



UNIwersytet JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM

**Efekty funkcjonalne częściowego agonisty receptorów
5-HT₆ w aspekcie jego potencjalnych właściwości
przeciwdepresyjnych i przeciwlękowych**

AUTOREFERAT

Magdalena Jastrzębska-Więsek

Zakład Farmacji Klinicznej
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

Kraków 2018

SPIS TREŚCI

1. Imię i Nazwisko.....	3
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytuł rozprawy doktorskiej.....	3
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.....	3
4. Wskazanie osiągnięcia naukowego, wynikającego z art. 16 ust. 2 Ustawy z dnia 14.03.2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (dz.u. 2016 r. poz 882 ze zm. w dz. u. z 2016 r. poz 1311).....	3
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego.....	3
4.2. Wykaz publikacji będących podstawą rozprawy habilitacyjnej.....	4
4.3. Prezentacja wyników i streszczenie prac stanowiących podstawę habilitacji.....	6
4.3.1. Wprowadzenie do prac stanowiących podstawę habilitacji.....	6
4.3.2. Cel badań habilitacyjnych.....	12
4.3.3. Wyniki badań, dyskusja i podsumowanie	14
4.3.4. Podsumowanie.....	25
4.3.5. Piśmiennictwo.....	26
5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych	33
5.1. Działalność naukowa przed uzyskaniem stopnia doktora	33
5.2. Działalność naukowa po uzyskaniu stopnia doktora	34
5.3. Udział w projektach badawczych	39
5.4. Podsumowanie całego dorobku naukowego.....	41
5.5. Przebyte szkolenia i kursy.....	41
5.6. Recenzje prac naukowych.....	42
5.7. Organizacje naukowe	42
5.8. Staże naukowe.....	42
5.9. Współpraca naukowa.....	42
6. Nagrody i wyróżnienia	43
7. Działalność dydaktyczna i organizacyjna	43

1. IMIĘ I NAZWISKO.

Magdalena Jastrzębska-Więsek

2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE Z PODANIEM NAZWY, MIEJSCA I ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁ ROZPRAWY DOKTORSKIEJ.

- **doktor nauk farmaceutycznych** - Katedra Farmakodynamiki Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum, Kraków dn. 18.12.2006 r.
Tytuł rozprawy doktorskiej: „Farmakologiczna ocena aktywności ośrodkowej, miejscowo znieczulającej oraz krążeniowej nowych, chiralnych, aminobutanolowych pochodnych ksantonu”.
Promotor prof. dr hab. Ryszard Czarnecki
- **Magister farmacji** - Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie, w zakresie farmacji klinicznej, Kraków 13.07.1998 r.

3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

01.10.2010 i nadal - adiunkt w Zakładzie Farmacji Klinicznej, Wydział Farmaceutyczny UJ CM

01.10.2007-30.09.2010 - adiunkt w Katedrze Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny UJ CM

01.09.1998-30.09.2010 - asystent w Katedrze Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny UJ CM

4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO, WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY

Z DNIA 14.03.2003R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ

O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI (DZ.U. 2016 R. POZ 882 ZE ZM. W DZ. U. Z 2016 R. POZ 1311).

4.1. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

Podstawę niniejszej habilitacji stanowi cykl 7 publikacji, w tym 6 oryginalnych oraz 1 przeglądowej, powiązanych tematycznie, przedstawionych jako osiągnięcie naukowe w punkcie

4.2. (P-1 – P-7) o wspólnym tytule:

„Efekty funkcjonalne częściowego agonisty receptorów

5-HT₆ w aspekcie jego potencjalnych właściwości

przeciwdepresyjnych i przeciwłękowych”

4.2. WYKAZ PUBLIKACJI BĘDĄCYCH PODSTAWĄ ROZPRAWY HABILITACYJNEJ
(autor/autorzy, tytuł publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa)

- [P-1.]** Wesołowska A, **Jastrzębska-Więsek M.** Behavioral pharmacology: potential antidepressant and anxiolytic properties. *Int Rev Neurobiol*, **2011**, 96: 49-71.
(Elsevier, IF₂₀₁₁= 2,352 MNiSW₂₀₁₁ = 20 pkt)
- [P-2.]** **Jastrzębska-Więsek M**, Siwek A, Kazek G, Nawieśniak B, Partyka A, Marcinkowska M, Kołaczkowski M, Wesołowska A Partial agonist efficacy of EMD386088, a 5-HT₆ receptor ligand, in functional *in vitro* assays. *Pharmacol Rep*, **2013**, 65 (4): 998-1005.
(Elsevier, IF₂₀₁₃= 2,165; MNiSW₂₀₁₃ = 25 pkt)
- [P-3.]** **Jastrzębska-Więsek M**, Siwek A, Partyka A, Szewczyk B, Sowa-Kućma M, Wasik A, Kołaczkowski M, Wesołowska A Antidepressant-like activity of EMD 386088, a 5-HT₆ receptor partial agonist, following systemic acute and chronic administration to rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, **2015**, 388(10): 1079-1088.
(Springer, IF₂₀₁₅= 2,376; MNiSW₂₀₁₅ = 25 pkt)
- [P-4.]** **Jastrzębska-Więsek M**, Siwek A, Partyka A, Antkiewicz-Michaluk L, Michaluk J, Romańska I, Kołaczkowski M, Wesołowska A Study of a mechanism responsible for potential antidepressant activity of EMD 386088, a 5-HT₆ partial agonist in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, **2016**, 389(8): 839-849.
(Springer, IF₂₀₁₆=2,558; MNiSW₂₀₁₆ = 25 pkt)
- [P-5.]** **Jastrzębska-Więsek M**, Siwek A, Partyka A, Kołaczkowski M, Walczak M, Smolik M, Latacz G, Kieć-Kononowicz K, Wesołowska A Study on the effect of EMD386088, a 5-HT₆ receptor partial agonist, in enhancing the anti-immobility action of some antidepressants in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, **2018**, 391(1): 37-49.
(Springer, IF₂₀₁₈= 2,558; MNiSW₂₀₁₈ = 25 pkt)
- [P-6.]** **Jastrzębska-Więsek M**, Gdula-Argasińska J, Siwek A, Partyka A, Szewczyk B, Kołaczkowski M, Wesołowska A. Chronic antidepressant-like effect of EMD386088, a partial 5-HT₆ receptor agonist, in olfactory bulbectomy model may be connected with BDNF and/or CREB signalling pathway. *Pharmacol Rep*, **2018**, w druku <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2018.05.009>
(Elsevier, IF₂₀₁₈=2,587 MNiSW₂₀₁₈ = 25pkt)

