM, otrzymano pochodne ksantyny, o potencjalnej aktywności antynocyceptywnej, koanalgetycznej i/lub przeciwzapalnej, które strukturalnie są zbliżone do związku HC-030031, oraz pochodne teobrominy o potencjalnym działaniu antynocyceptywnym.

Poszukiwania aktywnych analgetycznie struktur, wśród ligandów receptorów serotonergicznych, doprowadziły również do otrzymania w Katedrze Chemii Farmaceutycznej Wydziału Farmaceutycznego UJ CM, 8-alkoksy-7-fenylopiperazyno-alkilowych pochodnych teofiliny o potencjalnym działaniu antynocyceptywnym, koanalgetycznym i/lub przeciwzapalnym.

Jeden z ważniejszych kierunków badań nad nowymi lekami, dotyczy ich wykorzystania w **profilaktyce chorób, w patogenezie których istotną rolę może odgrywać stan zapalny**. Do chorób takich należą m.in. schorzenia neurodegeneracyjne, np. **choroba Parkinsona** (Parkinson's disease – PD), [Gyoneva 2014, Zhang 2015]. Jedną z hipotez tłumaczących przyczynę tej choroby, wiąże degradację dopaminergicznych neuronów istoty czarnej z procesem zapalnym i towarzyszącym mu stresem oksydacyjnym, czyli wzmożoną produkcją wolnych rodników tlenowych [Bonuccelli 2006, Herrero 2015, Palacios 2014, Zhang 2015, Valera 2015]. Według tej hipotezy, kluczową rolę w inicjacji degradacji istoty czarnej mózgu odgrywa mikroglej [Gyoneva 2014, Fu 2015, Khan 2013]. Stan zapalny może powodować aktywację mikrogleju, polegającą na zwiększeniu produkcji licznych pośredników stanu zapalnego: cytokin (TNF- α , interleukina-1), wolnych rodników, cząstek adhezyjnych, które prowadzą do apoptozy neuronów dopaminergicznych [Fu 2015, Khan 2013]. Aktywacja mikrogleju wiąże się też z nasileniem syntezy tlenu azotu oraz prostaglandyny PGJ2, w której wytwarzaniu uczestniczy cyklooksygenaza-2 (COX-2), [Figueiredo-Pereira 2015]. Zdaniem niektórych badaczy, rola COX-2 w degradacji neuronów istoty czarnej nie ogranicza się do samego dostarczania prozapalnej prostaglandyny PGJ2 [Fu 2015, Khan 2013]. Zmiany te sprzyjają utlenianiu dopaminy do jej pochodnej chinonowej, która wchodzi w reakcję z resztami aminokwasowymi białek (cysteiny, tyrozyny i lizyny), prowadząc do ich nieodwracalnej modyfikacji oraz powodując zmniejszenie komórkowej puli glutationu, przez co dodatkowo pogłębia stres oksydacyjny, powodując obumieranie dopaminergicznych neuronów istoty czarnej [Gao 2012, Gagne 2010]. Ze względu na udział stanu zapalnego oraz COX-2 w patogenezie PD sugeruje się, że NLPZ mogłyby potencjalnie chronić przed tym schorzeniem. Wyniki badań klinicznych wskazują na potencjalne wykorzystanie NLPZ, a zwłaszcza ibuprofenu, w profilaktyce tej neurodegeneracyjnej choroby [Figueiredo-Pereira 2015].

Badania wskazują na wiele jeszcze innych przyczyn (poza stresem oksydacyjnym oraz zapaleniem), degeneracji istoty czarnej mózgu (np. deficyt funkcji mitochondriów, ekscytotoksyczność). Dlatego też poszukiwania aktywnych w PD struktur, koncentrują się na związkach wykazujących jedną lub kilka właściwości [Deeks 2015, Dungo 2013, Lecca 2015, Koch 2013, Müller 2015, Pytka 2013, Park 2012, Saki 2013, Shapira 2011, Shapira 2013, Zhang 2014, Zygmunt 2015b].

Prowadzone obecnie badania naukowe mają na celu **poszukiwanie nowych, aktywnych w PD struktur**:

- wykazujących właściwości przeciwzapalne
- wspomagających funkcję mitochondriów
- nowych inhibitorów monoaminoooksydazy typu B (MAO-B), (np. isradefilina)
- nowych inhibitorów MAO-B, które również hamują uwalnianie glutaminianu (np. safinamid)

- selektywnych antagonistów receptorów glutamatergicznych 5 (mGluR5), (np. AFQ056)
- selektywnych antagonistów receptorów adrenergicznych α_2 (np. fipamezol)
- wpływających na receptory aktywowane proliferatorami peroksydomów (PPAR) izotyp γ
- czynników neurotroficznych (np. PMY50028), które redukują utratę neuronów w substancji czarnej, zwiększają poziom neurotropowego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) i neurotropowego czynnika pochodzącego z linii komórek glejowych (GDNF)
- wektorów wirusowych AAV-2, pochodzących od adenowirusa (adeno-associated virus - AAV), które mogą wprowadzić do odpowiednich komórek nerwowych wiele różnych genów, w tym gen dekarboksylazy glutaminianowej, neurturyny (NTN) czy dekarboksylazy L-aminokwasów aromatycznych

Wiele doniesień wskazuje na istotną rolę receptorów adenozynowych A_{2A} w regulacji czynności ośrodkowego układu ruchowego, dlatego podjęto badania nad selektywnymi antagonistami tych receptorów (np. ZM 241385, CSC, SYN115, MSX-3, preladenant, istradefilina) i ich potencjalnym zastosowaniem w chorobie Parkinsona. Badania wykazały, że za pośrednictwem receptorów adenozynowych A_{2A} dochodzi do antagonistycznej interakcji pomiędzy adenozyną i dopaminą [Müller 2015, Pytka 2013, Park 2012, Saki 2013, Zhang 2014, Zygmunt 2015b, Walt 2013]. Co więcej, wspomniane receptory mogą oddziaływać na wydolność ruchową niezależnie od receptorów D_2 . Wykazano, że aktywacja receptorów A_{2A} u zwierząt powoduje sedację, katalepsję, a także zmniejsza powinowactwo odpowiednich agonistów do receptorów dopaminowych D_2 [Pytka 2013]. Ponadto receptory A_{2A} modulują transmisję GABA-ergiczną w prążkowiu i gałce bladej (aktywacja w prążkowiu hamuje wydzielanie GABA, a w gałce bladej wzmacnia transmisję GABA-ergiczną), [Pytka 2013]. W badaniach przedklinicznych wykazano, że antagoniści receptorów A_{2A} łagodzą objawy PD w różnych modelach zwierzęcych [Pytka 2013, Walt 2013], a podanie ich łącznie z L-DOPA, powoduje wzrost uwalniania dopaminy w prążkowiu. Dowiedziono, że istradefilina zmniejsza pozapiramidowe zaburzenia ruchowe u zwierząt, wywoływane przez MPTP (1-metylo-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropirydyna). Natomiast badania kliniczne wykazały, że podana łącznie z L-DOPA, zwiększa okres półtrwania leku. Ponadto istradefilina hamuje MAO-B [Dungo 2013].

Poszukiwania aktywnych struktur, szczególnie w grupie antagonistów receptorów A_{2A} prowadzone są od wielu lat w Zakładzie Wstępnych Badań Farmakologicznych Wydziału Farmaceutycznego UJ. Doprowadziły one do otrzymania w Katedrze Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych UJ, kilkudziesięciu związków trójpierścieniowych pochodnych ksantyny (pirymidyno-puryno-diony oraz pirazyno-puryno-diony) o spodziewanym działaniu przeciwparkinsonowym i/lub przeciwzapalnym oraz antyoksydacyjnym.

4.2 CEL PODJĘTYCH BADAŃ

Celem badań farmakologicznych, których wyniki stanowią podstawę habilitacji, było **znalezienie nowych pochodnych ksantyny, wykazujących właściwości przeciwbólowe oraz przeciwzapalne i/lub przeciwparkinsonowe**. Ponadto, podjęto próbę ustalenia ich potencjalnego mechanizmu działania.

W oparciu o strukturę chemiczną oraz właściwości farmakologiczne, związki te podzielono na 2 grupy pochodnych:

- **dwu-pierścieniowe pochodne ksantyny**
 - *pochodne teofiliny 7-podstawione*, wykazujące : aktywność antyoksydacyjną w modelach *in vitro*, aktywność antynocycyptywną oraz przeciwzapalną w modelach *in vivo*, zdolność hamowania PDE4B
 - *pochodne teofiliny 7,8-dipodstawione*, wykazujące : aktywność antynocycyptywną oraz przeciwzapalną w modelach *in vivo*, zdolność obniżenia poziomu TNF- α oraz hamowania PDE
 - *pochodne teobrominy*, wykazujące właściwości antynocycyptywne
- **trój-pierścieniowe pochodne ksantyny**, wykazujące : aktywność antyoksydacyjną w modelach *in vitro*, aktywność przeciwzapalną oraz przeciwbólową w modelach *in vivo*, aktywność przeciwparkinsonową i powinowactwo do receptorów adenozynowych A_{2A}

4.3 ETAPY BADAŃ OBEJMUJĄCYCH HABILITACJĘ

Przystępując do badań farmakologicznych ww. pochodnych, dokonano szczegółowego przeglądu literatury, z zakresu nowych właściwości farmakologicznych pochodnych ksantyny. Z piśmiennictwa ostatnich lat wynika, że zainteresowanie grupą ksantyn nie ustaje; pojawiają się coraz liczniejsze doniesienia literaturowe, wskazujące na ich udział w reakcji bólowej oraz zapalnej, w przekąźnictwie serotonergicznym i adenozynowym.

Efektom przeprowadzonego studium literaturowego było napisanie opracowania przeglądowego dotyczącego roli receptorów adenozynowych w chorobie Parkinsona oraz współczesnych możliwości farmakoterapii tej jednostki chorobowej (publikacja [6]).

- **W pierwszym etapie pracy eksperymentalnej, zbadano udział ksantyn w reakcji bólowej oraz w procesie zapalnym. Pojęto próby wyjaśnienia mechanizmu działania badanych związków (receptory adenozynowe i serotonergiczne, mediatory oraz enzymy).**

W tym celu oznaczono aktywność przeciwbólową pochodnych ksantyny, w wybranych modelach bólu u myszy (test przeciągania, test formalinowy, test gorącej płytki), (publikacja [1], [2], [3], [4], [5], [9]), co pozwoliło wybrać najbardziej interesujące struktury do dalszych badań *in vivo* oraz *in vitro*.

Efekty farmakologiczne uzyskane w powyższych testach, stały się inspiracją do oznaczenia aktywności przeciwzapalnej badanych związków (publikacja [3], [4], [8]).

Ocena działania przeciwzapalnego polegała głównie na śledzeniu ingerencji badanego związku na przebieg zapalenia oraz oznaczeniu poziomu mediatorów biorących udział w odczynie zapalnym. Do oceny efektu przeciwzapalnego służył, między innymi, model karageninowy oraz model zapalenia otrzewnej indukowany zymozanem.

Następnym krokiem było wykonanie badań farmakologicznych, mających na celu wyjaśnienie mechanizmu działania badanych związków. W związku z tym oznaczono ich wpływ na:

- aktywność fosfodiesteraz (PDE)- izoenzymu PDE4B
- poziom TNF- α
- aktywność antyoksydacyjną
- powinowactwo do receptorów adenozytowych
- powinowactwo do receptorów serotoninerгіcznych

□ **W ostatnim etapie badań oceniono aktywność przeciwparkinsonową ksantyn**

Badane trój-pierścieniowe pochodne ksantyny, oznaczono w teście rezerpinowym oraz oksotremorynowym, aby stwierdzić ich aktywność przeciwparkinsonową (publikacja [7]). Następnie oznaczono ich powinowactwo do receptorów adenozytowych. Przeprowadzone badania farmakologiczne, pozwoliły wybrać najbardziej interesujące struktury do dalszych badań *in vivo* oraz *in vitro* (publikacja [8] oraz [9]). Dla wyselekcjonowanych pochodnych ksantyn, zbadano aktywność przeciwparkinsonową; w teście katalepsji oraz wpływ na pozakomórkowy poziom dopaminy w prądkowiu u szczura i tkankową zawartość dopaminy i jej metabolitów, tj. DOPAC (kwas dihydroksy-fenylloctowy), HVA (kwas homowanilinowy).

4.4 WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

Na niniejszą rozprawę habilitacyjną składa się cykl publikacji, w którym, zgodnie ze sformułowanym w p. III.4.2 celem, poszukuje się pochodnych ksantyn, wykazujących nowe właściwości farmakologiczne. W związku z tym, można wyróżnić dwa obszary badań:

- poszukiwanie nowych pochodnych ksantyn wykazujących aktywność przeciwbólową oraz przeciwzapalną [1, 2, 3, 4, 5, 8, 9]
- poszukiwanie nowych pochodnych ksantyn wykazujących aktywność przeciwparkinsonową [6, 7, 8]

Poniżej przedstawiono omówienie wyników badań dotyczące poszczególnych wątków badawczych.

Publikacja [1]:

Zygmunt M, Żmudzki P, Chłoń-Rzepa G, Sapa J, Pawłowski M: Synthesis and Analgesic Activity of 3,7-dimethylpurine-2,6-dion-1-yl Derivatives of Acetic and Butanoic Acid. Letters in Drug Design & Discovery, 2014, 11(10), 1204-1213. Impact Factor: 0.770

Praca ta ma charakter chemiczno-farmakologiczny. W części farmakologicznej wykonane przeze mnie w ramach tej pracy badania, polegały na oznaczeniu aktywności antynocyceptywnej (test przeciągania) dla 19 nowych pochodnych teobrominy, oznaczonych symbolem od **Ph 355** do **Ph 374**.