[P-7.]Jastrzębska-Więsek M, Siwek A, Partyka A, Kubacka M, Mogilski Sz, Wasik A, Kołaczkowski M, Wesołowska A. Pharmacological evaluation of the anxiolytic-like effects of EMD386088, a partial 5-HT₆ receptor agonist, in the rat elevated plus-maze and Vogel conflict tests. *Neuropharmacology*, **2014**, 85: 253-262.
(Elsevier, IF₂₀₁₄= 5,106; MNiSW₂₀₁₄ = 40 pkt)

Publikacje [P-1] – [P-7] przedstawione powyżej, będące podstawą osiągnięcia habilitacyjnego posiadają:

- * **sumaryczny Impact Factor = 19,702**
- * **sumę punktów MNiSW =185**

Wszystkich prac eksperymentalnych [P-2] do [P-7] jestem pierwszym autorem i autorem korespondencyjnym. Mój średni udział procentowy w publikacjach cyklu jednotematycznego stanowi 70%.

4.3. PREZENTACJA WYNIKÓW I STRESZCZENIE PRAC STANOWIĄCYCH PODSTAWĘ HABILITACJI

4.3.1. WPROWADZENIE DO PRAC STANOWIĄCYCH PODSTAWĘ HABILITACJI

Serotonina (5-hydroksytryptamina, 5-HT) jest monoaminergicznym przekaźnikiem występującym w organizmie człowieka i zwierząt, pełniącym istotną rolę w regulacji wielu procesów, zarówno fizjologicznych, jak i patologicznych. Jej wpływ fizjologiczny zaznacza się w kontroli takich funkcji jak: sen, czuwanie, rytmy biologiczne, uczenie się i pamięć, stany emocjonalne, pobieranie pokarmu oraz ból. Również zachowania seksualne, układ krążenia, napięcie mięśni gładkich i procesy termoregulacji pozostają pod wpływem układu serotonergicznego. Zmiany funkcjonalne w układzie serotonergicznym mogą stanowić podłoże etiologiczne wielu chorób takich jak: depresja, zaburzenia lękowe, schizofrenia, migrena, bulimia czy anoreksja oraz choroby neurodegeneracyjne (np. choroba Parkinsona, choroba Alzheimera) [1,2]. 5-HT wywiera swoje działanie poprzez aktywację receptorów serotonergiczných, wśród których wyróżnia się 7 głównych typów, a dostępna obecnie wiedza i techniki badawcze umożliwiły sklonowanie 14 strukturalnie i farmakologicznie odrębnych podtypów tych receptorów. Sklonowane do chwili obecnej receptory 5-HT, z wyjątkiem rodziny 5-HT₃ związanej bezpośrednio z kanałem jonowym, należą do receptorów metabotropowych, związanych z białkiem G (GPCR, ang. *G-protein-coupled receptors*). Odmienny mechanizm działania i sposób przekazywania sygnału do wnętrza komórki wynika z różnej budowy i funkcji receptorów 5-HT. Do receptorów hamujących aktywność cykazy adenylanowej (AC, ang. *adenylyl cyclase*), poprzez białko G_{i/o}, należą receptory rodziny 5-HT₁ oraz 5-HT₅, a do aktywujących ten enzym poprzez białko G_s – receptory 5-HT₄, 5-HT₆ i 5-HT₇. Natomiast odrębnym mechanizmem aktywacji charakteryzują się receptory 5-HT₂, które poprzez białko G_q działają na szlak związany z fosfolipazą C [1,2].

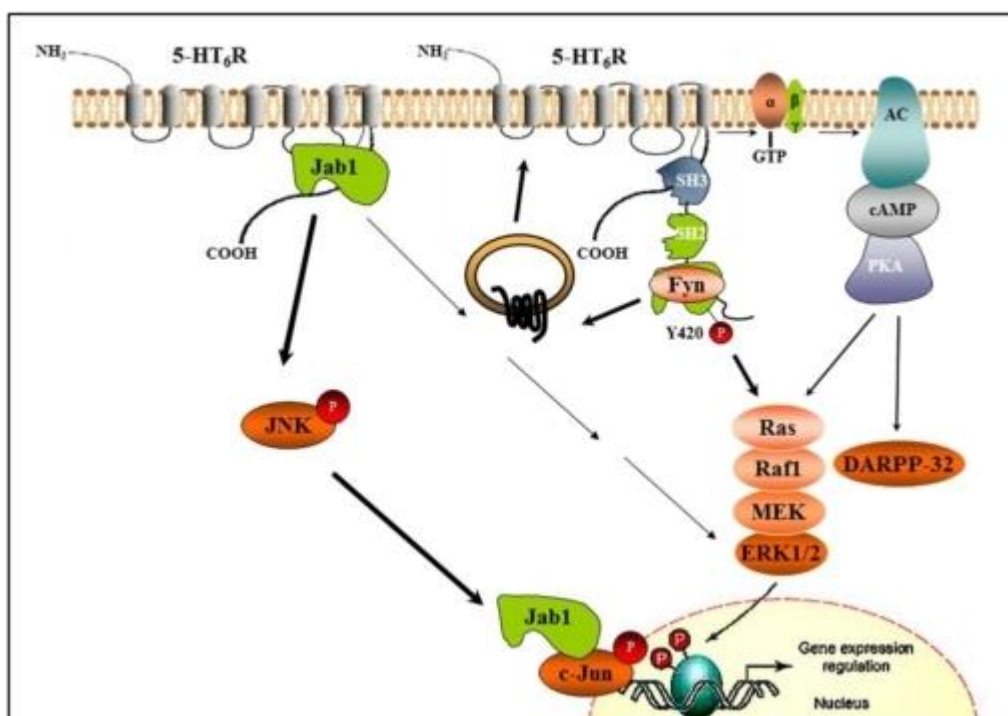
Receptory 5-HT₆ zostały odkryte w mózgu szczura przez dwie niezależne grupy badawcze w 1993 roku [3,4]. W 1996 roku potwierdzono ich obecność w mózgu człowieka [5], a dopiero w 2001 roku – w mózgu mysim [6]. Receptory 5-HT₆ są zlokalizowane prawie wyłącznie w ośrodkowym układzie nerwowym ssaków, a największe ich zagęszczenie wykazano w mózgu człowieka i szczurów, w takich strukturach jak: prążkowie, jądro półleżące przegrody, opuszki węchowe oraz nieco niższą ekspresję w hipokampie, ciele migdałowatym, korze mózgowej, podwzgórzu i wzgórze. Natomiast w mózgu myszy stwierdzono bardzo niski poziom ekspresji receptorów 5-HT₆ [7] w prążkowie, jądrze półleżącym i korze mózgowej [8]. U ssaków, wykryto jedynie śladową obecność receptorów 5-HT₆ na obwodzie, między innymi w żołądku, śledzionie, grasicy i limfocytach szczura oraz nadnerczach świnki morskiej [3,4,7]. Taka lokalizacja receptorów 5-HT₆ jest niezwykle

korzystna z punktu widzenia ograniczenia ewentualnych, obwodowych działań niepożądanych ligandów tych receptorów, które znalazłyby zastosowanie w terapii.

Receptory 5-HT₆ występują jako receptory postsynaptyczne, zlokalizowane na neuronach nie-serotonergicznym [3,4,9–13]. Taka postsynaptyczna lokalizacja, głównie na neuronach GABAergicznym i glutaminianergicznym [14], dodatkowo czyni interesującymi ligandy tych receptorów w aspekcie ich aktywności farmakologicznej.

Jednym z pierwszych, wykazanych dla receptorów 5-HT₆, szlaków przekazywania sygnału wewnątrzkomórkowego, po aktywacji tego receptora, było pobudzenie AC poprzez białko G_s i wzrost poziomu cAMP. Następnie stwierdzono jeszcze kilka innych ścieżek przekazywania sygnału, między innymi poprzez pobudzenie zależnej od białka Fyn fosforylacji kinaz tyrozynowych ERK 1/2 (ang. *extracellular-signal-regulated kinases*) przez ścieżki zależne od Ras i aktywatora kinaz ERK (ang. *ERK activator kinase*), MEK (ang. *mitogen extracellular kinase*), aktywację fosforylacji czynnika transkrypcyjnego c-Jun poprzez bezpośrednią interakcję z białkiem łączącym domenę – 1 (Jab1), a także ścieżkę związaną z aktywacją kinazy serynowo-treoninowej mTOR (ang. *mammalian target of rapamycin*) [2,15] (Ryc. 1). Tak złożona droga przekazywania sygnału pozwala na udział tego receptora w modulacji szeregu odpowiedzi wewnątrzkomórkowych i jego udział w regulacji morfologii neuronów i plastyczności synaptycznej, szczególnie poprzez modulację epigenetycznych modyfikacji [2].

Ryc. 1. Szlaki przekazywania sygnału poprzez receptory 5-HT₆ wg [16]



Od momentu odkrycia receptora 5-HT₆ zaczęły pojawiać się prace, w których opisywano powinowactwo znanych substancji do jego miejsc wiążących. Okazało się, że niektóre leki przeciwpsychotyczne typowe i atypowe (chlorprotiksen, klozapina, olanzapina, kwetiapina) oraz leki przeciwdepresyjne (mianseryna, amitryptylina, doksepina, klomipramina, nortryptylina) blokują receptory 5-HT₆ [17]. Dlatego związki wykazujące wysokie powinowactwo oraz antagonistyczny profil działania wobec receptorów 5-HT₆ zostały uznane w pierwszej kolejności jako substancje, potencjalnie mogące znaleźć zastosowanie w terapii chorób takich jak schizofrenia czy depresja. Dodatkowo, liczne badania farmakologiczne oraz sama lokalizacja białka receptorowego w prążkowi, układzie limbicznym i innych strukturach ośrodkowych przemawia za zaangażowaniem tych receptorów w regulację nastroju, ale również procesów poznawczych, związanych z pamięcią i uczeniem.

Wydaje się, że obecnie najbardziej zaawansowane są badania prowadzone nad udziałem ligandów receptorów 5-HT₆ w procesach kognitywnych, gdzie tacy antagoniści receptorów 5-HT₆ jak idalopirdyna czy intepirdyna znalazły się w badaniach klinicznych [18–20]. Niestety badania te zakończyły się niepowodzeniem związanym z brakiem istotnej skuteczności tych substancji, stosowanych w połączeniu z donepezilem. Jednak kolejny antagonist receptorów 5-HT₆, związek SUVN-502 znajduje się obecnie w badaniach klinicznych prowadzonych u pacjentów z łagodną postacią choroby Alzheimera jako terapia dodana w leczeniu skojarzonym z donepezilem i memantyną [18].

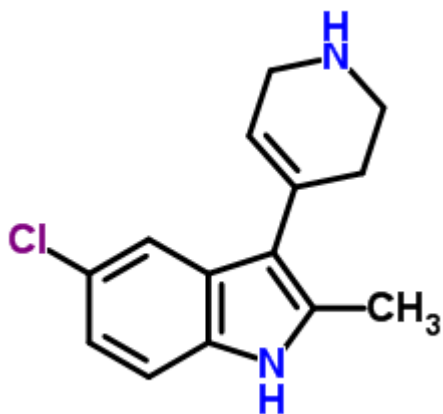
Wykazano również, że receptory 5-HT₆ odgrywają istotną rolę w kontrolowaniu uczucia sytości oraz zachowań żywieniowych [21–23]. Natomiast ligandy receptorów 5-HT₆ wykazują wpływ anorektyczny poprzez pobudzenie ośrodka sytości i hamowanie przyjmowania pokarmu, a przez to zmniejszają masę ciała gryzoni w różnych modelach otyłości [24–28]. Istotną obserwacją, przeprowadzoną przez licznych badaczy, było zmniejszenie pobierania pokarmu indukowane przez ligandy receptorów 5-HT₆ w wyniku pobudzenia naturalnych procesów sytości u zwierząt, co różni te substancje w istotny sposób od mechanizmu anorektycznego działania selektywnych inhibitorów wychwyty zwrotnego noradrenaliny i 5-HT. Przeprowadzone oznaczenia dotyczyły wielu antagonistów receptorów 5-HT₆, między innymi takich jak: Ro 04-6790, MEM 68626, SB 271046, SB 742457, SUVN 504 czy PRX07034. Korzystne efekty wykazano również dla częściowych agonistów receptorów 5-HT₆, związków E6837 oraz EMD 386088 [28–30].