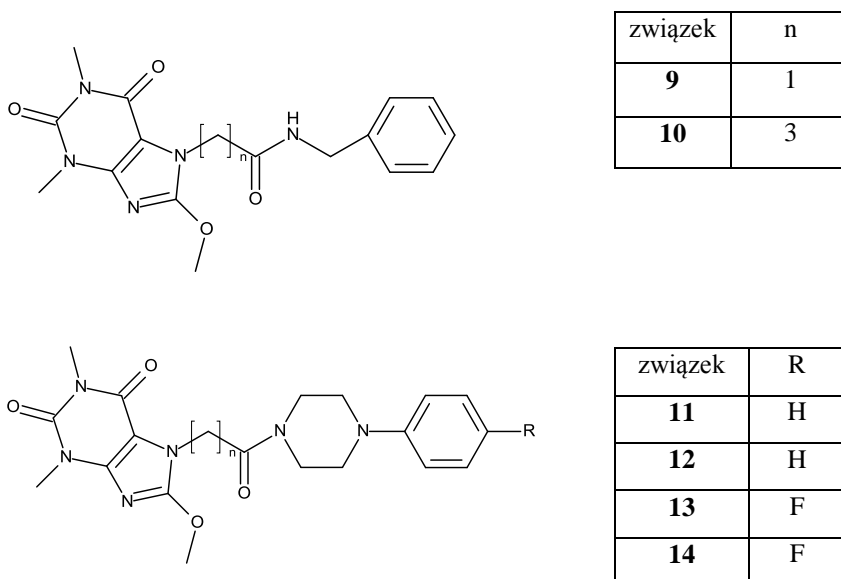
Wszystkie pochodne teobrominy wykazały silny, statystycznie istotny efekt przeciwbólowy w tym modelu eksperymentalnym. Na podstawie wyliczonych wartości ED₅₀ można stwierdzić, że najsilniejsze działanie przeciwbólowe wykazał związek **Ph369** (ED₅₀ = 2.3 mg/kg), a następnie w kolejności: **Ph364** (ED₅₀ = 2.4 mg/kg) > **Ph371** (ED₅₀ = 6.8 mg/kg), **Ph370** (ED₅₀ = 8.2 mg/kg), **Ph 359**(ED₅₀ = 8.5 mg/kg), > **Ph365** (ED₅₀ = 8.6 mg/kg), **Ph361** (ED₅₀ = 8.7 mg/kg), **Ph372** (ED₅₀ = 11.6 mg/kg), **Ph374** (ED₅₀ = 12.4 mg/kg), **Ph357** (ED₅₀ = 14.6 mg/kg), **Ph368** (ED₅₀ = 15.4 mg/kg), **Ph373** (ED₅₀ = 20.9 mg/kg), **Ph355** (ED₅₀ = 28.9 mg/kg) , **Ph358** (ED₅₀ = 45.7 mg/kg), **Ph356** (ED₅₀ = 45.8 mg/kg), **Ph360** (ED₅₀ = 46.5 mg/kg), **Ph363** (ED₅₀ = 46.6 mg/kg), **Ph362** (ED₅₀ = 83,8 mg/kg), (tabela 1 i 2 publikacja [1]). Porównując aktywność tych związków z aktywnością związku odniesienia, jakim był kwas acetylosalicylowy, można powiedzieć, że związki, z wyjątkiem oznaczonych symbolami **Ph 356**, **Ph 358**, **Ph 360**, **Ph 362**, **Ph363** wykazują silniejsze działanie od kwasu acetylosalicylowego (ASA), (ED₅₀ wynosi 39.1 mg/kg).

Wyniki badań farmakologicznych zaprezentowanych w publikacji [1] pozwoliły ustalić podstawowe zależności pomiędzy strukturą a aktywnością antynocyceptywną pochodnych teobrominy. Wprowadzenie ugrupowania hydrazonowego generalnie nasiliło aktywność analgetyczną badanych związków, w porównaniu do pochodnych z wolną grupą karboksylową, ugrupowaniem estrowym, benzylamidowym czy hydrazydowym. Natomiast obecność grupy hydroksylowej, nie była niezbędna dla aktywności farmakologicznej pochodnych hydrazonowych

Publikacja [2]:

Zygmunt M, Chłoń-Rzepa G, Sapa J, Pawłowski M: Analgesic Activity of New 8-Methoxy-1,3-dimethyl-2,6-dioxo-purin-7-yl Derivatives with Carboxylic, Ester or Amide Moieties. Pharmacological Reports, 2015, 67(1), 9-16. Impact Factor: 1.928

Praca ta ma charakter chemiczno-farmakologiczny. W części farmakologicznej wykonane przeze mnie w ramach tej pracy badania, polegały na oznaczeniu aktywności antynocyceptywnej (test przeciągania i test formalinowy) oraz wpływu na aktywność fosfodiesteraz dla związków oznaczonych symbolami od **4** do **19**, co pozwoliło wyselekcjonować aktywne struktury do dalszych badań *in vivo*. Były to nowe pochodne teofiliny, które w położeniu 8 układu ksantyny zawierały grupę alkoksylową, z ugrupowaniami o charakterze kwasów karboksylowych o różnej długości łańcucha alifatycznego, oraz ich estry lub amidy, podstawione w położeniu 7.



Rycina 2. Pochodne ksantyny o spodziewanej aktywności antynocyceptywnej i przeciwzapalnej, będące przedmiotem badań opublikowanych w pracy [2]

Wszystkie badane związki, wykazały działanie przeciwbólowe w teście przeciągnięcia (model bólu zapalnego indukowanego dootrzewnym podaniem 0.2% roztworu fenylobenzochinonu). Najsilniejszy, statystycznie istotny efekt antynocyceptywny, był obserwowany dla związku z podstawnikiem benzyloamidowym (**10**) oraz dla związków z ugrupowaniem piperazyno-amidowym (**11-14**), a uzyskane dla nich wartości ED_{50} (odpowiednio: 2.8; 4.0; 1.7; 12.9; 3.1 mg/kg) były znacząco niższe niż wartość ED_{50} uzyskana dla kwasu acetylosalicylowego (39.1 mg/kg). Na podstawie wyliczonych wartości ED_{50} można stwierdzić, że najsilniejsze działanie przeciwbólowe wykazał związek **12** ($ED_{50} = 1,7$ mg/kg). ED_{50} dla związku **12** w tym teście było 23-krotnie niższe niż dla kwasu acetylosalicylowego. Wydłużenie łańcucha alkilowego, wzmocniło efekt przeciwbólowy. Związki **12** oraz **14** były 2 i 4-krotnie bardziej aktywne niż ich homologi (**11** i **13**). Zastąpienie ugrupowania amidowego estrowym lub karboksylowym, obniżyło aktywność analgetyczną. Natomiast ugrupowanie metoksyłowe w pozycji 8 ksantyny wpłynęło korzystnie na aktywność przeciwbólową [2].

Silna aktywność przeciwbólowa tych związków udowodniona została również w modelu formalinowym, w którym ból wywoływany był miejscowym (do łapy) podaniem 5% roztworu formaliny. Reakcja bólowa w tym modelu bólu tonicznego przebiega dwufazowo. Pierwsza faza (neurogenna/ostra), występująca bezpośrednio po podaniu formaliny, trwa 5 minut i jest związana z bezpośrednim pobudzeniem nocyceptorów (głównie czuciowe włókna typu C), podczas gdy druga, przewlekła faza, (późna, zapalna) jest wypadkową aktywacji procesów zapalnych na obwodzie oraz mającego miejsce na poziomie rdzenia kręgowego, procesu ośrodkowej sensytyzacji bólu. Sugeruje się, iż ten model bólu może służyć do rozróżnienia pomiędzy ośrodkowym i obwodowym mechanizmem działania nowo badanych związków. Związki działające ośrodkowo są aktywne w obu fazach testu, natomiast NLPZ hamują jedynie fazę późną. W odróżnieniu od bólu wywołanego podaniem fenylobenzochinonu, test formalinowy stanowi przykład bólu przewlekłego.

W tym modelu bólu przewlekłego, znamioną statystycznie aktywność wykazało 8 nowych pochodnych teofiliny. Ich efekt antynocyceptywny był jedynie widoczny w II fazie testu. Ponieważ faza ta odzwierciedla aktywację procesów zapalnych, związki aktywne w tej fazie eksperymentu wykazują również efekt przeciwzapalny. Badane związki skracaly czas lizania/gryzienia prawej tylnej łapy u myszy, w odpowiedzi na chemiczny bodziec drażniący. Najsilniejszy efekt przeciwbólowy oraz przeciwzapalny w teście formalinowym, wykazały związki zawierające ugrupowanie amidowe w położeniu 7. Najbardziej aktywne związki; **12** ($ED_{50} = 3.5$ mg/kg) i **13** ($ED_{50} = 3.9$ mg/kg), wykazały 36 i 32-krotnie silniejsze działanie od związku odniesienia, czyli kwasu acetylosalicylowego.

Efekt przeciwbólowy badanych pochodnych teofiliny nie wynikał z ich wpływu sedatywnego [2].

W celu wyjaśnienia mechanizmu działania badanych związków, oznaczono ich wpływ na aktywność fosfodiesteraz. Pochodne teofiliny **8** (97.6% hamowania), **10** (83.8% hamowania), **18** (89.5% hamowania), oraz **19** (78.0% hamowania), silnie - silniej niż teofilina (69.3%) hamowały nieselektywne fosfodiesterazy (PDE).

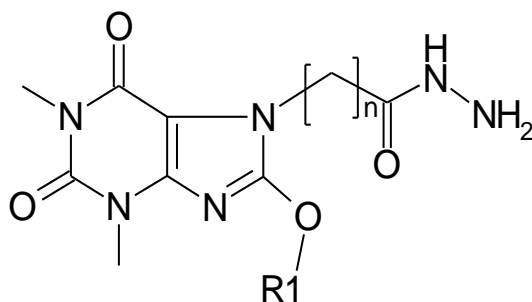
Wyniki badań farmakologicznych zaprezentowanych w publikacji [2] pozwoliły ustalić podstawowe zależności pomiędzy strukturą a aktywnością antynocyceptywną pochodnych teofiliny i wyselekcjonować najbardziej aktywne związki do dalszych badań. Powyższe badania doprowadziły do wyselekcjonowania najbardziej aktywnych związków, zawierających benzyloamidowe ugrupowanie w położeniu 7; N-benzyloamidu kwasu 8-metoksy-7-teofilino-masłowego (**10**) oraz związków zawierających ugrupowanie amidowe (**11 – 14**). Wyniki badań farmakologicznych wskazują również, iż podstawnik metoksyłowy w pozycji 8 ksantyny, odpowiada za silne działanie przeciwbólowe [2].

Publikacja [3]:

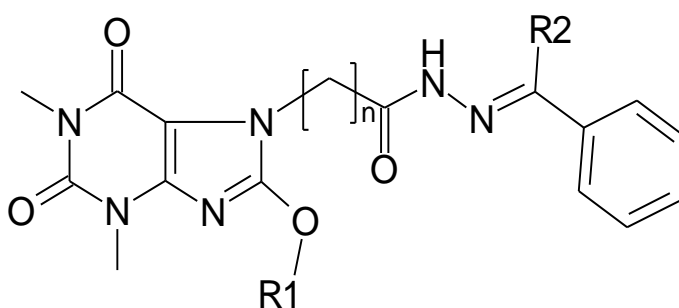
Chłoń-Rzepa G, Jankowska A, **Zygmunt M**, Pocięcha K, Wyska E: Synthesis of 8-alkoxy-1,3-dimethyl-2,6-dioxopurin-7-yl-substituted acetohydrazides and butanehydrazides as analgesic and anti-inflammatory agents. **Heterocyclic Communications**, 2015, 21(5), (De Gruyter; IF₂₀₁₄ 0.593; MNiSW₂₀₁₄ 15 pkt.)

Praca ta ma charakter chemiczno-farmakologiczny. Związki użyte do badań farmakologicznych, to analogi 7,8-dipodstawionych pochodnych teofiliny, będących przedmiotem publikacji [2], w których dokonano modyfikacji strukturalnych; grupa estrowa, kwasowa oraz amidowa, zostały zamieniona na ugrupowanie hydrazydowe lub N'-benzylidenohydrazydowe, w celu oceny wpływu tych modyfikacji na aktywność przeciwbólową.

W części farmakologicznej dokonano oceny aktywności antynocyceptywnej (test gorącej płytki oraz test przeciągania) 7 związków; 7-hydrazydowych i N'-benzylidenohydrazydowych pochodnych kwasów 8-alkoksy-teofilino-7-octowego i masłowego (**6-12**). Ponadto, oznaczono właściwości przeciwzapalne, wybranych związków, w modelu endotoksemii indukowanej lipopolisacharydem u szczurów.



związek	R ₁	n
6	C ₃ H ₇	1
7	C ₂ H ₅	3
8	C ₃ H ₇	3

związki od **6** do **8**związki od **9** do **12**

związek	R ₁	R ₂	n
9	C ₂ H ₅	H	3
10	C ₂ H ₅	CH ₃	3
11	C ₃ H ₇	H	3
12	C ₃ H ₇	CH ₃	3

Rycina 3. 8-alkoksylowe pochodne teofiliny z podstawnikiem hydrazydowym, o spodziewanej aktywności antynocyceptywnej i przeciwzapalnej, będące przedmiotem badań opublikowanych w pracy [3]

Wszystkie badane związki wykazały działanie przeciwbólne w teście przeciągania (model bólu zapalnego indukowanego dootrzewnowym podaniem 0.2% roztworu fenylobenzochinonu). Najsilniejszy, statystycznie istotny efekt antynocyceptywny, był obserwowany dla związków z ugrupowaniem N⁷-arylideno-hydrazydowym (**9-12**), a uzyskane dla nich wartości ED₅₀ (odpowiednio: 21.0; 16.6; 17.4; 12.2 mg/kg) były znacząco niższe niż wartość ED₅₀ uzyskana dla kwasu acetylosalicylowego (39.1 mg/kg). Na podstawie wyliczonych wartości ED₅₀ można stwierdzić, że najsilniejsze działanie przeciwbólne, wykazał związek **12** (ED₅₀ = 12,2 mg/kg), a w następnej kolejności związek **10** (ED₅₀ = 16,6 mg/kg). ED₅₀ dla tych preparatów z ugrupowaniem N⁷-fenylideno-butano-hydrazydowym, było 3- oraz 2-krotnie niższe niż dla kwasu acetylosalicylowego, użytego jako związek odniesienia. Wydłużenie węglowego łańcucha, w podstawniku alkoksylowym, w położeniu 8, nieznacznie wzmocniło efekt przeciwbólony (**9, 10** w porównaniu do **11, 12**). Natomiast związki **7** oraz **8** były mniej aktywne niż ASA.

Badane struktury nie upośledzały aktywności lokomotorycznej w teście rota-rod, w związku z tym, ich efekt przeciwbólony nie wynikał z zaburzeń lokomotorycznych.

Na podstawie przeprowadzonych badań farmakologicznych, można stwierdzić, że obecność ugrupowania hydrazydowego, a szczególnie N⁷-arylideno-hydrazydowego, stanowi ważny element strukturalny, mający wpływ na aktywność

analgetyczną badanych preparatów, co znajduje również potwierdzenie w publikacji [1].

Wszystkie 8-alkoksyłowe pochodne teofiliny z podstawnikiem hydrazydowym, nie wykazały efektu antynocyceptywnego w teście gorącej płytki [3].

Brak aktywności w teście gorącej płytki, może sugerować, że działanie przeciwbólne badanych preparatów, zachodzi za pośrednictwem mechanizmów obwodowych.

W celu oceny właściwości przeciwzapalnych wybranych związków, przebadano je w modelu endotoksemii, indukowanej lipopolisacharydem (LPS). W tym modelu, oznaczono poziom czynnika zapalnego, tj. TNF- α , po podaniu badanych związków. Przeprowadzone badania farmakologiczne pokazały, że związki **7**, oraz **12**, istotnie hamowały produkcję TNF- α w osoczu u szczurów z endotoksemią indukowaną LPS (rycina 2, publikacja [3]). Statystycznie istotnie, obniżały maksymalne stężenie TNF- α , uzyskane po 1.5 h od podania LPS z 20156 pg/mL (grupa kontrolna), odpowiednio do 6321 oraz 7328 pg/ml (rycina 2, publikacja [3]). Efekt ten był zbliżony do teofiliny, która została użyta jako związek odniesienia.

Przeprowadzone badania farmakologiczne, wykazały aktywność przeciwzapalną badanych pochodnych teofiliny, która może wynikać z ich wpływu na obniżenie poziomu TNF- α [3].

Działanie przeciwbólne nowo zsyntetyzowanych związków, może być połączone z ich właściwościami przeciwzapalnymi.