Udział receptorów 5-HT₆ w regulacji nastroju był po raz pierwszy udokumentowany przez Yau i wsp., którzy zademonstrowali, że farmakologiczna blokada syntezy endogennego kortykosteronu przez podanie metyraponu lub aminoglutetimidu, leków stosowanych w opornej depresji, skutkowała up-regulacją ekspresji receptorów 5-HT₆ w hipokampie szczurów [31]. Badania

genetyczne u pacjentów z chorobą afektywną dwubiegunową wykazały polimorfizm w pozycji 267 genu kodującego receptory 5-HT₆ [32]. W miarę rozwoju badań nad ligandami tych receptorów pojawiało się coraz więcej doniesień o potencjalnym przeciwdepresyjnym i/lub przeciwłękowym działaniu agonistów jak i antagonistów receptorów 5-HT₆ [8,33–35]. Takie unikalne działanie wydaje się tematem wyjątkowo ciekawym i wartym pogłębionych studiów. Opracowując materiał do artykułu przeglądowego, którym był rozdział w monografii dotyczącej udziału receptorów 5-HT₆ w różnych funkcjach fizjologicznych i patologicznych [P-1], zwrócono uwagę na niską liczbę danych dotyczących przeciwdepresyjnych i przeciwłękowych efektów agonistów receptorów 5-HT₆ oraz brak informacji na temat mechanizmów obserwowanej aktywności. Ponadto praca ta ułatwiła wybór związku EMD 386088 do badań funkcjonalnych [P-2-P-7].

Związek EMD 386088 (5-chloro-2-metyl-3-(1,2,3,6-tetrahydro-4-pirydynyl)-1*H*-indolol (Ryc. 2) został zsyntetyzowany i opisany po raz pierwszy przez Mattsson i wsp. w 2005 roku jako agonista receptorów 5-HT₆ [36], a od roku 2007 jest substancją narzędziową, dostępną komercyjnie w firmie Tocris. Według danych literaturowych wykazuje on wysokie powinowactwo do receptorów 5-HT₆ (IC₅₀=7,4 nM) oraz istotne – do receptorów 5-HT₃ (IC₅₀=34 nM). W badaniach przeprowadzonych przez Mattsson i wsp. wykazano istotnie niższe powinowactwo związku EMD 386088 do innych receptorów serotonergiczných: 5-HT_{1D} (IC₅₀=110 nM), 5-HT_{1B} (IC₅₀=180 nM), 5-HT_{2A} (IC₅₀=240 nM), 5-HT_{2C} (IC₅₀=450 nM), 5-HT₄ (IC₅₀=620 nM), 5-HT_{1A} (IC₅₀=660 nM) i 5-HT₇ (IC₅₀=3000 nM). Na podstawie analizy funkcjonalnej *in vitro*, w oparciu o generację wtórnego przekaźnika cAMP, wyznaczono aktywność wewnętrzną związku wynoszącą 1 nM kwalifikując go jako pełnego agonistę receptorów 5-HT₆ [36].

Ryc. 2 Wzór chemiczny związku EMD 3860888



x HCl

Lokalizacja receptorów 5-HT₆ w strukturach ośrodkowych, silnie związanych z procesami uczenia się i zapamiętywania, takich jak hipokamp, kora czołowa czy jądro migdałowe [3,4,6], wykazane prokognitywne efekty licznych antagonistów receptorów 5-HT₆ [37–42] jak również doniesienia o podobnym, prokognitywnym działaniu, innych niż EMD 386088, agonistów tych receptorów [43,44], skłoniły do przebadania wpływu związku EMD 386088 na procesy pamięci i uczenia się u gryzoni [45]. Badacze wykazali aktywność związku EMD 386088 po podaniu jednorazowym w odwracaniu zaburzeń pamięci indukowanych skopolaminą lub MK-801 w teście uczenia się warunkowanym strachem (ang. *fear-motivated learning paradigm*) [45]. Poszerzając te badania, Nikiforuk i wsp. wykazali jego aktywność w teście przesunięcia uwagi (ASST, ang. *attentional set-shifting task*) oraz w teście rozpoznawania nowego obiektu (NORT, ang. *novel object recognition task*) u szczurów z zaburzeniami pamięci indukowanymi podaniem ketaminy [46]. Wykonane badania pozwoliły autorom na stwierdzenie, że aktywacja receptorów 5-HT₆ może być skutecznym sposobem poprawy zaburzeń pamięci występujących w przebiegu schizofrenii.

Kontynuując badania nad możliwościami zastosowania ligandów receptorów 5-HT₆ w terapii chorób związanych z zaburzeniami pamięci skupiono się także nad potencjalnymi możliwościami zastosowania związku EMD 386088 w terapii choroby Alzheimera. Jak już wcześniej wspomniano, liczni antagoniści receptorów 5-HT₆ wykazali w badaniach przedklinicznych budzące nadzieję rezultaty, które jednak w przypadku idalopirdyny i intepirdyny nie potwierdziły się w badaniach klinicznych [20]. Jednak z uwagi na pozytywne wyniki eksperymentów (modele zaburzeń pamięci u gryzoni) przeprowadzonych z użyciem agonistów receptorów 5-HT₆, postanowiono przebadać *in vitro* potencjalne działanie neuroprotektoryjne związku EMD 386088 [47]. W pracy tej zastosowano zwalidowany model choroby Alzheimera, w którym indukowano podaniem β -amyloidu₂₅₋₃₅ (A β ₂₅₋₃₅) toksyczność w szczurzych komórkach neuronalnych PC-12 (*Pheochromocytoma*). Pokazano, że zarówno agonista (związek EMD 386088) jak i antagonistą (SB 399885) receptorów 5-HT₆ wykazują podobną, neuroprotektoryjną aktywność, który to paradoks autorzy wiążą z istnieniem alternatywnych szlaków biochemicznych związanych z aktywacją/blokowaniem receptorów 5-HT₆ [2,47].

Przeprowadzone przez Kotańską i wsp. badania związku EMD 386088 wykazały natomiast jego korzystny wpływ na masę ciała i pobieranie pokarmu przez szczury. Przewlekłe podawanie EMD 386088 powodowało zarówno spadek masy ciała jak i przyjmowania kalorii w dwóch modelach otyłości u gryzoni. Dodatkowo korzystnym efektem właściwości farmakologicznych związku EMD 386088 był fakt, że pomimo wzrostu dostępności zewnątrzkomórkowej dopaminy po

jego podaniu, nie obserwowano działań niepożądanych takich jak występowanie nudności u zwierząt, które wiążą się z efektem dopaminomimetycznym. Uzyskane wyniki pozwoliły autorom na stwierdzenie, że działanie hamujące otyłość po podaniu związku EMD 386088 jest istotne i warto poszerzyć badania farmakologiczne z udziałem tej substancji w celu ustalenia jej potencjalnego miejsca w terapii tego schorzenia [30].