Publikacja [4]:

Zygmunt M, Chłoń-Rzepa G, Sapa J: Analgesic and Anti-inflammatory Activity of 7-Substituted purine-2,6-diones. Pharmacological Reports, 2014, 66(6), 996-1002. Impact Factor: 1.928

Celem badań opisanych w tej pracy była ocena aktywności przeciwbólowej (test przeciągania i test formalinowy) oraz przeciwzapalnej (model obrzęku wywołanego karagenem i model zapalenia otrzewnej indukowany zymozanem) 6 związków; kwasów teofilino-7-alkilokarboksyłowych; octowego oraz propionowego, jak również ich estrów i amidów. Ponadto, w celu wyjaśnienia mechanizmu działania aktywnych związków, wykonano oznaczenie ich działania antyoksydacyjnego oraz wpływu na fosfodiesterazy, szczególnie podtyp 4B.

Wszystkie 7-podstawione pochodne teofiliny wykazały efekt antynocyceptywny w teście przeciągania. Na podstawie wyliczonych wartości ED₅₀ można stwierdzić, że najsilniejsze działanie przeciwbólne wykazał związek **1** (ED₅₀ = 24,2 mg/kg). Jego wartość ED₅₀ była 1,6-krotnie niższa niż ED₅₀ dla kwasu acetylosalicylowego, użytego jako związek odniesienia. W następnej kolejności silny efekt przeciwbólowy zaprezentował związek **2** (ED₅₀ = 57,2 mg/kg), **3** (ED₅₀ = 75,2 mg/kg), **4** (ED₅₀ = 79,2 mg/kg), **5** (ED₅₀ = 79,8 mg/kg) oraz **6** (ED₅₀ = 84,3 mg/kg). Badania farmakologiczne wykazały, że najsilniejszy efekt antynocyceptywny w teście przeciągania, był obserwowany po podaniu kwasu teofilino-7-octowego oraz kwasu teofilino-7-propionowego (**1**, **2**).

Dalsze badania farmakologiczne zmierzały do wyjaśnienia mechanizmu aktywności przeciwbólowej badanych związków. W tym celu zmodyfikowano wykonywanie testu przeciągania. 30 Minut wcześniej przed podaniem badanych związków, zastosowano teofilinę, która jest nioselektywnym antagonistą receptorów adenylinowych.

Efekt przeciwbólowy nie został odwrócony przez teofilinę, co może sugerować, iż nie jest on związany z wpływem na receptory adenozynowe [4].

Drugim testem w jakim oznaczono aktywność farmakologiczną badanych związków był test formalinowy. Z wyjątkiem związków **5** oraz **6**, badane preparaty wykazały znamiennej statystycznie aktywność przeciwbólową oraz przeciwzapalną, polegającą na skróceniu czasu reakcji bólowej zwierząt badanych jedynie w II fazie zapalnej, co sugeruje podobieństwo działania do NLPZ. Silny efekt w tym modelu eksperymentalnym, zaprezentowały związki **2 – 4** (nieznacznie słabszy od związku referencyjnego) oraz związek **1** (aktywność zbliżona do ASA).

Następny etap badań eksperymentalnych polegał na wykorzystaniu testu karageninowego. Należy podkreślić, że najwyższą aktywność przeciwzapalną (przeciwobrzękową), silniejszą od związku odniesienia ketoprofenu, zaprezentował związek **1**, ponieważ w najwyższej zastosowanej dawce, tj. 100 mg/kg masy ciała, całkowicie hamował narastanie obrzęku łapy u myszy i to przez cały czas trwania eksperymentu. Na uwagę zasługują również estry etylowe obydwu kwasów teofilino-7-alkilokarboksylowych (**5** i **6**), ponieważ one całkowicie hamowały narastanie obrzęku w ostatniej godzinie pomiaru.

Efekt przeciwzapalny 7-podstawionych pochodnych teofiliny oznaczono w modelu zapalenia otrzewnej, indukowanego zymozanem. Związki **1** oraz **2** (zawierające grupę karboksylową) zaprezentowały najsilniejszy efekt. W sposób statystycznie znamiennej redukowały one przepuszczalność naczyń; odpowiednio o 94.0% i 81.3%, a ponadto zahamowały nacieczenie neutrofilami do miejsca zapalenia; odpowiednio o 87.4% i 86.8%, w porównaniu do grupy kontrolnej. Natomiast pozostałe związki (**3-6**), zaprezentowały mniej nasilony, ale nadal statystycznie znamiennej efekt. Efekt ten był zbliżony dla tych związków i zawierał się w granicach od 50.2% do 61.5%, jeśli chodzi o przepuszczalność naczyń, natomiast o 47.1% - 58.4% zostało zahamowane nacieczenie neutrofilami do miejsca zapalenia, w porównaniu do grupy kontrolnej.

W badaniach stwierdzono, że nowe pochodne kwasów teofilino-7-alkilokarboksylowych, wykazały znaczną aktywność analgetyczną w teście przeciągania, niejednokrotnie przewyższając siłą działania związek odniesienia, jakim był kwas acetylosalicylowy. Dodatkowo, badane preparaty wywierały efekt przeciwbólowo – przeciwzapalny w teście formalinowym. Ponadto wykazały istotny efekt przeciwzapalny w obydwu testach.

Spośród wszystkich badanych pochodnych teofiliny, wyróżniał się kwas teofilino-7-octowy (**1**) oraz kwas teofilino-7-propionowy (**2**). Na szczególne uwagę zasługuje kwas teofilino-7-octowy, który swoją aktywnością przeciwzapalną znacznie przewyższał pozostałe badane związki. Ponadto wykazał się on efektem przeciwbólowym silniejszym od ASA. Dalsze badania farmakologiczne zmierzały do wyjaśnienia mechanizmu działania. Badane związki nie wykazały istotnej aktywności antyoksydacyjnej.

W związku z tym, można stwierdzić, że ich aktywność farmakologiczna nie wynika z wpływu na całkowity potencjał antyoksydacyjny.

Podjęto dalsze kroki, prowadzące do wyjaśnienia mechanizmu działania i oznaczono wpływ badanych pochodnych kwasów teofilino-7-alkilokarboksylowych na aktywność fosfodiesteraz. Wyniki przeprowadzonych oznaczeń wskazują, że związek **1** najsilniej hamował PDE - silniej od teofiliny. Natomiast pozostałe, badane preparaty w mniejszym stopniu hamowały PDE. W celu dalszego wyjaśnienia mechanizmu działania badanych związków, oznaczono ich wpływ na izoenzym PDE4B, ze względu na jego istotną rolę w procesach zapalnych. Przeprowadzone

badania jednoznacznie wskazują, że tylko kwas teofilino-7-octowy praktycznie całkowicie hamuje PDE4B. Co ciekawe, przewyższył on nawet rolipram, który jest uznanym, selektywnym inhibitorem tego izoenzymu i ma udowodnioną aktywność przeciwzapalną.

W związku z tym, można z dużym prawdopodobieństwem stwierdzić, że silna aktywność przeciwzapalna związku 1 wynika z hamowania fosfodiesterazy 4B [4].

Na podstawie przeprowadzonych badań farmakologicznych można sformułować zależności pomiędzy aktywnością a strukturą badanych związków. Estry etylowe oraz amidy obydwu kwasów teofilino-7-alkilokarboksylowych w większości wykazały niższą aktywność przeciwbólową oraz przeciwzapalną, w porównaniu do odpowiadających im kwasów. Jedynie aktywność przeciwozbrękowa estru etylowego kwasu teofilino-7-octowego oraz estru etylowego kwasu teofilino-7-propionowego były zbliżone [4].

Publikacja [5]:

Zygmunt M, Chłoń-Rzepa G, Sapa J: The Effect of Serotonin 5-HT_{1A}, 5-HT₂ Receptor Ligands, Ketoprofen And Their Combination In Models of Induced Pain In Mice. Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research, 2015, 3, 579-585. Impact Factor: 0.737

W pracy tej porównywano aktywność antynocyceptywną czterech wybranych 8-alkoksy-7-fenylpiperazyno-alkilowych pochodnych teofiliny (**2-5**), o wykazanym wcześniej powinowactwie do receptorów serotonergicznych [IV. 2.1, publikacja 17]. Działanie antynocyceptywne oznaczono na myszach (test gorącej płytki oraz test przeciągania z użyciem 0.2% fenylobenzochinonu). Jednocześnie, podjęto próbę ustalenia ich potencjalnego mechanizmu działania. W rozważaniach uwzględniono rolę serotoniny i jej działania receptorowego w efekcie analgetycznym. Ponadto, badania farmakologiczne zawarte w tej pracy, miały odpowiedzieć na pytanie: czy badane związki o wykazanej w poprzednich badaniach, potencjalnej aktywności przeciwdepresyjnej, mogą wykazywać właściwości ko-analgetyków.

Pierwszy etap badań farmakologicznych miał na celu oznaczenie aktywności przeciwbólowej badanych pochodnych teofiliny oraz ketoprofenu w teście przeciągania. Wszystkie 8-alkoksy-7-fenylpiperazyno-alkilowe pochodne teofiliny (**2-5**), wykazały statystycznie istotną aktywność analgetyczną w tym teście, z tym że najwyższa (podobna do ketoprofenu), była obserwowana po podaniu związków **4** oraz **5**. Obserwowany efekt nie był jednak silniejszy od ketoprofenu, zastosowanego w tej samej dawce. Istnieje prawdopodobieństwo, że aktywność przeciwbólowa związków **4** i **5**, może wynikać z ich wpływu na receptory serotoniny 5-HT_{2A}, ponieważ związki te kilkakrotnie silniej wiązały się do receptorów 5-HT_{2A} niż do 5-HT_{1A}. Dodatkowo, przemawia za tym fakt, że w teście przeciągania działanie analgetyczne różnych substancji, może być wynikiem wpływu na receptory 5-HT_{2A}. W tym modelu bólu mniejszą rolę odgrywają receptory 5HT_{1A}, a ich antagoniści (pindolol) nie znoszą działania przeciwbólowego agonistów. Badania na modelu zwierzęcym, wykazały także przeciwbólowe działanie serotoniny - poprzez rdzeniowe receptory 5-HT₃ (w teście przeciągania). Efekt ten jest znoszony przez antagonistów tych receptorów (ketanseryna, cyproheptadyna, ondansetron).

Następnie, oznaczono aktywność przeciwbólową badanych związków w innym modelu bólu; indukowanym bodźcem termicznym, czyli w teście gorącej płytki. Żadna z badanych pochodnych ksantyny nie wydłużała czasu reakcji na bodziec

termiczny. Wykazana aktywność w teście przeciągania, a jednocześnie brak efektu w teście gorącej płytki; wskazuje na silniej zaznaczony efekt obwodowy niż ośrodkowy, w mechanizmie działania przeciwbólowego badanych związków. Niejasna jest rola receptorów $5HT_{1A}$ w modelach bólu indukowanego bodźcem termicznym. Wydaje się, że w teście gorącej płytki, receptory $5HT_{1A}$ nie odgrywają znaczącej roli w zakresie przekazywania bodźca bólowego, a działanie antynocyceptywne w tym teście może wynikać ze stymulacji rdzeniowych receptorów serotoninowych typu $5-HT_3$ i prawdopodobnie typu $5-HT_{2A}$.

W badaniach na zwierzętach, wykazano analgetyczny efekt leków przeciwdepresyjnych, który jest częściowo związany z wpływem na receptory serotoninergiczne, oraz może również wynikać ze złożonych interakcji pomiędzy układami: serotoninergicznym, adrenergicznym i opioidowym.

Następny etap badań miał na celu odpowiedzieć na pytanie - czy badane związki o wykazanej w poprzednich badaniach, potencjalnej aktywności przeciwdepresyjnej, mogą wykazywać właściwości ko-analgetyków. Dlatego też powtórzono oznaczenie aktywności przeciwbólowej związków **2-5** w teście przeciągania, ale poddano je badaniom z udziałem ketoprofenu. Takie połączenie badanych preparatów, nieznacznie nasilało efekt antynocyceptywny ketoprofenu (tabela 4, publikacja [5]).

Reasumując – wyniki farmakologiczne zawarte w tej pracy, doprowadziły do wyselekcjonowania związków **2-5**, o aktywności antynocyceptywnej, aczkolwiek ich efekty były różne, w zależności od użytego modelu bólu. Ich aktywność analgetyczna była obserwowana jedynie w teście przeciągania. Najsilniejszy efekt antynocyceptywny (podobny do ketoprofenu), zaprezentowały związki oznaczone symbolem **4** oraz **5**, które jednocześnie, w niewielkim stopniu, wykazywały właściwości ko-analgetyków. Mechanizm działania przeciwbólowego badanych preparatów, może być związany z przekąźnictwem serotoninergicznym lub połączeniem tego mechanizmu z innymi mediatorami, odgrywającymi istotną rolę w modulowaniu reakcji bólowej. W rozważaniach tych uwzględniono fakt, iż rola serotoniny i jej działania receptorowego, w tym również efekt analgetyczny, są ściśle powiązane z innymi układami przekąźnikowymi [5].

Publikacja [6]:

Pytka K, Zygmunt M, Filipek B: Pharmacotherapy of Parkinson's disease: Progress or regress ?. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej, 2013, 6, 700-708. Impact Factor: 0.633

W pracy tej dokonano przeglądu aktualnej literatury dotyczącej współczesnej farmakoterapii choroby Parkinsona. We wstępie pracy przedstawiono etiologię oraz objawy kliniczne tej neurodegeneracyjnej choroby. W dalszej części przedstawiono stosowane obecnie leki: nasilające przekąźnictwo dopaminergiczne (zwiększające wytwarzanie DA, zwiększające uwalnianie DA, hamujące metabolizm DA) oraz cholinolityki. Uwzględniono nowe postacie leków o przedłużonym uwalnianiu oraz nowe drogi podania.

Wynikiem przeprowadzonego studium literaturowego było usystematyzowanie aktualnej wiedzy dotyczącej nowych strategii terapii choroby Parkinsona, ze szczególnym uwzględnieniem antagonistów receptorów adenozynowych A_{2A} . Dokonano również podziału receptorów adenozynowych, przedstawiono ich lokalizację oraz funkcję w OUN. Dodatkowo zamieszczono wyniki badań

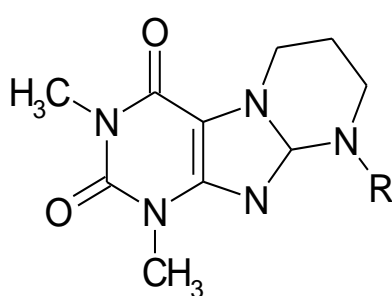
przedklinicznych i klinicznych dotyczących innych potencjalnych leków. Podkreślono również funkcję farmakogenetyki w leczeniu chorych z chorobą Parkinsona.

Opisane w tej publikacji, poszukiwania skutecznej farmakoterapii choroby Parkinsona, są dobrym uzasadnieniem dla podjętych badań w grupie trój-cyklicznych pochodnych ksantyny, opisanych w dalszych publikacjach [7, 8].