EMD 386088 po podaniu do hipokampa szczurów [48] wykazał istotną i specyficzną aktywność przeciwdepresyjną w zmodyfikowanym teście wymuszonego pływania (zmodyfikowany FST, ang. *forced swim test*), jak również przeciwłękową zarówno w teście wykorzystującym bodziec awersyjny (teście konfliktu wg Vogla) jak i modelu wykorzystującym naturalną niechęć gryzoni do przebywania w oświetlonych, otwartych i uniesionych nad podłożem przestrzeniach (test uniesionego labiryntu krzyżowego, EPM, ang. *elevated plus-maze test*). Obserwowana aktywność farmakologiczna była ściśle wiązana z pobudzającym wpływem związku EMD 386088 na receptory 5-HT₆, obecne w hipokampie szczura [48]. Również przeprowadzone badania neurobiologiczne nad udziałem receptorów 5-HT₆ w regulacji aktywności hipokampa, z użyciem między innymi związku EMD 386088, wskazują, że po jego podaniu dochodzi do spadku częstotliwości fal *theta* w hipokampie, co koresponduje z aktywnością jaką wykazują substancje o działaniu przeciwłękowym [49].

Z uwagi na niewielką liczbę specyficznie działających agonistów receptorów 5-HT₆ jako substancji narzędziowych, postęp wiedzy na temat funkcji tych receptorów w ośrodkowym układzie nerwowym jest znacznie utrudniony. W przedstawianym osiągnięciu naukowym podjęto próbę scharakteryzowania efektów funkcjonalnych EMD 386088 w farmakologicznych badaniach przedklinicznych. Interesującym wydawał się fakt, że zarówno agoniści jak i antagoniści receptorów 5-HT₆ wywołują efekty prokognitywne, przeciwdepresyjne, przeciwłękowe oraz mają podobny, hamujący wpływ na pobieranie pokarmu. W świetle tych doniesień określenie mechanizmu działania przeciwdepresyjnego czy powstawania reakcji przeciwłękowej na przykładzie EMD 386088 i porównanie jego mechanizmów z opisanymi w literaturze mechanizmami działania antagonistów receptorów 5-HT₆ w tych aspektach, znacznie poszerzyłoby wiedzę dotyczącą ligandów receptorów 5-HT₆ i pozwoliło na rozróżnienie pośrednich, biochemicznych sposobów działania agonistów i antagonistów tych receptorów.

4.3.2. CEL BADAŃ HABILITACYJNYCH

Celem przedstawionych w niniejszym autoreferacie prac, stanowiących podstawę osiągnięcia habilitacyjnego, była próba ustalenia mechanizmów zaangażowanych w aktywność przeciwdepresyjną i przeciwłękową związku EMD 386088, częściowego agonisty receptorów 5-HT₆, na podstawie farmakologicznych badań behawioralnych i biochemicznych przeprowadzonych u szczurów. Wprowadzenie do tych badań i ich celowość wynika z pracy przeglądowej [P-1], która również ułatwiła wybór substancji EMD 386088 do tych badań. Szczegółowe cele prac oryginalnych [P-2]-[P-7] obejmują:

- potwierdzenie powinowactwa i selektywności związku EMD 386088 wobec receptorów serotoninerdycznych 5-HT₆ metodą wiązania radioligandów *in vitro*, wykazanie częściowej aktywności agonistycznej wobec receptorów 5-HT₆ z wykorzystaniem metod *in vitro* [P-2],
- ocenę aktywności wewnętrznej EMD 386088 wobec receptorów serotoninerdycznych 5-HT₃ przy użyciu modelu izolowanego jelita kawi domowej [P-2],
- ocenę *in silico* stabilności metabolicznej EMD 386088 [P-5],
- ocenę *in vitro* potencjalnych metabolitów związku EMD 386088 oraz jego wpływu na izoenzymy CYP3A4 oraz CYP2D6 cytochromu P-450 [P-5],
- ocenę działania przeciwdepresyjnego związku EMD 386088 po podaniu jednokrotnym (zmodyfikowany test wymuszonego pływania) [P-3],
- ustalenie udziału receptora 5-HT₆ w obserwowanym efekcie przeciwdepresyjnym EMD 386088, poprzez jednoczesne podanie EMD 386088 oraz selektywnego antagonisty receptorów 5-HT₆ związku SB 271046 (zmodyfikowany test wymuszonego pływania) [P-3],
- oznaczenie *ex vivo* wpływu jednokrotnego podania badanego związku na poziomy monoamin takich jak dopamina (DA), 5-HT czy noradrenalina (NA), ich szlaki metaboliczne oraz poziom metabolitów w wybranych strukturach ośrodkowego układu nerwowego takich jak: prążkowie, hipokamp i jądro półleżące z wykorzystaniem metody HPLC oraz oznaczenie powinowactwa *in vitro* EMD 386088 do transportera dopaminowego (DAT) [P-4],
- ustalenie roli układu dopaminergicznego w przeciwdepresyjnym działaniu EMD 386088 poprzez jednoczesne podanie badanej substancji z antagonistami receptorów dopaminergicznych: D₁ (SCH-23390) i D₂ (sulpiryd), (zmodyfikowany test wymuszonego pływania) [P-4],
- wykluczenie udziału układu serotoninerdycznego i noradrenergicznego w przeciwdepresyjnym efekcie EMD 386088 [P-2] i [P-4],

- ocenę aktywności przeciwdepresyjnej EMD 386088 po podaniu trzykrotnym (zmodyfikowany test wymuszonego pływania) oraz wielokrotnym (model bulbektomii) [**P-3**],
- ustalenie biochemicznego mechanizmu przeciwdepresyjnego działania EMD 386088 po podaniu jednorazowym i wielokrotnym poprzez oznaczenie metodą Western blot wpływu związku EMD 386088 na poziom neurotrofin takich jak BDNF i CREB, poziom białka receptora 5-HT₆ oraz cFos w korze przedczołowej i hipokampie [**P-6**],
- ocenę parametrów farmakokinetycznych związku EMD 386088 po jego podaniu jednorazowym w dawce aktywnej przeciwdepresyjnie [**P-5**],
- ocenę możliwości wykorzystania EMD 386088 w terapii addytywnej poprzez zbadanie wpływu jednoczesnego podania badanego związku ze stosowanymi w klinice lekami przeciwdepresyjnymi o różnych mechanizmach działania: imipraminą, reboksetyną, s-citalopramem, bupropionem i moklobemidem (zmodyfikowany test wymuszonego pływania) oraz parametrów farmakokinetycznych dla łącznego podania EMD 386088 i imipraminy [**P-5**],
- ocenę działania przeciwlękowego związku EMD 386088 (test konfliktu wg Vogla, test EPM) [**P-7**],
- ustalenie roli receptora 5-HT₆ w przeciwlękowym działaniu związku EMD 386088, poprzez jednoczesne podanie EMD 386088 oraz selektywnego antagonisty receptorów 5-HT₆ związku SB 271046 (test EPM) [**P-7**],
- wykluczenie interakcji czynnościowej pomiędzy aktywacją receptorów 5-HT₆ a kompleksem receptora GABA_A/benzodiazepiny oraz udziału receptora serotonergicznego 5-HT₃ w przeciwlękowym działaniu EMD 386088 [**P-7**].