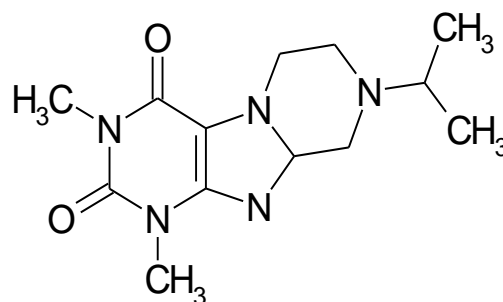
Publikacja [7]:

Drabczyńska A, Zygmunt M, Sapa J, Filipek B, Müller C.E, Kieć-Kononowicz K: Antiparkinsonian Effects of Novel Adenosine A_{2A} Receptor Antagonists. Archiw der Pharmazie Chemistry in Life Sciences, 2011, 344(1), 20-27. Impact Factor: 1.708

Praca ta ma charakter chemiczno-farmakologiczny. W części farmakologicznej dokonano oceny aktywności przeciwparkinsonowej (test rezerpinowy oraz oksotremorynowy) 12 związków, trój-cyklicznych pochodnych pirymidyno/lub pirazyno-puryno-dionów (**1-12**). W pracy opisano wyniki oznaczania powinowactwa do receptorów adenozynowych A_{2A} (wykonane w ramach współpracy z Uniwersytetem w Bonn, Katedrą Chemii Farmaceutycznej, pod kierownictwem Prof. Christa Müllera). Ponadto podjęto próbę wyjaśnienia mechanizmu działania pochodnych ksantyny.



związki od **1** do **11**



związek **12**

Rycina 4. Trój-pierścieniowe pochodne ksantyny (**1-12**) o spodziewanej aktywności przeciwparkinsonowej i przeciwzapalnej [7, 8, 9].

W pierwszym etapie badań farmakologicznych, zastosowano test z użyciem rezerpiny, która upośledza funkcję neuronów dopaminergicznych. U zwierząt laboratoryjnych, objawem podania rezerpiny jest akinezyja i sztywność mięśniowa [Rump 1982]. Wszystkie, trój-cykliczne pochodne pirymidyno lub pirazyno-puryno-diony, w dawce 5 mg/kg masy ciała, miały wpływ na ruchliwość spontaniczną myszy oznaczaną w teście rezerpinowym. Z 12 przebadanych związków, najwyższy wpływ na ruchliwość spontaniczną wykazał związek **3**, zwiększając ruchliwość zwierząt o 93%, w stosunku do grupy kontrolnej. Natomiast związek oznaczony symbolem **8**, statystycznie znamienne zabezpieczał zwierzęta przed efektami działania rezerpiny, objawiającymi się zmniejszeniem ruchliwości, zwiększał o 73,2% ruchliwość myszy w ciągu 10 minutowego okresu pomiaru. Nieznacznie słabszy, ale także statystycznie znamienne efekt, wykazały związki **1** oraz **2**. Powodowały bowiem wzrost ruchliwości spontanicznej myszy odpowiednio o 60,3 i 53,4%, w porównaniu do zwierząt kontrolnych. Jednak żaden związek nie przewyższał aktywnością

farmakologiczną atropiny, która chroniła zwierzęta przed efektami działania rezerpiny - podwyższała ruchliwość spontaniczną myszy o 130,6%.

Następny etap badań farmakologicznych, polegał na oznaczeniu aktywności przeciwparkinsonowej w teście oksotremorynowym, w którym użyto oksotremoryny, wywołującej u zwierząt laboratoryjnych drżenia. Spośród 12 przebadanych związków, najsilniejszą aktywność przeciwoksotremorynową wykazały związki **2** oraz **8**, które w porównaniu do grupy kontrolnej, powodowały po 15, 30, 60 minutach obserwacji zmniejszenie tremoru; odpowiednio o 60,7-64, 50, 54,5%, (tabela 2, publikacja [7]). Najsilniejsze działanie, związki te zaprezentowały w 45 minucie obserwacji, zmniejszając tremor o 72,2%. Natomiast efekt przeciw-oksotremorynowy, dla związków **1** oraz **3**, utrzymywał się na podobnym poziomie przez cały czas trwania obserwacji. Drżenia mięśni, w porównaniu do grupy kontrolnej, zawierały się odpowiednio, w przedziale 46 - 55% oraz 50-64% (tabela 2, publikacja [7]). Słabsze, statystycznie nieistotne, działanie przeciw-oksotremorynowe, wykazały związki **4**, **6**, **7**, **9** oraz **5**, **11**, jak również **10**, powodując w 15 minucie obserwacji, zmniejszenie drżenia w przedziale od 11% do 18%. Efekt ten, dla wyżej wymienionych związków, utrzymywał się w 30 oraz 45 minucie obserwacji, osłabiając tremor o 11,5% - 28%. Zmniejszenie drżenia parkinsonowskiego o 36%, z wyjątkiem związku **6**, stwierdzono również podczas ostatniego pomiaru. Natomiast związek **12** wykazał brak aktywności przeciwparkinsonowej w teście oksotremorynowym [7].

Najsilniejsze powinowactwo do receptorów A_{2A} wykazał związek **2** ($K_i=0.15 \mu\text{M}$). Najsłabsze powinowactwo do receptorów A_{2A} zaprezentowała pochodna ksantyny, oznaczona symbolem **11** ($K_i=1.34 \mu\text{M}$). Natomiast powinowactwo pozostałych związków zawierało się w granicach ($K_i= 0.22 - 0.61 \mu\text{M}$). Związek **12** nie wykazywał praktycznie powinowactwa względem receptora A_{2A} ($K_i>10 \mu\text{M}$), (tabela 3, publikacja [7]).

Wyniki zaprezentowane w publikacji [7] pozwoliły ustalić podstawowe zależności pomiędzy strukturą a aktywnością farmakologiczną pochodnych ksantyny; doprowadziły do wyselekcjonowania aktywnych struktur, przeznaczonych do dalszych oznaczeń.

Na podstawie przeprowadzonych badań farmakologicznych, można stwierdzić, że wykazana aktywność przeciwparkinsonowa badanych, trój-cyklicznych pochodnych ksantyny (pirymidyno-puryno-dionów: **1**, **2**, **3** i **8**) może być związana z blokowaniem receptorów adenozynowych A_{2A} , ponieważ aktywne farmakologicznie związki wykazały powinowactwo do tych receptorów. Natomiast trój-cykliczna pochodna ksantyny oznaczona symbolem **12**, (pirazyno-puryno-dion), która nie wykazała powinowactwa do receptorów adenozynowych A_{2A} , nie zabezpieczała przed objawami eksperymentalnego parkinsonizmu, wywołanego zarówno rezerpiną, jak również oksotremoryną [7].

Publikacja [8]:

Zygmunt M, Gołębiewska K, Drabczyńska A, Kieć-Kononowicz K, Sapa J: Anti-inflammatory, antioxidant, and antiparkinsonian effects of adenosine A_{2A} receptor antagonists. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 2015, 132, 71–78. Impact Factor: 2.781

Praca ta ma charakter farmakologiczny, a wykonane oznaczenia przeprowadzono zarówno *in vivo*, jak również *in vitro*. Jej celem była ocena aktywności przeciwparkinsonowej, przeciwwzapalnej oraz antyoksydacyjnej trój-

cyklicznych pochodnych ksantyny (pirymidyno-puryno-dionów). Ponadto, podjęto próbę wyjaśnienia mechanizmu działania badanych pochodnych.

Pierwszy etap badań polegał na oznaczeniu aktywności przeciwparkinsonowej w teście katalepsji, pochodnej ksantyny (**KD 114**), która we wcześniejszych badaniach - publikacja [7], (oznaczona symbolem **8**), wykazała istotny efekt przeciwparkinsonowy w teście rezerpinowym oraz oksotremorynowym. Związek ten, podany w dawce 5 mg/kg masy ciała, statystycznie istotnie odwracał katalepsję indukowaną haloperidolem; obniżał skalę katalepsji z 4,4 do 3,2 (rycina 1, publikacja [8]). Efekt ten był jednak słabszy niż powodowany przez 8-(3-chlorostyrylo)kofeinę, tj. **CSC** (dawka 1 mg/kg), a tylko nieznacznie słabszy niż powodowany przez 4-(2-[7-amino-2-(2-furylo)1,2,4-triazolo-[2,3-a][1,3,5]triazyno-5-ylamino]etylofenol, tj. **ZM 241385** (dawka 3 mg/kg), użyte jako leki referencyjne. Ponadto, przeprowadzone badania biochemiczne wykazały, że **KD 114** podwyższał pozakomórkowy poziom dopaminy w prążkowi u szczura, podobnie jak **ZM 241385** oraz **CSC**. Jakkolwiek obydwa związki; **KD 114** oraz **ZM 241385**, wykazały słabszy efekt niż **CSC**. Te różnice mogły być spowodowane tym, że **CSC** dodatkowo wykazuje cechy inhibitora MAO-B, co prowadziło do znaczącego podwyższenia uwalniania dopaminy, poprzez zahamowanie jej rozkładu. **KD 114** statystycznie istotnie podwyższał tkankową (w prążkowi) zawartość dopaminy i jej metabolitów, tj. DOPAC oraz HVA (rycina 2, publikacja [8]).

Na uwagę zasługuje fakt, że lek referencyjny CSC, wykazał podobny wpływ na zawartość dopaminy oraz jej metabolitów [8].

Kolejny etap badań farmakologicznych, to oznaczenie aktywności przeciwwzapalnej (przeciwobrzękowej) związku **KD 114** oraz pozostałych 10, trój-cyklicznych pochodnych ksantyny. Pięć z nich, tj. **KD 114**, **KD-57**, **KD 129**, **KD 50**, oraz **KD 358**, podanych w dawce 100 mg/kg, ujawniło silny efekt przeciwwzapalny w modelu karageninowym. Badane związki, hamowały rozwój obrzęku o 77 – 97% przez 3 godziny od podania karagenu. **KD 114** wykazał najsilniejszy efekt, który manifestował się już od pierwszej godziny pomiaru obrzęku łapy szczura, indukowanego karagenem. Przeciwobrzękowa aktywność **KD 114** w 1, 2 oraz 3 godzinie eksperymentu, wynosiła odpowiednio; 97%, 91% oraz 93%, w porównaniu do grupy kontrolnej. Natomiast związek **KD 203** wykazywał najslabszy efekt przeciwwzapalny, wynoszący odpowiednio w kolejnych godzinach: 59%, 24% i 37%. Pozostałe badane preparaty, hamowały narastanie obrzęku między 60% a 91% w stosunku do grupy kontrolnej.

Dalsze kroki prowadziły do wyjaśnienia mechanizmu działania badanych związków. W tym celu oznaczono powinowactwa do receptorów adenozynowych A_{2A} (wykonane w ramach współpracy z Uniwersytetem w Bonn, Katedrą Chemii Farmaceutycznej, pod kierownictwem Prof. Christa Müller). **KD 114** najsilniej wiązał się receptorami adenozynowymi A_{2A} ($K_i = 0.23 \mu\text{M}$). Pozostałe badane, trój-cykliczne pochodne ksantyny (z wyjątkiem **KD 50** oraz **KD 240**), również wykazały silne powinowactwo do receptorów adenozynowych A_{2A} ($K_i = 0.32 - 0.83 \mu\text{M}$)

W kolejnym etapie badań farmakologicznych, oznaczono *in vitro* wpływ badanych, trój-cyklicznych pochodnych ksantyny na hamowanie peroksydacji lipidów (MDA) oraz całkowitą aktywność antyoksydacyjną (zdolność redukcyjną jonów żelazowych - FRAP).

Z przebadanych w stężeniu 10^{-3}M związków, **KD 206** wyraźnie hamował peroksydację lipidów (o 28,5%), wykazując jednak około 3-krotnie niższą aktywność antyoksydacyjną od związku odniesienia, jakim był kwas liponowy. Związki **KD 114**, **KD 167** oraz **KD 358**, hamowały peroksydację lipidów zaledwie o około 10%,

pozostałe zaś nie wykazywały aktywności antyoksydacyjnej w tym teście. Badanie wpływu związków na całkowity potencjał antyoksydacyjny wykazało, że pięć z nich, w stężeniu 10^{-3} M: **KD 57**, **KD 99**, **KD 114**, **KD 129** i **KD 203**, znacząco zwiększało całkowitą zdolność redukcji jonów żelazowych, o 33,5 – 40,7 % wartości maksymalnej, otrzymanej dla kwasu askorbinowego w analogicznym stężeniu. Pozostałe związki wykazały słabsze działanie antyoksydacyjne w tym teście, zwiększając FRAP o 12-27%.

Publikacja [9]:

Zygmunt M, Sapa J, Drabczyńska A, Karcz T, Müller C.E, Köse M, Latacz G, Schabikowski J, Bednarski M, Kieć-Kononowicz K: Synthesis and analgesic activity of annelated xanthine derivatives in experimental models in rodents. Archiv der Pharmazie Chemistry in Life Sciences, 2015, 348, 1-11. Impact Factor: 1.531

Praca ta ma charakter chemiczno-farmakologiczny. W części farmakologicznej dokonano oceny aktywności antynocyceptywnej 10 nowych anelowanych pochodnych ksantyny – tetrahydro-pirymidyno – purynodionów oraz 1 związku oznaczonego jako **KD-114**, który wyselekcjonowano we wcześniejszych badaniach – publikacja [7] oraz [8]. Zastosowano dwa podstawowe testy skringowe, oceniające antynocyceptywną aktywność nowo zsyntetyzowanych substancji chemicznych, tj. test przeciągania oraz test gorącej płytki.

W teście przeciągania wszystkie badane związki, zmniejszały liczbę charakterystycznych przeciągnięć tułowia u zwierząt, którym podano fenylobenzochinon. Na podstawie wyliczonych wartości ED_{50} można stwierdzić, że najsilniejsze działanie przeciwbólowe wykazał związek **KD-142** ($ED_{50} = 9.0$ mg/kg), a następnie w kolejności: **WZ-5** ($ED_{50} = 10.2$ mg/kg), **KD-60** ($ED_{50} = 11.3$ mg/kg), **WZ-4** ($ED_{50} = 12.1$ mg/kg), **WZ-3** ($ED_{50} = 12.5$ mg/kg), **WZ-1** ($ED_{50} = 13.5$ mg/kg), **KD-179** ($ED_{50} = 16.8$ mg/kg), **KD-56** ($ED_{50} = 21.4$ mg/kg), **KD-114** ($ED_{50} = 27.2$ mg/kg), **WZ-6** ($ED_{50} = 42.1$ mg/kg), **WZ-7** ($ED_{50} = 80.9$ mg/kg). Porównując aktywność tych związków z aktywnością związku odniesienia, jakim był kwas acetylosalicylowy, można stwierdzić, że wszystkie badane związki, z wyjątkiem **WZ-7**, wykazały silniejszy lub zbliżony (w przypadku związku **WZ-6**) efekt antynocyceptywny [9].

W celu wykluczenia fałszywie dodatnich wyników dotyczących aktywności przeciwbólowej, oznaczono wpływ badanych związków na aktywność lokomotoryczną. Badanie wykazały, że w porównaniu z grupą kontrolną związki podawane w dawkach wywołujących efekt analgetyczny, nie zmieniały ruchliwości spontanicznej. Wyjątkiem były dwa związki, **WZ-4** oraz **K-60**, które w dawce 100 mg/kg, w sposób statystycznie istotny, obniżały aktywność ruchową. Biorąc to pod uwagę, można stwierdzić, że ich działanie przeciwbólowe w części może być związane ze zmniejszeniem ruchliwości. Z drugiej jednak strony, związki te demonstrują istotne działanie przeciwbólowe, w dawkach 25 mg/kg i 50 mg/kg, które nie wpływają w sposób statystycznie istotny na aktywność lokomotoryczną u myszy

Wszystkie anelowane pochodne ksantyny, były badane w teście gorącej płytki, lecz tylko niektóre z nich zaprezentowały efekt przeciwbólowy. Za najbardziej aktywne uznano związki: **WZ-1**, **WZ-4**, **WZ-6**, **WZ-7** oraz **KD-60**, które w sposób statystycznie znamienny, zależny od dawki, wydłużały czas reakcji na ból. Najsilniejszy efekt analgetyczny, był obserwowany dla związku **WZ-7**. Oznaczona wartość ED_{50} dla **WZ-7** wynosiła 31.4 mg/kg, dla **WZ-1** 120.7 mg/kg, podczas gdy

dla **WZ-6** 150.7 mg/kg. Anelowane pochodne ksantyny, oznaczone symbolem **WZ-4** oraz **KD-60**, tylko w dawce 100 mg/kg, istotnie wydłużały czas reakcji na ból, w odpowiedzi na bodziec termiczny. Jednak efekt antynocyceptywny badanych struktur, nie przewyższył związku referencyjnego, którym była morfina.

Test gorącej płytki wykrywa związki o ośrodkowym mechanizmie działania przeciwbólowego, jednakże fałszywie pozytywny efekt mogą dawać również substancje działające sedatywnie. W celu wykluczenia fałszywie dodatnich wyników, wykonano oznaczenie wpływu badanych związków na ruchliwość spontaniczną myszy. Wydłużenie latencji reakcji nocyceptywnej zwierząt doświadczalnych w teście gorącej płytki, mogło być całkowicie lub częściowo związane z działaniem sedatywnym badanych pochodnych. Potwierdzono to oceniając wpływ pochodnych ksantyny na aktywność lokomotoryczną – w tych dawkach, w których wykazały istotny efekt przeciwbólowy (z wyjątkiem **WZ-7**), hamowały statystycznie znamienne ruchliwość spontaniczną zwierząt.

Anelowane pochodne ksantyny, z wyjątkiem związków: **WZ-5**, **WZ-6** oraz **WZ-7**, silnie wiązały się z podtypami receptorów adenozynowych. Związek **KD-142**, który wykazał najsilniejszy efekt analgetyczny w teście przeciągania, wiązał się z podtypami receptorów adenozynowych A1 ($K_i = 0.62 \mu\text{M}$), A2A ($K_i = 0.86 \mu\text{M}$), A2B ($K_i = 0.59 \mu\text{M}$), A3 ($K_i = 3.66 \mu\text{M}$). Natomiast badana struktura, oznaczona symbolem **KD-179**, o istotnej (przewyższającej kwas acetylosalicylowy) aktywności analgetycznej, wykazała silne wiązanie do receptorów A1 ($K_i = 0.28 \mu\text{M}$) oraz A2A ($K_i = 0.30 \mu\text{M}$). Związki **KD-56** i **KD-114**, które także były aktywniejsze przeciwbólowo od związku odniesienia, miały silne powinowactwo do receptorów A2A (wartości K_i wynosiły odpowiednio $K_i = 0.32 \mu\text{M}$, $K_i = 0.23 \mu\text{M}$). Rezultaty te wskazują na kluczową rolę receptorów A2A (być może także A1) w obwodowym mechanizmie antynocycepcji [9].

W celu stwierdzenia potencjalnych interakcji wybranych związków z innymi lekami, oznaczono ich wpływ na aktywność CYP3A4. Wyniki zostały porównane z silnym inhibitorem tego izoenzymu - ketokonazolem. Badane pochodne ksantyny silnie (**KD-60**, **KD-179**) lub słabo (**KD-114**) hamowały aktywność cytochromu CYP3A4. Ponadto spośród związków: **WZ-1**, **WZ-4** i **WZ-7**, tylko **WZ-4** nie hamował istotnie aktywności CYP3A4.

W następnym etapie badań, oznaczono efekty antyproliferacyjne (w stosunku do linii komórkowej HEK-293) wybranych związków (**KD-60**, **KD-114** oraz **KD-179**; **WZ-1**, **WZ-4** oraz **WZ-7**), używając doksorubicyny jako związku odniesienia. Efekt antyproliferacyjny był obserwowany jedynie dla związku **KD-179**, dla którego wyliczona wartość IC_{50} wynosiła $39,54 \mu\text{M}$.

Powyższe badania doprowadziły do wyselekcjonowania najbardziej aktywnych analgetycznie trój-cyklicznych pochodnych ksantyny i wskazują na ich obwodowy i ośrodkowy mechanizm działania, w którym biorą udział różne podtypy receptorów adenozynowych. W związku z tym, efekt antynocyceptywny anelowanych pochodnych ksantyny, prawdopodobnie wynika z agonizmu/lub antagonizmu lub częściowego agonizmu, w stosunku do tych receptorów.

Ponadto przeprowadzone testy farmakologiczne, pozwoliły na poszerzenie aktywności farmakologicznej związku **KD-114** o efekt antynocyceptywny, który to we wcześniejszych badaniach, działał przeciwzapalnie oraz wykazał aktywność przeciwparkinsonową [7], [8], [9].

4.5. PODSUMOWANIE WYNIKÓW BADAŃ STANOWIĄCYCH PODSTAWĘ HABILITACJI

Dziewięć, zaprezentowanych jako monotematyczny cykl publikacji artykułów – osiem eksperymentalnych oraz jeden przeglądowy, sumarycznie oceniło 10 recenzentów z całego świata.

Prace te dotyczą badań nad aktywnością farmakologiczną nowych związków, dwu- i trój-pierścieniowych pochodnych ksantyny, o spodziewanej aktywności antynocyceptywnej, przeciwzapalnej i/lub przeciwparkinsonowej.

W wyniku przeprowadzonych badań farmakologicznych, określono korelację pomiędzy strukturą a aktywnością farmakologiczną:

- ❑ wprowadzenie ugrupowania hydrazonowego, generalnie nasiliło aktywność analgetyczną badanych związków, w porównaniu do pochodnych z wolną grupą karboksylową, ugrupowaniem estrowym, benzyloamidowym czy hydrazydowym [1]
- ❑ obecność ugrupowania hydrazydowego, a szczególnie N'-arylideno-hydrazydowego, stanowi ważny element strukturalny, mający wpływ na aktywność analgetyczną [3]
- ❑ podstawnik metoksylowy w pozycji 8 ksantyny, odpowiada za silne działanie przeciwbólowe [2]
- ❑ estry etylowe oraz amidy kwasu teofilino-7-octowego oraz kwasu teofilino-7-propionowego, w większości wykazały mniejszą aktywność przeciwbólową oraz przeciwzapalną, w porównaniu do odpowiadających im kwasów [4]
- ❑ trój-cykliczne pochodne ksantyny pirymidyno-puryno-diony, wykazały powinowactwo do receptorów adenozynowych A_{2A}, oraz aktywność przeciwparkinsonową, natomiast trój-cykliczne pochodne ksantyny pirazyno-puryno-diony, nie wykazały powinowactwa do receptorów adenozynowych, oraz nie zabezpieczały przed objawami eksperymentalnego parkinsonizmu [7], [8]

W wyniku przeprowadzonych badań farmakologicznych wyselekcjonowano:

- ❑ 11 Związków, pochodnych teobrominy (**Ph355, Ph357, Ph359, Ph361, Ph364, Ph368, Ph370-Ph374**), o istotnej aktywności przeciwbólowej, przewyższającej lek referencyjny tj. kwas acetylosalicylowy.
- ❑ 7,8-Dipodstawione pochodne teofiliny (**11-14**), zawierające ugrupowanie amidowe oraz benzyloamidowe (**10**), które wykazały istotny efekt analgetyczny (przewyższając lek referencyjny tj. kwas acetylosalicylowy) oraz przeciwzapalny, przy czym związek **10** dodatkowo hamował fosfodiesterazy (PDE).
- ❑ 8-Alkoksylowe pochodne teofiliny z podstawnikiem hydrazydowym (**6-12**), a szczególnie z ugrupowaniem N'-arylideno-hydrazydowym (**9-12**), o istotnej aktywności antynocyceptywnej, przewyższającej lek referencyjny tj. kwas acetylosalicylowy, przy czym dwa z nich; **7** oraz **12** obniżały stężenie TNF- α w osoczu

- 6 Pochodnych kwasów teofilino-7-alkilokarboksylowych (**1-6**), o istotnej aktywności antynocyceptywnej, przeciwzapalnej, przy czym najsilniejszy efekt (przewyższający leki referencyjne) wykazał kwas teofilino-7-octowy (**1**), który silniej niż teofilina hamował PDE oraz silniej niż rolipram hamował PDE4B.
- 8-Alkoksy-7-fenylopiperazyno-alkilowe pochodne teofiliny (**2-5**), o istotnej aktywności analgetycznej (**4** oraz **5**), a nawet, w niewielkim stopniu, wykazujących właściwości ko-analgetyków. Ich właściwości farmakologiczne wynikały prawdopodobnie z wpływu na przekąźnictwo serotoninericzne.
- 4 Związki (**1, 2, 3, 8**), trój-cykliczne pochodne ksantyny (pirymidyno-puryno-diony), o istotnej aktywności przeciwparkinsonowej, wynikającej prawdopodobnie z antagonizmu do receptorów adenylinowych A_{2A} , przy czym najsilniejszy efekt wykazał związek **8** (oznaczony również jako **KD-114**), który tylko nieznacznie słabiej działał w porównaniu z **ZM 241385**, użytym jako lek referencyjny. Dodatkowo związek **8** podwyższał poziom dopaminy i jej metabolitów, tj. DOPAC oraz HVA w prążkowie. Ponadto, wykazał również silny efekt przeciwbólowy oraz przeciwzapalny.

Podsumowując, prowadzone badania skoncentrowane na poszukiwaniu aktywnych analgetycznie pochodnych w grupie ksantyny, doprowadziły do wyselekcjonowania kilku substancji obdarzonych istotną aktywnością biologiczną w modelach *in vivo*, tj. u myszy oraz szczurów. Wyniki tych badań pozwoliły (częściowo) określić korelację pomiędzy strukturą a aktywnością farmakologiczną. Ponadto poszerzone badania działania przeciwzapalnego oraz przeciwparkinsonowego tych związków u gryzoni, jak również uzyskane wyniki badań *in vitro*, wskazały na interesujące struktury wiodące wśród dwu- i trój-pierścieniowych pochodnych ksantyny, oraz pozwoliły na poznanie ich mechanizmu działania. Mogą one w przyszłości znaleźć zastosowanie w chorobie Parkinsona, a szczególnie w tych przypadkach, w patogenezie których istotną rolę odgrywa stan zapalny. Z praktycznego punktu widzenia, badania aktywności farmakologicznej pochodnych ksantyny, być może przyczynią się do dokładniejszego poznania właściwości tych nowych związków. Kontynuowane w tym zakresie eksperymenty, miały na celu wytyczenie nowych kierunków poszukiwania związków, nie tylko o właściwościach przeciwbólowych, przeciwzapalnych, ale również przeciwparkinsonowych. Przeprowadzone badania farmakologiczne doprowadziły do uzyskania nowych, aktywnych preparatów, które po pozytywnych wynikach dalszych eksperymentów, mogą wyłonić związki do badań klinicznych. Ponadto, pozwoliły na ukierunkowanie syntezy chemicznej nowych związków w grupie dwu- i trój-pierścieniowych pochodnych ksantyny. Zastosowany w pracy panel farmakologicznych metod badawczych, może być wykorzystany do badań poszukiwawczych nowych struktur wykazujących ww. właściwości farmakologiczne.

4.6 PIŚMIENNICTWO

1. Barnes PJ: Theophylline. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013 188(8):901-6.
2. Bonuccelli U, Del Dotto P: New pharmacologic horizons in the treatment of Parkinson disease. *Neurology.* 2006, 67, 30-8.
3. Burgess G, Williams D: The discovery and development of analgesics: new mechanisms, new modalities. *J Clin Invest.* 2010, 120,3753 – 3759.
4. Całkosiński I, Dobrzyński M, Całkosińska M: Charakterystyka odczynu zapalnego. *Postępy Hig Med. Dośw.* 2009, 63, 395-408.
5. Chłoń G, Żmudzki P, Pawłowski M, Zygmunt M, Filipek B: Structure-cardiovascular activity relationships in a group of new 8-alkylamino-1,3 dimethyl-7-(2-hydroxy-3-aminopropyl)-3,7-dihydro-1H-purine-2,6-diones. *Pharmacological Reports,* 2011, 63(2), 476-486
6. Conforti F, Sosa S, Marelli M, et al: In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. *J Ethnopharmacol* 2008, 116, 144–151.
7. Constantino LC, Pamplona FA, Matheus FC, et al: Adenosine **A1** receptor activation modulates N-methyl-d-aspartate (NMDA) preconditioning phenotype in the brain. *Behav Brain Res.* 2015, 282, 103-10.
8. Deeks ED: Sufinamide: First Global Approval. *Drugs.* 2015 Apr 8.
9. Dobrogowski J, Przeklasa-Muszyńska A, Kocot-Kępska M: Farmakologiczne leczenie bólu przewlekłego. *Przew Lek.* 2010, 2, 112-120.
10. Dobrogowski J, Zajączkowska R, Dutka J, et al: Patofizjologia i klasyfikacja bólu. *Polski Przegląd Neurologiczny* 2011, 7(1), 20-30.
11. Dubuis E, Wortley MA, Grace MS, Maher SA, Adcock JJ, Birrell MA, Belvisi MG: Theophylline inhibits the cough reflex through a novel mechanism of action. *J Allergy Clin Immunol.* 2014 Jan 7, doi: 10.1016/j.jaci.2013.11.017
12. Dungo R, Deeks E.D: Istradefylline: first global approval. *Drugs* 2013, 73, 875-882.
13. Eid SR, Crown ED, Moore EL, Liang HA, Choong KC, Dima S, Henze DA, Kane SA, Urban MO: HC-030031, a TRPA1 selective antagonist, attenuates inflammatory- and neuropathy-induced mechanical hypersensitivity. *Molecular Pain* 2008, 4, 48-58.
14. Facchinetti F, Patacchini R: The Rising Role of TRPA1 in Asthma. *The Open Drug Discovery Journal* 2010, 2, 71-80.