4.3.3. WYNIKI BADAŃ, DYSKUSJA I PODSUMOWANIE

4.3.3.1. Badania poszerzone *in vitro* powinowactwa związku EMD 386088 do receptorów serotonergicznym, adrenergicznym, dopaminergicznym, GABAergicznym i opioidowym. Ocena aktywności wewnętrznej wobec receptorów 5-HT₆.

Związek EMD 386088 został opisany po raz pierwszy przez Mattsson i wsp. [36], i sklasyfikowany jako agonista receptorów 5-HT₆ o istotnym powinowactwie również do receptorów 5-HT₃. Postanowiono poszerzyć badania *in vitro* dla tego związku o inne, możliwe i istotne, dla aktywności ośrodkowej nowych substancji, punkty uchwytu, a także powtórnie oznaczono profil aktywności wewnętrznej związku EMD 386088 wobec receptora 5-HT₆ (praca [P-2]).

Metodami radioreceptorowymi *in vitro* oznaczono powinowactwo wobec receptorów serotonergicznym: 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₆ i 5HT₇, adrenergicznym: α_1 , α_2 i β_1 , dopaminergicznym: D₁ i D₃, opioidowym μ oraz GABAergicznym GABA_A. Uzyskane w pracy [P-2] wyniki powinowactwa receptorowego są zgodne z zaprezentowanymi przez Mattsson i wsp. i potwierdzają wysokie oraz selektywne powinowactwo związku EMD 386088 wobec receptorów 5-HT₆, a także umiarkowane powinowactwo wobec receptorów 5-HT₃. Poszerzając profil powinowactwa receptorowego dla związku EMD 386088 w pracy [P-2] wykazano również, że nie posiada on istotnego powinowactwa wobec receptorów serotonergicznym 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} i 5-HT₇, adrenergicznym α_1 , α_2 i β_1 , dopaminowym D₁ i D₃, opioidowym μ oraz GABA_A (Tab.1 w pracy [P-2]).

Następnie oznaczono aktywność wewnętrzną związku EMD 386088 wobec receptorów 5-HT₆ z użyciem metod *in vitro*: poprzez pomiar poziomu cAMP (w dwóch laboratoriach: metodą TR-FRET (ang. *time-resolved fluorescence resonance energy transfer*) w komórkach h5HT₆/1321N1 (w Zakładzie Radioligandów Katedry Farmakobiologii UJ CM) oraz w laboratorium CEREP (Le Bois l'Eveque, 86600 Celle L'Evescault, France) z użyciem komórek CHO w standardowym protokole stosowanym przez to laboratorium), a także poprzez pomiar wewnątrzkomórkowego stężenia wapnia metodą Aequorin w komórkach h5HT₆/CHO-K1 z ekspresją mitochondrialną białka sygnalizacyjnego apoekworyny, Ga16 oraz ludzkiego receptora 5-HT₆ (PerkinElmer). Metoda ta bazuje na mobilizacji jonów wapnia w komórce po zaktywowaniu receptora metabotropowego i uruchomieniu ścieżki sygnalizacyjnej, związanej z fosfolipazą C. We wszystkich przeprowadzonych testach aktywności wewnętrznej (Tab. 2 i Ryc. 1 w pracy [P-2]) uzyskano wyniki wskazujące na częściowo agonistyczne właściwości związku EMD 386088 wobec receptorów 5-HT₆. Uzyskane wyniki różnią się od zaprezentowanych przez Mattsson i wsp., którzy to badacze wskazywali na pełne własności agonistyczne EMD 386088 wobec receptorów 5-HT₆. Powstałą rozbieżność można

tłumaczyć między innymi różnicami w metodyce zastosowanych oznaczeń, a w szczególności rodzajem linii komórkowych wykorzystanych w oznaczeniach poziomu cAMP i zależnego od apoekworyny przepływu wapnia. Dodatkowo, podobne rozbieżności były obserwowane przez innych autorów w przypadku oznaczania aktywności wewnętrznej innych agonistów receptora 5-HT₆ np. WAY181187 i WAY208466 [50,51] czy E-6801 [52,53]. Wydaje się, że na podstawie uzyskanych wyników zaprezentowanych w pracy [P-2] można stwierdzić, że związek EMD 386088 wykazuje wysokie, selektywne powinowactwo do receptorów 5-HT₆ i jedynie nieznaczne do receptorów 5-HT₃. Uzyskane *in vitro* wyniki badań aktywności wewnętrznej dla EMD 386088, po raz pierwszy wskazują na jego częściową agonistyczną aktywność wewnętrzną, co w istotny sposób może wpływać na interpretację uzyskanych *in vivo* wyników badań farmakologicznych.

4.3.3.2. Ocena stabilności metabolicznej, potencjalnych metabolitów i wpływu na izoenzymy cytochromu P-450 związku EMD 386088

Dla związku EMD 386088 nie oznaczono do tej pory jego szlaków metabolicznych, wpływu na izoenzymy cytochromu P-450 oraz stabilności metabolicznej, które są istotnymi czynnikami warunkującymi potencjalne możliwości stosowania nowo-syntetyzowanych struktur. W publikacjach stanowiących podstawę niniejszego osiągnięcia habilitacyjnego wykonano powyższe oznaczenia dla związku EMD 386088 po podaniu jednorazowym z wykorzystaniem metod *in silico* i *in vitro* (praca [P-5]). W oznaczeniach *in silico*, przy pomocy programu MetaSite, zidentyfikowano najbardziej prawdopodobne: miejsca metabolizmu cząsteczki oraz struktury dziesięciu metabolitów związku EMD 386088 (Ryc. 3, 4 i 5 w pracy [P-5]). W oznaczeniach metabolizmu *in vitro*, z użyciem szczurzych mikrosomów wątrobowych, otrzymano pełne chromatogramy mieszaniny reakcyjnej po 30 i 120 min inkubacji ze związkiem EMD 386088. Po 30 minutach wyodrębniono metabolit M-I, natomiast po 120 min obecne były metabolity M I-IV (Ryc. 6 w pracy [P-5]). Wydaje się, że związek EMD 386088 podlega dość szybkiemu metabolizmowi, ponieważ po 120 min testu uległo przemianom ponad 40% związku. Następnie w analizie LC/MS wyznaczono molekularne masy metabolitów EMD 386088 (Ryc. 7 w pracy [P-5]), a następnie porównano je z najbardziej prawdopodobnymi strukturami metabolitów uzyskanymi w oznaczeniach *in silico*. Pozwoliło to na stwierdzenie, że proponowanej *in vitro*, jako główny metabolit związku EMD 386088, strukturze M-I odpowiada masa cząsteczkowa struktury zaproponowanej w oznaczeniu *in silico* jako M5, powstającej w wyniku reakcji dehydrogenacji cząsteczki tetrahydropirydyny w związku EMD 386088. Podobnie masy cząsteczkowe metabolitów M-III i M-IV odpowiadają przedstawionym *in silico* związkom M1, M6 i M10, które to mogą powstawać w procesie utleniania podstawnika