15. Fasick V, Spengler RN, Samankan S, et al.: The hippocampus and TNF: Common links between chronic pain and depression. *Neurosci Biobehav Rev.* 2015 Apr 7. doi: 10.1016/j.neubiorev.2015.03.014
16. Ferrari LF, Levine JD: Plasma membrane mechanisms in a preclinical rat model of chronic pain. *J Pain.* 2015, 16(1), 60-6.
17. Figueiredo-Pereira ME, Rockwell P, Schmidt-Glenewinkel T, Serrano P: Neuroinflammation and J2 prostaglandins: linking impairment of the ubiquitin-proteasome pathway and mitochondria to neurodegeneration. *Front Mol Neurosci.* 2015 7:104. 1-20
18. Fiorucci S, Distrutti E: Role of PAR2 in pain and inflammation. *Trends in Pharmacological Sciences* 2002, 23 (4), 153-155.
19. Fu SP, Wang JF, Xue WJ et al: Anti-inflammatory effects of BHBA in both in vivo and in vitro Parkinson disease models are mediated by GPR109A-dependent mechanisms. *J Neuroinflammation.* 2015, 2(1), 9.
20. Gao X, Chen H, Schwarzschild MA, Ascherio A: Use of ibuprofen and risk of Parkinson disease. *Neurology* 2011, 76(10), 863-9.
21. Gagne JJ, Power MC: Anti-inflammatory drugs and risk of Parkinson disease: a meta-analysis. *Neurology.* 2010, 74(12), 995-1002.
22. Gyoneva S, Shapiro L, Lazo E, et al.: Adenosine A2A receptor antagonism reverses inflammation-induced impairment of microglial process extension in a model of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* 2014, 67, 191-202.
23. Hama A , Sagen J: Selective antinociceptive effects of a combination of the N-methyl-D-aspartate receptor peptide antagonist [Ser(1)]histogranin and morphine in rat models of pain. *Pharmacol Res Perspect.* 2014, 2(2), e00032.
24. Harada S, Tamura F, Ota S: The Prevalence of Neuropathic Pain in Terminally Ill Patients With Cancer Admitted to a Palliative Care Unit: A Prospective Observational Study. *Am J Hosp Palliat Care.* 2015, Mar 20. pii: 1049909115577353
25. Heim M: Noninterventional study of transdermal fentanyl (fentavera) matrix patches in chronicpain patients: analgesic and quality of life effects. *Pain Res Treat.* 2015, doi: 10.1155/2015/198343
26. Hirst A, Knight C, Hirst M, et al.: Tramadol and the risk of fracture in an elderly female population: a cost utility assessment with comparison to transdermal buprenorphine. *Eur J Health Econ.* 2015 Apr 11.
27. Janes K, Esposito E, Doyle T, et al: A3 adenosine receptor agonist prevents the development of paclitaxel-induced neuropathic pain by modulating spinal glial-restricted redox-dependent signaling pathways. *Pain.* 2014, 155(12), 2560-7.

28. Janes K, Wahlman C, Little JW., et al: Spinal neuroimmune activation is independent of T-cell infiltration and attenuated by A3 adenosine receptor agonists in a model of oxaliplatin-induced peripheral neuropathy. *Brain Behav Immun.* 2015, 44:91-9.
29. Jesse CR, Savegnago L, Nogueira CW: Mechanisms involved in the antinociceptive and anti-inflammatory effects of bis selenide in mice. *J Pharm Pharmacol.* 2009, 61(5), 623-30.
30. Khan MM, Kempuraj D, Thangavel R, Zaheer A: Protection of MPTP-induced neuroinflammation and neurodegeneration by Pycnogenol. *Neurochem Int.* 2013, 2(4):379-88.
31. Khan MI, Walsh D, Brito-Dellan N: Opioid and adjuvant analgesics: compared and contrasted. *Am J Hosp Palliat Care.* 2011, 28(5):378-83
32. Koch P, Akkari R, Brunschweiler A, et al: 1,3-Dialkyl-substituted tetrahydropyrimido[1,2-f]purine-2,4-diones as multiple target drugs for the potential treatment of neurodegenerative disease. *Bioorg Med Chem* 2013, 21, 7435-7452.
33. Lacivita E, Di Pilato P, De Giorgio P, et al: The therapeutic potential of 5-HT1A receptors: a patent review. *Expert Opin Ther Pat.* 2012, 22(8), 887-902.
34. Li JX, Shah AP, Patel SK, Rice KC, France CP: Modification of the behavioral effects of morphine in rats by serotonin 5-HT1A and 5-HT2A receptor agonists: antinociception, drug discrimination, and locomotor activity. *Psychopharmacology (Berl).* 2013, ;225(4), 791-801.
35. Little JW, Ford A, Symons-Liguori AM, et al: Endogenous adenosine A3 receptor activation selectively alleviates persistent pain states. *Brain.* 2015 Jan, 138(1), 28-35.
36. Liu J, Wang LN, McNicol ED: Pharmacological treatment for pain in Guillain-Barré syndrome. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015 Apr 9, 4, CD009950.
37. Materazzi S, Fusi C, Benemei S, Pedretti P, Patacchini R, Nilius B: TRPA1 and TRPV4 mediate paclitaxel-induced peripheral neuropathy in mice via a glutathione-sensitive mechanism. *Pflugers Arch* 2012, 463(4), 561–9.
38. McNamara CR, Mandel-Brehm J, Bautista DM, Siemens J, Deranian KL, Zhao M, Hayward NJ, Chong JA, Julius D, Moran MM, Fanger CM: TRPA1 mediates formalin-induced pain. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007, 104(33), 13525-13530.
39. Mizumura K, Murase S: Role of nerve growth factor in pain. *Handb Exp Pharmacol.* 2015, 227, 57-77.
40. Moilanen LJ, Laavola M, Kukkonen M, Korhonen R, Leppänen T, Högestätt ED, Zygmunt PM, Nieminen RM, Moilanen E: TRPA1 contributes to the acute

- inflammatory response and mediates carrageenan-induced paw edema in the mouse. *Sci Rep* 2012, 2, 380.
41. Morfin BM, Castillo Morfin BM: Theophylline, a new look to an old drug. *Rev Alerg Mex* 2010, 57, 112-22.
 42. Murai N, Tsukamoto M, Tamura S, Aoki T, Matsuoka N: Antinociceptive effects of AS1069562, the (+)-isomer of indeloxazine, on spinal hypersensitivity induced by intrathecal injection of prostaglandin in mice: comparison with duloxetine and amitriptyline. *Eur J Pharmacol.* 2014, 733, 54-61.
 43. Müller T: The safety of istradefylline for the treatment of Parkinson's disease. *Expert Opin Drug Saf.* 2015 Feb 13, 1-7.
 44. Nassini R, Pedretti P, Moretto N, Fusi C, Carnini C, Facchinetti F, Viscomi AR, Pisano AR, Stokesberry S, Brunmark C, Svitacheva N, McGarvey L, Patacchini R, Damholt AB, Geppetti P, Materazzi S: Transient receptor potential ankyrin 1 channel localized to non-neuronal airway cells promotes non-neurogenic inflammation. *PloS One* 2012, 7(8), 42454.
 45. Palacios N, Fitzgerald KC, Hart JE, et al: Particulate matter and risk of Parkinson disease in a large prospective study of women. *Environ Health.* 2014, 13, 80, 1-9.
 46. Paragomi P, Rahimian R, Kazemi MH: Antinociceptive and antidiarrheal effects of pioglitazone in a rat model of diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome: role of nitric oxide. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2014, 41(2), 118-26.
 47. Patil PR, Wolfe J, Said Q, et al: Opioid Use in the Management of Diabetic Peripheral Neuropathy (DPN) in a Large Commercially Insured Population. *Clin J Pain.* 2015, 31(5), 414-24.
 48. Parki A, Stacy M: Istradefylline for the treatment of Parkinson's disease. *Expert Opin Pharmacother* 2012, 13, 111-114.
 49. Pytka K, Zygmunt M, Filipek B: Pharmacotherapy of Parkinson's disease: progress or regress? *Postępy Hig Med Dośw* 2013, 67, 700-8.
 50. Quintanilla RA, Utreras E, Cabezas-Opazo FA: Role of PPAR γ in the Differentiation and Function of Neurons. *PPAR Res.* 2014, 768594. doi: 10.1155/2014/768594.
 51. Rump S., Kleinrok Z.: *Farmakometria - doświadczalne metody badania leków.* Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa 1982
 52. Salat K, Moniczewski A, Librowski T: Nitrogen, oxygen or sulfur containing heterocyclic compounds as analgesic drugs used as modulators of the nitroxidative stress. *Mini Rev Med Chem.* 2013, 13(3),335-352.

53. Sałat K, Filipek B: Antinociceptive activity of transient receptor potential channel TRPV1, TRPA1, and TRPM8 antagonists in neurogenic and neuropathic painmodels in mice. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2015, 16(3), 167-78.
54. Saki M, Yamada K, Koshimura E: In vitro pharmacological profile of the A2A receptor antagonist istradefylline. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2013, 386, 963-972.
55. Schapira AH, Stocchi F, Borgohain R, et al: Long-term efficacy and safety of safinamide as add-on therapy in early Parkinson's disease. *Eur J Neurol*. 2013, 20(2), 271-80.
56. Schapira AH: Monoamine oxidase B inhibitors for the treatment of Parkinson's disease: a review of symptomatic and potential disease-modifying effects. *CNS Drugs*. 2011, 25(12), 1061-71.
57. Schiedel AC, Hinz S, Thimm D, et al.: The four cysteine residues in the second extracellular loop of the human adenosineA2B receptor: role in ligand binding and receptor function. *Biochem Pharmacol*. 2011, 82(4), 389-99.
58. Savi C, Cox RJ, Warner DJ, Cook AR, Dickinson MR, McDonough A, Morrill LC, Parker B, Andrews G, Young SS, Gilmour PS, Riley R, Dearman MS: Efficacious inhaled PDE4 inhibitors with low emetic potential and long duration of action for the treatment of COPD. *J Med Chem*. 2014 Apr 30.
59. Solek-Pastuszka J, Zagrodnik-Ulan E, Bohatyrewicz R, Celewicz Z: Remifentanyl for labour pain relief. *Anaesthesiol Intensive Ther*. 2015, 47(1), 82-6.
60. Tao W, Chen Q, Wang L, et al: Brainstem BDNF Signaling is Required for Histone Deacetylase Inhibitor-Induced PainRelief. *Mol Pharmacol*. 2015 Apr 7. pii: mol.115.098186.
61. Taylor-Cark TE, Udem BJ, Macglashan DW, Ghatta SMichael J Carr, M Allen McAlexander: Prostaglandin-induced activation of nociceptive neurons via direct interaction with transient receptor potential A1 (TRPA1). *Molecular Pharmacology* 2008, 73, 274-81.
62. Zagórska A, Fhid O, Pawłowski M, Filipek B, Zygmunt M: The Cardiovascular Properties of Some Amide Derivatives of Pyrimidin-8-on[2,1-f]theophylline-9-Alkylcarboxylic Acids. *Letters in Drug Design & Discovery*, 2006, 3(5), 346-350.
63. Zhang Y, Zhang R, Qiao S, Fan J: Resolvin D2 recovers neural injury by suppressing inflammatory mediators expression in lipopolysaccharide-induced Parkinson's disease rat model. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015, doi: 10.1016/j.bbrc.2015.03.109

64. Zhang L, Liu X, Wang X, et al.: Insight into the binding mode and the structural features of the pyrimidine derivatives as human A_{2A} adenosine receptor antagonists. *Biosystems* 2014, 115, 13-22.
65. Zygmunt M, Żmudzki P, Chłoń-Rzepa G, Sapa J, Pawłowski M: Synthesis and Analgesic Activity of 3,7-dimethylpurine-2,6-dione-1-yl Derivatives of Acetic and Butanoic Acid. *Letters in Drug Design & Discovery*, 2014a, 11(10), 1204-1213.
66. Zygmunt M, Chłoń-Rzepa G., Sapa J: Analgesic and Anti-inflammatory Activity of 7-Substituted purine-2,6-diones. *Pharmacological Reports*, 2014b, 66(6), 996-1002.
67. Zygmunt M, Sapa J, Chłoń-Rzepa G, Zagórska A, Siwek A, Pawłowski M, Nowak G: 7-3-Chlorophenylpiperazinylalkyl derivatives of 8-alkoxy-purine-2,6-dione as a serotonin receptor ligands with potential antidepressant activity. *Pharmacological Reports*, 2014c, 66(3), 505-510.
68. Zygmunt M, Chłoń-Rzepa G, Sapa J, Pawłowski M: Analgesic Activity of New 8-Methoxy-1,3-dimethyl-2,6-dioxo-purin-7-yl Derivatives with Carboxylic, Ester or Amide Moieties. *Pharmacological Reports*, 2015a, 67(1), 9-16.
69. Zygmunt M, Gołombiowska K, Drabczyńska A, Kieć-Kononowicz K, Sapa J: Anti-inflammatory, antioxidant, and antiparkinsonian effects of adenosine A_{2A} receptor antagonists. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2015b, 132, 71-78.
70. Valhondo M, Marco I, Martín-Fontecha M, et al.: New serotonin 5-HT_{1A} receptor agonists endowed with antinociceptive activity in vivo. *J Med Chem*. 2013, 56(20), 7851-61.
71. Wang Y, Cao SE, Tian J, Liu G, Zhang X, Li P: Auraptenol attenuates vincristine-induced mechanical hyperalgesia through serotonin 5-HT_{1A} receptors. *Sci Rep*. 2013, 3, 3377.
72. Walt MM, Terre Blanche G, Petzer A, Lourens A, Petzer JP: The adenosine A_{2A} antagonistic properties of selected C8-substituted xanthines. *Bioorganic Chemistry* 2013, 49, 49-58.
73. Yau MK, Liu L, Fairlie DP: Toward drugs for protease-activated receptor 2 (PAR2). *J Med Chem*. 2013, 56(19), 7477-97.
74. Walt MM, Terre Blanche G, Petzer A, Lourens A, Petzer JP: The adenosine A_{2A} antagonistic properties of selected C8-substituted xanthines. *Bioorganic Chemistry* 2013, 49, 49-58.
75. Valera E, Mante M, Anderson S, Rockenstein E, Masliah E: Lenalidomide reduces microglial activation and behavioral deficits in a transgenic model of Parkinson's disease. *J Neuroinflammation*. 2015, 12, 93.

76. Yau MK, Liu L, Fairlie DP: Toward drugs for protease-activated receptor 2 (PAR2). *J Med Chem.* 2013, 56(19), 7477-97.

IV. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

1. Działalność naukowa przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych

Po ukończeniu studiów Na Wydziale Farmaceutycznym, podjęłam pracę w Katedrze Farmakodynamiki. Pracując początkowo na etacie naukowo-technicznym, a następnie na etacie asystenta, byłam kierownikiem projektów badań własnych dotyczących właściwości farmakologicznych (przeciwarytmicznych i hipotensyjnych) nowych 7,8-dipodstawionych pochodnych teofiliny. W związku z tą tematyką badawczą powstała 1 publikacja opublikowana w czasopiśmie naukowym z Listy Filadelfijskiej o współczynniku *Impact Factor* **0.947** oraz 8 komunikatów zjazdowych, które prezentowałam na konferencjach polskich oraz międzynarodowych.

Od wielu lat moje zainteresowania naukowe koncentrują się na badaniach aktywności przeciwarytmicznej pochodnych hydantoiny. W związku z tą tematyką badawczą powstały 4 publikacje opublikowane w czasopismach naukowych z Listy Filadelfijskiej o łącznym współczynniku *Impact Factor* **6.269** oraz 9 komunikatów zjazdowych, które prezentowałam na konferencjach polskich i międzynarodowych oraz 1 patent i 1 zgłoszenie patentowe:

- Pękala E, Kieć-Kononowicz K, Budzowski T, Filipek B., **Zygmunt M**: Patent Nr 1889155 na wynalazek pt. „N³-aminoalkilo pochodne (Z)-5-arylidenohydantoiny”. Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej, Warszawa, dnia 21 września **2005** r.
- Pękala E, Kieć-Kononowicz K, Filipek B, Sapa J, **Zygmunt M**: Nowe związki pochodne kwasów (Z)-5-(aryliden)-3-imidazolidyno-2,4-dionooctowych lub hydroksyetylopiperazynamidów (Z)-5(aryliden)-3-imidazolidyno-2,4-dionooctowych. PL 187202 (B1) C07D 233/96 COD 403/12, WUP 06/04, Warszawa 30.06.**2004**

Poza pracą badawczą, która zawsze przynosiła mi wiele satysfakcji z prawdziwą przyjemnością zajmowałam się i zajmuję nadal dydaktyką, prowadząc zajęcia ze studentami IV roku Analizy Medycznej Wydziału Farmaceutycznego z przedmiotu farmakologia.

Praca magisterska pt. „Aktywność przeciwarytmiczna i hipotensyjna 7,8-dipodstawionych pochodnych teofiliny” której byłam opiekunem, uzyskała II nagrodę Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego w 2002 roku.

Prowadziłam także wykłady w ramach Szkoleń Podyplomowych dla farmaceutów z tematu “Współczesna farmakoterapia osteoporozy”.

1.1 Wykaz publikacji w czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym, opublikowanych przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych

- [1] Ciechanowicz-Rutkowska M, Stadnicka K, Kieć-Kononowicz K, Byrtus H, Filipek B, **Zygmunt M**, Maciąg D: Structure-activity relationship of some new anti-arrhythmic phenytoin derivatives. **Archiv der Pharmazie**, **2000**, 333, 357-364. (IF₂₀₀₀ **0.923**; MNiSW₂₀₀₀ **8 pkt.**)
- [2] Śladowska H, Szkatuła D, Filipek B, Maciąg D, Sapa J, **Zygmunt M**: Synthesis and properties of 2-(4-substituted)butyl derivatives of some 2,3-dihydro-1,3-dioxo-1H-pyrrolo [3,4-c]pyridine. **Pharmazie**, **2001**, 56(2), 133-138. (IF₂₀₀₁ **0.498**; MNiSW₂₀₀₁ **7 pkt.**)
- [3] Krośniak M, Zachwieja Z, Filipek B, **Zygmunt M**, Gryboś R: Effect of oxovanadium (IV) complexes in nondiabetic and streptozotocin-diabetic rats. **Archiv der Pharmazie**, **2001**, 334(12), 373-377. (IF₂₀₀₁ **0.891**; MNiSW₂₀₀₁ **8 pkt.**)
- [4] Malawska B, Kulig K, Filipek B, Sapa J, Maciąg D, **Zygmunt M**, Antkiewicz-Michaluk L: Synthesis, antiarrhythmic, and antihypertensive effects of novel 1-[2-hydroxy- or 1-[2-acetoxy-3-aryalkylamino)-propyl]-pyrrolidin-2-one derivatives with adrenolytic activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, **2002**, 37(3), 183-195. (IF₂₀₀₂ **1.705**; MNiSW₂₀₀₂ **10 pkt.**)
- [5] Kieć-Kononowicz K, Stadnicka K, Mitka A, Pękala E, Filipek B, Sapa J, **Zygmunt M**: Synthesis, structure and antiarrhythmic properties evaluation of new basic derivatives of 5,5-diphenylhydantoin. **European Journal of Medicinal Chemistry**, **2003**, 38(6), 555-566. (IF₂₀₀₃ **1.681**; MNiSW₂₀₀₃ **10 pkt.**)
- [6] Dyląg T, **Zygmunt M**, Maciąg D, Handzlik J, Bednarski M, Filipek B, Kieć-Kononowicz K: Synthesis and evaluation of in vivo activity of diphenylhydantoin basic derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, **2004**, 39(12), 1013-27. (IF₂₀₀₄ **1.673**; MNiSW₂₀₀₄ **10 pkt.**)
- [7] Chłoń-Rzepa G, Pawłowski M, **Zygmunt M**, Filipek B, Maciąg D: Synthesis and cardiovascular activity of new 8-alkylamino-1,3-dimethyl-7-(2-hydroxy-3-piperazinopropyl)-3,7-dihydro-1H-purine-2,6-diones. **Polish Journal of Pharmacology**, **2004**, 56(6), 755-766. (IF₂₀₀₄ **0.947**; MNiSW₂₀₀₄ **8 pkt.**)
- [8] Pękala E, Stadnicka K, Broda A, **Zygmunt M**, Filipek B, Kieć - Kononowicz K: Synthesis, structure-activity relationship of some new anti-arrhythmic 5-arylidene imidazolidine-2,4-dione derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, **2005**, 40(3), 259-69. (IF₂₀₀₅ **2.022**; MNiSW₂₀₀₄ **20 pkt.**)

2. Działalność naukowa po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych

2.1 Publikacje w czasopismach naukowych międzynarodowych i krajowych inne niż przedstawione w punkcie III/2

- [1] Zagórska A, Fhid O, Pawłowski M, Filipek B, **Zygmunt M**: The Cardiovascular Properties of Some Amide Derivatives of Pyrimidin-8-on[2,1-f]theophylline-9-Alkylcarboxylic Acids. **Letters in Drug Design & Discovery**, **2006**, 3(5), 346-350. (Czasopismo z Listy Filadelfijskiej nieposiadające IF; MNiSW₂₀₀₆ **3 pkt.**)
- [2] Bazyłko A, **Zygmunt M**, Sapa J, Strzelecka H, Filipek B: Determination of spasmolytic and antispasmodic activities of thyme extracts and one of their major components, rosmarinic acid, in isolated rabbit ileum and isolated rat

- aorta. **Acta Biologica Cracoviensia Series Zoologia**, 2009, 51, 49-54. (Czasopismo z Listy Filadelfijskiej nie posiadające IF; MNiSW₂₀₀₉ 6 pkt.)
- [3] Sapa J, Librowski T, Dudek M, Bednarski M, **Zygmunt M**, Nowiński L, Filipek B, Szkatuła D: The influence of di- and tri-heterocyclic derivatives on the inflammatory mediators PGE2 and LTB4. **Acta Biologica Cracoviensia Series Zoologia**, 2010, 52, 31-35. (Czasopismo z Listy Filadelfijskiej nieposiadające IF; MNiSW₂₀₁₀ 6 pkt.)
- [4] **Zygmunt M**, Filipek B: Nowe Leki Przeciwpłytkowe. **Czasopismo Aptekarskie**, 2010, 17(7-8), 31-42. (MNiSW₂₀₁₀ 6 pkt.)
- [5] Chłoń G, Żmudzki P, Pawłowski M, **Zygmunt M**, Filipek B: Structure-cardiovascular activity relationships in a group of new 8-alkylamino-1,3 dimethyl-7-(2-hydroxy-3-aminopropyl)-3,7-dihydro-1H-purine-2,6-diones. **Pharmacological Reports**, 2011, 63(2), 476-486. (IF₂₀₁₁ 2.445; MNiSW₂₀₁₁ 25 pkt.)
- [6] Handzlik J, Bajda M, **Zygmunt M**, Maciąg D, Dybała M, Bednarski M, Filipek B, Malawska B, Kieć-Kononowicz K: Antiarrhythmic properties of phenylpiperazine derivatives of phenytoin with $\alpha(1)$ -adrenoceptor affinities. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, 2012, 20(7), 2290-303. (IF₂₀₁₂ 2.903; MNiSW₂₀₁₂ 30 pkt.)
- [7] **Zygmunt M**, Filipek B: Szczepienia obowiązkowe i zalecane – za i przeciw. **Farmacja Szpitalna/Kliniczna** 2011, 3-4 (20-21), 31 – 48. (MNiSW₂₀₁₁ 4 pkt.)
- [8] Tęšiorowski M, Sapa J, **Zygmunt M**: Bisfosfoniany – skuteczne leczenie osteoporozy oraz bólu kostnego. **Czasopismo Aptekarskie**, 2012, 1, 217, 36-43. (MNiSW₂₀₁₂ 4 pkt.)
- [9] Kwiecień B, Dudek M, Bilska-Wilkosz A, Knutelska J, Bednarski M, Kwiecień I, **Zygmunt M**, Iciek M, Sokołowska-Jeżewicz M, Sapa J, Włodek L: In Vivo Anti-inflammatory Activity of Lipoic Acid Derivatives in Mice. **Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej**, 2013, 67, 331-338. (IF₂₀₁₃ 0.633; MNiSW₂₀₁₃ 15 pkt.)
- [10] Tęšiorowski M, Potaczek M, Jasiewicz B, Sapa J, **Zygmunt M**: Metyloprednizolon – ostre urazy rdzenia kręgowego, korzyści czy zagrożenia. **Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej**, 2013, 6, 1732-2693. (IF₂₀₁₃ 0.633; MNiSW₂₀₁₃ 15 pkt.)
- [11] Sapa J, **Zygmunt M**, Krawczyk Ł, Bednarski M, Knutelska J, Dudek M, Nowiński L, Chłoń-Rzepa G, Pawłowski M: Antiarrhythmic and hypotensive activity of new analogues of theophylline. **Medicina Internacia Revuo**, 2013, 25, 25a(100), 129-136. (czasopismo nie posiadające IF oraz MNiSW.)
- [12] Dudek M, Bilska-Wilkosz A, Knutelska J, Mogilski S, Bednarski M, **Zygmunt M**, Iciek M, Sapa J, Bugajski D, Filipek B, Włodek L: Are anti-inflammatory properties of lipoic acid associated with the formation of hydrogen sulfide? **Pharmacological Reports**, 2013, 65(4), 1018-1024. (IF₂₀₁₃ 2.165; MNiSW₂₀₁₃ 25 pkt.)
- [13] **Zygmunt M**, Dudek M, Bilsa-Wilkosz A, Bednarski M, Mogilski S, Knutelska J, Sapa J: Anti-inflammatory activity of lipoic acid in mice peritonitis model. **Acta Poloniae Pharmaceutica. Drug Research**, 2013, 70(5), 899-904. (IF₂₀₁₃ 0.693; MNiSW₂₀₁₃ 15 pkt.)
- [14] Wojnicki M, Luty-Błocho M, Bednarski M, Dudek M, Knutelska J, Sapa J, **Zygmunt M**, Nowak G, Fitzner K: Tissue distribution of gold nanoparticles

- after single intravenous administration in mice. **Pharmacological Reports**, 2013, 65(4), 1033-1038. (IF₂₀₁₃ 2.165; MNiSW₂₀₁₃ 25 pkt.)
- [15] Sapa J, Zygmunt M, Kulig K, Malawska B, Dudek M, Filipek B, Bednarski M, Kusak A, Nowak G: Evaluation of anticonvulsant activity of novel pyrrolidin-2-one derivatives. **Pharmacological Reports**, 2014, 66(4), 708-711. (IF₂₀₁₄ 1.928; MNiSW₂₀₁₄ 25 pkt.)
- [16] Dudek M, Knutelska J, Bednarski M, Nowiński L, Zygmunt M, Bilaska-Wilkosz A, Iciek M, Otto M, Zytka I, Sapa J, Włodek L, Filipek B: Alpha lipoic acid protects the heart against myocardial post ischemia-reperfusion arrhythmias via KATP channel activation in isolated rat hearts. **Pharmacological Reports**, 2014, 66(3), 499-504. (IF₂₀₁₄ 1.928; MNiSW₂₀₁₄ 25 pkt.)
- [17] Zygmunt M, Sapa J, Chłoń-Rzepa G, Zagórska A, Siwek A, Pawłowski M, Nowak G: 7-3-Chlorophenylpiperazinylalkyl derivatives of 8-alkoxy-purine-2,6-dione as a serotonin receptor ligands with potential antidepressant activity. **Pharmacological Reports**, 2014, 66(3), 505-510. (Elsevier; IF₂₀₁₄ 1.928; MNiSW₂₀₁₄ 25 pkt.)
- [18] Łażewska D, Więcek M, Ner J, Kamińska K, Kottke T, Schwed J, Zygmunt M, Karcz T, Olejarz A, Kuder K, Latacz G, Grosicki M, Sapa J, Karolak-Wojciechowska J, Stark H, Kieć-Kononowicz K: Aryl-1,3,5-triazine derivatives as histamine H₄ receptor ligands, **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2014, 83:534-46. (IF₂₀₁₄ 3.447; MNiSW₂₀₁₄ 40 pkt.)
- [19] Pytka K, Rapacz A, Zygmunt M, Olczyk A, Waszkielewicz A, Sapa J, Filipek B. Antidepressant-like activity of a new piperazine derivative of xanthone in the forced swim test in mice: The involvement of serotonergic system. **Pharmacological Reports**, 2015, 67(1), 160-165. (IF₂₀₁₄ 1.928; MNiSW₂₀₁₄ 25 pkt.)
- [20] Żmudzki P, Chłoń-Rzepa G, Bojarski A, Zygmunt M, Kazek G, Mordyl B, Pawłowski M: Structure–5-HT Receptor Affinity Relationship in a New Group of 7-Arylpiperazinylalkyl and 7-Tetrahydroisoquinolinylalkyl Derivatives of 8-Amino-1,3-dimethyl-1H-purine-2,6(3H,7H)-dione. **Archiv der Pharmazie Chemistry in Life Sciences**, 2015, 348, 1-13. (IF₂₀₁₄ 1.531; MNiSW₂₀₁₄ 20 pkt.)
- [21] Bednarski M, Dudek M, Knutelska J, Nowiński L, Sapa J, Zygmunt M, Nowak G, Luty-Błoch M, Wojnicki M, Fitzner K, Tęsiński M: The influence of the route of administration of gold nanoparticles on their tissue distribution and basic biochemical parameters: *In vivo* studies. **Pharmacological Reports**, 2015, 67(3), 405-409. (IF₂₀₁₄ 1.928; MNiSW₂₀₁₄ 25 pkt.)
- [22] Kamińska K, Ziemia J, Ner J, Schwed J, Łażewska D, Więcek M, Karcz T, Olejarz A, Latacz G, Kuder K, Kottke T, Zygmunt M, Sapa J, Karolak-Wojciechowska J, Stark H, Kieć-Kononowicz K: (2-Arylethenyl)-1,3,5-triazin-2-amines as a novel histamine H₄ receptor ligands. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2015, doi: 10.1016/j.ejmech.2015.08.014 (IF₂₀₁₄ 3.447; MNiSW₂₀₁₄ 40 pkt.)
- [23] Bednarski M, Otto M, Dudek M, Siwek A, Zygmunt M, Knutelska J, Nowiński L, Groszek G, Sapa J: Antiarrhythmic activity in occlusion-reperfusion model of 1-(1H-indol-4-ylloxy)-3-{{2-(2-methoxyphenoxy)ethyl}amino} propan-2-ol and its enantiomers. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, 2015 Sep 19. doi: 10.1111/1440-1681.12491 (IF₂₀₁₄ 2.372; MNiSW₂₀₁₄ 20 pkt.)