metylowego lub układu tetrahydropirydyny. Nie znaleziono w badaniach *in silico* masy cząsteczkowej, która odpowiadałaby związkowi M-II, jednak wydaje się, że ta struktura może powstawać w wyniku dehydrogenacji metabolitu M-I (Ryc. 4 i 8 w pracy [P-5]). Należy równocześnie pamiętać, że uzyskane tu wyniki przedstawiają jedynie badania prawdopodobieństwa możliwych reakcji i ich korelacji z wygenerowanymi przez program MetaSite strukturami chemicznymi.

Kontynuując badania związku EMD 386088 (praca [P-5]), oznaczono wpływ tej substancji na system izoenzymów cytochromu P-450 takich jak CYP3A4 i CYP2D6. Podtypy izoenzymów cytochromu P-450 zostały wybrane z uwagi na ich zaangażowanie w metabolizm znanych leków przeciwdepresyjnych [54] oraz potencjalny przeciwdepresyjny efekt ligandów receptorów 5-HT₆. Badania zostały wykonane w warunkach *in vitro* z wykorzystaniem ludzkich rekombinowanych izoenzymów CYP3A4 i CYP2D6 cytochromu P-450. Nie wykazano wpływu związku EMD 386088 na izoenzym CYP3A4 oraz bardzo niską, nieistotną pod względem efektów farmakologicznych, aktywność hamującą ($IC_{50}=2.25 \mu\text{M}$) wobec CYP2D6 (praca [P-5]). Uzyskane wyniki pozwalają na stwierdzenie, że związek EMD 386088 w warunkach *in vitro* nie wpływa na pracę takich izoenzymów cytochromu P-450 jak CYP3A4 i CYP2D6, co zmniejsza możliwość niekorzystnych interakcji farmakokinetycznych przy jednoczesnym stosowaniu EMD 386088 z induktorami lub inhibitorami enzymów mikrosomalnych.

4.3.3.3. Ocena działania przeciwdepresyjnego związku EMD 386088 u szczurów

Dla związku EMD 386088 wykazano działanie przeciwdepresyjne po podaniu dohipokampalnym [48], istotnym zatem wydawała się ocena czy powyższy efekt będzie również występował po jednokrotnym podaniu systemowym, w postaci iniekcji dootrzewnowej 30 minut przed testem. Aktywność przeciwdepresyjną związku EMD 386088 po podaniu dootrzewnowym oceniano w zmodyfikowanym FST; [55,56] (praca [P-3]). W pracy posłużono się zmodyfikowanym FST, analogicznie do eksperymentów wykonanych uprzednio przez Nikiforuk i wsp. Analizując wyniki uzyskane w zmodyfikowanym FST wykazano, że związek EMD 386088 podany jednorazowo (w dawce 5 mg/kg, ale nie 1.25 i 2.5 mg/kg; Ryc. 1a w pracy [P-3]) wykazał istotną i specyficzną (brak wpływu na aktywność eksploracyjną zwierząt; Tab. 1 w pracy [P-3]) aktywność przeciwdepresyjną poprzez skrócenie czasu bezruchu i wydłużenie czasu pływania w porównaniu z grupą kontrolną. Za najniższą, aktywną przeciwdepresyjnie dawkę związku EMD 386088 po podaniu jednokrotnym uznano 5 mg/kg (praca [P-3]).

W celu sprawdzenia udziału receptorów 5-HT₆ w obserwowanym efekcie przeciwdepresyjnym powtórzono zmodyfikowany FST w grupie zwierząt, którym jednocześnie podano związek EMD 386088 (5 mg/kg) oraz SB 271046 (antagonistę receptorów 5-HT₆, w dawce 3 mg/kg). Zaobserwowano zniesienie efektu przeciwdepresyjnego (wydłużenie czasu bezruchu) w tej grupie zwierząt w porównaniu z szczurami otrzymującymi jedynie aktywną dawkę EMD 386088 (Ryc. 1c w pracy [P-3]). Uzyskane wyniki pozwalają na stwierdzenie, że aktywność przeciwdepresyjna związku EMD 386088 jest związana z pobudzeniem receptora 5-HT₆ (Ryc. 1b i 1c w pracy [P-3]) i występuje po podaniu systemowym (praca [P-3]).