Łączny Impact Factor publikacji przedstawionych w punkcie 2.1. wynosi 32.06

Łączna liczba punktów MNiSW za publikacje przedstawione w punkcie 2.1 to 418

2.2 Udział w konferencjach naukowych krajowych i międzynarodowych po uzyskaniu tytułu doktora nauk farmaceutycznych

- [1] Mogilski Sz, **Zygmunt M**, Filipek B: The evaluation of pharmacological activity of new tropane derivatives. Molecular and physiological aspects of regulatory processes of the organism : materials of 16th International Symposium of Polish Network of Molecular and Cellular Biology UNESCO/PAS, Cracow, June 4-6, 2007 / ed. by Henryk Lach ; Pedagogical University of Cracow - Kraków : Wydaw. Naukowe AP, 2007 s. 312-314.
- [2] Mogilski Sz, **Zygmunt M**, Filipek B: Ocena aktywności farmakologicznej nowej pochodnej tropanu. XX Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Katowice 25-28 września **2007**, S.08.P-1, s. 234.
- [3] **Zygmunt M**, Chłoń-Rzepa G, Filipek B: Właściwości przeciwdepresyjne nowych pochodnych metyloksantyn. XX Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Katowice 25-28 września **2007**, S.08.P-46, s.282-283.
- [4] Chłoń – Rzepa G, Żmudzki P, Pawłowski M, Duszyńska B, Bojarski A, **Zygmunt M**, Filipek B, Dybała M: 8-Amino-7-phenylpiperazynylalkyl-purine-2,6-diones as serotonin receptor ligands. XII Blue Danube Symposium on heterocyclic Chemistry, Tihany, Hungary, June 10 - 13th, **2007**, Abstracts PO-13.
- [5] Chłoń-Rzepa G, Krupińska M, Żmudzki P, Pawłowski M, **Zygmunt M**, Filipek B: New Theophylline Derivatives with Carboxyl, Ester and Amide Moieties as a Potential Non-steroidal Anti-inflammatory Agents. II Konwersatorium Chemii Medycznej, Lublin, 08-10.09.**2009**, Abstracts P-8
- [6] **Zygmunt M**, Chłoń-Rzepa G, Filipek B, Sapa J, Bednarski M: Antinociceptive and anti-inflammatory properties of New methylxanthine derivatives. The XVIII International Symposium of the Polish Network of Molecular and Cellular Biology, Kraków 17-18 September **2009**, P-II-51, s 33.
- [7] Sapa J, Filipek B, Zygmunt M, Kulig K, Malawska B: Antiarrhythmic activity of novel pyrrolidin-2-one derivatives with adrenolytic properties. Pharmacological Reports **2010**, 62, Supplement S, 98-98.
- [8] Bednarski M, Rażny K, **Zygmunt M**, Rak A, Dudek M, Knutelska J: Validation of selected models of hypertension in rats. XVIII International Congress the Polish Pharmacological Society 23-25 may 2013 Kazimierz Dolny, Pharmacological Reports **2013**, 65,suppl., s.31.
- [9] Drabczyńska A, Karcz T, Szymańska E, Mueller C, Koese M, **Zygmunt M**, Sapa J, Latacz G, Mazurkiewicz J, Stanuch K. Search for adenosine receptors ligands among annelated xanthine derivatives. PURINES 2014: Nucleotides, nucleosides and nucleobases- international conference on signalling, drugs and targets. Purinergic Signalling, **2014**,10, 4, 679-679.

2.3 Referaty wygłoszone na konferencjach i seminariach naukowych

Referat zatytułowany „Opatrunki stosowane w leczeniu odleżyn” wygłoszony na seminarium naukowym, w ramach Zebrania Naukowego Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego i Polskiego Towarzystwa Toksykologicznego, Kraków 2012 r.

2.4 Projekty badawcze prowadzone po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych

RODZAJ PROJEKTU	Projekt badawczy nr UMO-2011/03/B/NZ7/00724 finansowany przez Narodowe Centrum Nauki (NCN)
TYTUŁ	Częściowi agoniści receptorów α -1A/D adrenergicznych jako potencjalne związki poprawiające parametry urodynamiczne w łagodnym przerście gruczołu krokowego
CZAS REALIZACJI	2012 - 2015
CHARAKTER UDZIAŁU	wykonawca badań farmakologicznych, w okresie od 1.12.2013 do 30.06.2014 kierownik projektu

RODZAJ PROJEKTU	Projekt badawczy nr UMO-2011/03/B/NZ7/00635 finansowany przez Narodowe Centrum Nauki (NCN)
TYTUŁ	Częściowi agoniści receptorów alfa-2- adrenergicznych jako nowa perspektywa skutecznego i bezpiecznego zmniejszania masy ciała
CZAS REALIZACJI	2012 - 2015
CHARAKTER UDZIAŁU	wykonawca badań farmakologicznych

RODZAJ PROJEKTU	Projekt badawczy finansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (NCBiR)
TYTUŁ	Nowa nie amyloidowa terapia zaburzeń poznawczych
CZAS REALIZACJI	2015 - 2017
CHARAKTER UDZIAŁU	wykonawca badań farmakologicznych

RODZAJ PROJEKTU	Projekt naukowy nr KB/88/12655/IT1-C/U/08 dofinansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (NCBiR) w ramach programu Inicjatywa Technologiczna, realizowany przy współpracy firmy farmaceutycznej ADAMED
TYTUŁ	"Opracowanie polskiego, innowacyjnego leku stosowanego w terapii schorzeń Ośrodkowego Układu nerwowego: schizofrenii, depresji i leku – badania przedkliniczne"
CZAS REALIZACJI	2008-2012
CHARAKTER UDZIAŁU	wykonawca badań farmakologicznych

RODZAJ PROJEKTU	Projekt naukowy nr UMO-2011/01/B/NZ4/01581 dofinansowany przez Narodowe Centrum Nauki (NCN)
TYTUŁ	"Badania w szczurzym modelu parkinsonizmu wywołanym podaniem 6-OHDA"
CZAS REALIZACJI	2012-2015
CHARAKTER UDZIAŁU	wykonawca badań farmakologicznych

RODZAJ PROJEKTU	Projekt statutowy nr K/ZDS/00330
TYTUŁ	Antagoniści receptorów H4 o potencjalnym działaniu przeciwzapalnym
CZAS REALIZACJI	2012 - 2014
CHARAKTER UDZIAŁU	kierownik projektu

RODZAJ PROJEKTU	Projekt statutowy nr K/ZDS/005548
TYTUŁ	Badania nad anelowanymi pochodnymi ksantyn wykazujących powinowactwo do receptorów A2A
CZAS REALIZACJI	2015 - 2017
CHARAKTER UDZIAŁU	kierownik projektu

RODZAJ PROJEKTU	Projekt badań własnych nr K/ZBW/000619
TYTUŁ	Właściwości farmakologiczne tolperisonu oraz jego regioizomerów
CZAS REALIZACJI	2010 - 2011
CHARAKTER UDZIAŁU	kierownik projektu

RODZAJ PROJEKTU	Projekt badań własnych nr K/ZBW/000243
TYTUŁ	Wpływ nowych pochodnych metyloksantyn na układ serotoninergiczny
CZAS REALIZACJI	2007 - 2009
CHARAKTER UDZIAŁU	Kierownik projektu

2.5 Współpraca naukowa krajowa i zagraniczna

Ośrodek	PharmaCenter Bonn, Pharmaceutical Chemistry I, University of Bonn, Germany
Charakter współpracy	Oznaczenie powinowactwa do receptorów adenozytowych nowych związków chemicznych.

Ośrodek	Katedra i Zakład Chemii Leków, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
Charakter współpracy	Synteza nowych związków chemicznych (pochodnych pirymidyno-karboksy-imidów) przeznaczonych do badań farmakologicznych.

Ośrodek	Katedra Technologii i Materiałoznawstwa Chemicznego, Wydział Chemii, Politechnika Rzeszowska
Charakter współpracy	Synteza nowych związków chemicznych (pochodne tolperisonu) przeznaczonych do badań farmakologicznych.

Ośrodek	Zakład Krystalochemii i Krystalofizyki, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński
Charakter współpracy	Wykonanie analiz krystalograficznych nowych związków chemicznych przeznaczonych do badań farmakologicznych.

Ośrodek	Zakład Neurochemii, Instytut Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie
Charakter współpracy	Wykonanie oznaczenia powinowactwa do receptorów adrenergicznych.

Ośrodek	Katedra Farmakobiologii, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński
Charakter współpracy	Wykonanie oznaczenia powinowactwa do receptorów serotoninergicznych.

3. Nagrody i wyróżnienia

- Brązowy medal za Długoletnią Służbę na Rzecz Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków 2010 r.
- Nagroda Dziekana Wydziału Farmaceutycznego UJ CM za osiągnięcia naukowe w 2013 roku, Kraków 2014 r.
- Nagroda Dziekana Wydziału Farmaceutycznego UJ CM za osiągnięcia naukowe w 2014 roku, Kraków 2015 r.
- Wyróżnienie pracy doktorskiej 2006 r.
- Nagroda Rektora UJ CM za osiągnięcia dydaktyczne w 2015 roku

4. Inna aktywność naukowa

- Prowadzenie szkoleń podyplomowych dla farmaceutów z tematu:
 - „Współczesna farmakoterapia osteoporozy”
 - „Fizjoterapia w chorobach narządu ruchu”
 - „Diagnostyka schorzeń alergicznych”
 - „Materiały opatrunkowe”
 - „Opieka nad pacjentem leżącym”
- Prowadzenie szkoleń dla naukowców prowadzących badania na zwierzętach „Badania kliniczne i przedkliniczne” (Innowacyjna Gospodarka) z tematu:
 - „Fazy badań przedklinicznych i klinicznych”
 - „Etyka wykorzystywania zwierząt w badaniach naukowych”
 - „Przepisy dotyczące prowadzenia badań przedklinicznych”
 - „Standardowe procedury prowadzenia badań przedklinicznych”
 - „Warunki utrzymywania zwierząt laboratoryjnych”

Współautorstwo monografii

- Filipek B, Nowak G, Sapa J, Opoka W, Bednarski M, **Zygmunt M**: Elementy farmakologii ogólnej i wybrane zagadnienia z zakresu farmakoterapii bólu. Kraków: Wydawnictwo Zakład Opieki Zdrowotnej Ośrodek UMEA Shinoda-Kuracejo, **2009**, 1-64, ISBN 83-923432-7-1

Współautorstwo rozdziału monografii

- Filipek B, **Zygmunt M**: Farmakoterapia wirusowego zapalenia wątroby. W: Problemy diagnostyki i terapii chorób przewodu pokarmowego : praca zbiorowa / red. Krzysztof Fyderek, Barbara Filipek. Kraków: Wydawnictwo Zakład Opieki Zdrowotnej Ośrodek UMEA Shinoda-Kuracejo, **2010**, 19-26, ISBN 978-83-931818-2-7

- Filipek **B**, Zygmunt **M**: Leki przeciwwymiotne. W: Problemy diagnostyki i terapii chorób przewodu pokarmowego: praca zbiorowa / red. Krzysztof Fyderek, Barbara Filipek. Kraków: Wydawnictwo Zakład Opieki Zdrowotnej Ośrodek UMEA Shinoda-Kuracejo, **2010**, 27-31, ISBN 978-83-931818-2-7

Recenzowanie prac w czasopismach zagranicznych:

- Experimental Brain Research (IF₂₀₁₄ : 2.168)
- Chiang Mai Journal of Science
- European Journal of Medicinal Chemistry (IF₂₀₁₄ : 3.432)

Przebyte szkolenia:

- „Zaawansowane techniki edukacyjne w naukach medycznych. Kurs zaawansowany. Obiektywny Strukturyzowany Egzamin” – kurs organizowany w ramach projektu „*Pro bono Collegii Medici Universitatis Jagiellonicae*”, 15.05.2012 – 05.06.2012, Kraków
- Szkolenie "*Sophisticated Life Science Research Instrumentation*" - przeprowadzone przez firmę TSE-systems z USA, **2013**, Kraków

Przynależność do towarzystw naukowych:

- Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne
- Polskie Towarzystwo Farmakologiczne

5. Działalność dydaktyczna i organizacyjna

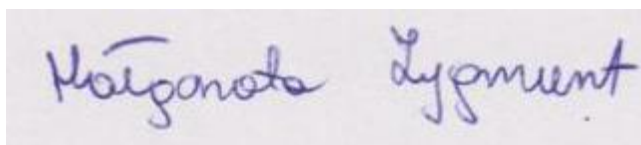
- Prowadzenie zajęć ćwiczeniowych z przedmiotu *farmakologia* dla studentów IV roku na kierunku Analityka Medyczna Wydziału Farmaceutycznego UJ, w tym:
 - przygotowywanie materiałów wizualnych oraz autorskich opracowań tematów ćwiczeniowych dla studentów z zakresu farmakologii
 - opracowanie egzaminacyjnych pytań testowych z zakresu farmakologii
- Opiekun prac magisterskich na kierunku farmacja i analityka medyczna.
- Przygotowanie i prowadzenie zajęć z przedmiotu *farmakologia weterynaryjna* dla studentów III roku na kierunku weterynaria (Stacjonarne, Jednolite Studia Magisterskie w Uniwersyteckim Centrum Medycyny Weterynaryjnej UJ-UR).
- Prowadzenie zajęć z przedmiotu *propedeutyka diagnostyki klinicznej* dla studentów IV roku na kierunku Analityka Medyczna Wydziału Farmaceutycznego UJ
 - przygotowywanie autorskich opracowań tematów ćwiczeniowych dla studentów z zakresu wpływu leków na wyniki badań laboratoryjnych
- Udział w zajęciach praktycznych z metodyki badań naukowych ze studentami Farmacji Przemysłowej.
- Prowadzenie zajęć fakultatywnych „*Wybrane Metody Medycyny Naturalnej-Obiektywne Spojrzenie Na Skuteczność i Bezpieczeństwo Stosowania*” dla studentów II roku Wydziału Farmaceutycznego UJ.

- Prowadzenie zajęć ćwiczeniowych z przedmiotu *farmakologia* dla studentów II roku Zawodowych Studiów Podyplomowych z zakresu Analityki Medycznej w tym:
 - przygotowywanie autorskich opracowań tematów ćwiczeniowych dla studentów z zakresu farmakologii
 - opracowanie egzaminacyjnych pytań testowych z zakresu farmakologii
- Opieka merytoryczna nad studentką Marią Teresą de Acuną Moreno z Wydziału Farmaceutycznego w Madrycie w ramach programu wymiany studenckiej Erasmus.
- Prowadzenie zajęć z metodyki badań naukowych z słuchaczami II roku studiów doktoranckich.
- Organizacja Festiwalu Nauki w UJ CM w 2006 roku
- Opiekun IV roku Stacjonarnych Jednolitych Studiów magisterskich (5-letnie) na kierunku analityka medyczna w roku akademickim 2009/2010.
- Członek Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych.

6. Aktualnie prowadzone badania i plany naukowe na przyszłość

Kolejny kierunek prowadzonych aktualnie badań, to próba ustalenia roli kanałów TRPA1, w mechanizmach działania aktywnych struktur. Planuję oznaczenie ich interakcji z kanałem jonowym TRPA1. Badanie to umożliwi odpowiedź na pytanie, czy badane związki są antagonistami tych kanałów. Planuję również oznaczenie wpływu pochodnych ksantyny na aktywność deacetylazy histonowej.

Następny kierunek badań farmakologicznych, będzie polegał na dalszych poszukiwaniach nowych struktur, wykazujących aktywność przeciwparkinsonową, poprzez antagonizm w stosunku do receptorów adenylinowych A_{2A} , które jednocześnie będą wykazywać aktywność inhibitorów monoaminoooksydazy typu B. Będą one podawane w eksperymentalnych modelach, np. test katalepsji, oznaczenie poziomu dopaminy i jej metabolitów, tj. DOPAC oraz HVA w prążkowiu. Obecnie jestem w trakcie takich badań.



Marjona Zygmunt