Następnym etapem badań nad aktywnością przeciwdepresyjną związku EMD 386088 była próba znalezienia biochemicznych mechanizmów tego behawioralnego efektu obserwowanego u szczurów, a zaprezentowanego w pracy [P-3]. W tym celu u zwierząt, u których wykonano zmodyfikowany FST po jednorazowym podaniu związku EMD 386088 zarówno w dawce aktywnej przeciwdepresyjnie (5 mg/kg) jak i nieaktywnej (2.5 mg/kg), przeprowadzono *ex vivo* oznaczenia neurochemiczne metodą HPLC w Zakładzie Neurochemii Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie (praca [P-4]). Badania te zostały przeprowadzone w wybranych strukturach mózgu (hipokampie, prążkowie i jądrze półłożącym). Wybrane do badań struktury mózgu związane są ze szlakami monoaminergicznymi oraz charakteryzują się wysoką ekspresją mRNA dla receptora 5-HT₆. W badaniach starano się odpowiedzieć na pytanie czy i w jaki sposób ewentualne zmiany w poziomie monoamin (NA, 5-HT i DA) oraz ich metabolitów (dla NA: 3-metoksy-4-hydroksyfenyloglikolu (MOPEG), normetanefryny (NMN); dla 5-HT: kwasu 5-hydroksyindoloctowego (5-HIAA); dla DA: kwasu homowanilinowego (HVA), kwasu 3,4-dihydroksyfenylooctowego (DOPAC) i 3-metoksytyraminy (3-MT)), a także szybkości metabolizmu tych neuroprzekazników wpływają na obserwowany *in vivo*, w zmodyfikowanym FST, efekt przeciwdepresyjny związku EMD 386088. Na podstawie badań opisanych w pracy [P-4] można wysnuć wniosek, że obserwowany efekt przeciwdepresyjny związku EMD 386088 związany jest z aktywacją układu dopaminergicznego we wszystkich badanych strukturach mózgu szczura. Po podaniu EMD 386088 (2.5 i 5 mg/kg) obserwowano istotny spadek metabolitów DA: wewnątrzneuronalnego DOPAC i finalnego HVA w jądrze półłożącym i prążkowie, a także całkowitego poziomu metabolizmu DA ([HVA]/[DA]) oraz wewnątrzkomórkowego szlaku metabolizmu DA na drodze oksydacji ([DOPA]/[DA]) (Tab. 2 w pracy [P-4]). Wyniki te pozwalają na stwierdzenie, że EMD 386088 wykazuje również pewne działanie antyoksydacyjne, które może korelować z jego działaniem przeciwdepresyjnym [57–59]. Jednocześnie obserwowano istotny wzrost ilorazu [3-MT]/[DOPAC], który wskazuje na hamowanie wychwytu DA. Zatem obserwowane, biochemiczne efekty wskazują na pobudzenie receptorów dopaminowych poprzez hamowanie wychwytu zwrotnego DA występującego po podaniu związku

EMD 386088. W celu potwierdzenia tej roboczej hipotezy, w następnym etapie badań, wykonano oznaczenie powinowactwa EMD 386088 do transportera dopaminy (DAT) metodą *in vitro* z użyciem ludzkich rekombinowanych komórek CHO wg standardowego, dla tego oznaczenia, protokołu w laboratorium CEREP (Francja). Otrzymany wynik potwierdził istotne powinowactwo EMD 386088 do DAT ($K_i=41$ nM) (praca [P-4]).

W przeprowadzonych w pracy [P-4] badaniach wykazano również brak wpływu związku EMD 386088 na poziom takich monoamin jak 5-HT oraz NA, a także stężenie ich odpowiednich metabolitów: 5-HIAA i NM (Tab. 3 i 4 w pracy [P-4]). Można przyjąć, że w efekcie przeciwdepresyjnym związku EMD 386088 po podaniu jednorazowym, systemowym nie uczestniczy układ serotoninergetyczny jak i noradrenergetyczny, co dodatkowo potwierdziły wyniki badań *in vitro* (praca [P-2]), a mianowicie brak powinowactwa badanej substancji do transportera serotoniny (SERT; $K_i=4.75$ μ M, $IC_{50}=9.95$ μ M).

W celu uściślenia udziału układu dopaminowego w przeciwdepresyjnej aktywności związku EMD 386088 zbadano wpływ jednoczesnego podania związku EMD 386088 (w dawce aktywnej przeciwdepresyjnie 5 mg/kg, w zmodyfikowanym FST) z antagonistą receptorów dopaminowych D₁ - związkiem SCH 23390 (0.063 mg/kg) oraz antagonistą receptorów dopaminowych D₂ – sulpirydem (10 mg/kg) (praca [P-4]). Zaobserwowano zniesienie działania przeciwdepresyjnego związku EMD 386088 (5 mg/kg) po jednoczesnym podaniu go z SCH 23390 (Ryc. 2a w pracy [P-4]), a także z sulpirydem (Ryc. 2b w pracy [P-4]). Wykazany efekt przeciwdepresyjny był specyficzny, gdyż nie obserwowano zmiany w aktywności ruchowej zwierząt badanej w teście otwartego pola, w żadnej kombinacji stosowanych substancji (Tab. 5 w pracy [P-4]). Uzyskane wyniki wykluczyły udział układu serotoninergetycznego i noradrenergetycznego w przeciwdepresyjnym efekcie EMD 386088 [P-2, P-4] i sugerują inny, pośredni mechanizm aktywności przeciwdepresyjnej częściowego agonisty receptora 5-HT₆, związku EMD 386088, niż opisany w literaturze mechanizm przeciwdepresyjnego działania dla antagonistów tego receptora [60–62].

Jednocześnie wiadomo, że terapia depresji wymaga wielokrotnego podawania substancji leczniczych. Istotnym zatem jest, aby już na wczesnym etapie oceny działania przeciwdepresyjnego nowych substancji, weryfikować ich zdolność do wykazywania powyższego efektu również po podaniach wielokrotnych. W tym celu oceniono aktywność przeciwdepresyjną związku EMD 386088 po podaniu systemowym trzykrotnym (24h, 5h i 30 min przed testem) w zmodyfikowanym FST oraz po podaniu wielokrotnym (jednorazowo w ciągu dnia, przez 14 dni) w modelu usunięcia opuszek węchowych (bulbektomii; OB ang. *olfactory bulbectomy*) u szczurów (praca [P-3]). Przedstawiono, że związek EMD 386088 podany trzykrotnie w ciągu 24 h przed testem (w dawce 2.5 mg/kg; Ryc. 2 w pracy [P-3]) wykazał istotną i specyficzną (brak wpływu na aktywność

eksploracyjną zwierząt; Tab. 2 w pracy [P-3]) aktywność przeciwdepresyjną poprzez skrócenie czasu bezruchu i wydłużenie czasu wspinania w porównaniu z grupą kontrolną. Następnie, w pracy [P-3], oceniono potencjalne działanie przeciwdepresyjne związku EMD 386088 po podaniu wielokrotnym w modelu OB u szczurów. Model OB jest szeroko stosowanym narzędziem w celu indukcji u gryzoni całego szeregu zaburzeń afektywnych wynikających ze zmian o podłożu neurochemicznym, immunologicznym oraz endokrynnym, związanych z leżą opuszek węchowych [63–66]. Wykazano, że podawane przewlekłe leki przeciwdepresyjne, mogą odwracać wspomniane zaburzenia [67,65,68]. W badaniach, stanowiących podstawę powyższego osiągnięcia habilitacyjnego, oceniano zachowanie zwierząt, uprzednio poddanych procedurze OB, z wykorzystaniem testu biernego unikania oraz otwartego pola, zarówno po podaniu jednorazowym jak i wielokrotnym związku EMD 386088. Uzyskane wyniki porównywano z aktywnością referencyjnego leku przeciwdepresyjnego – amitryptyliny, która również wykazuje powinowactwo do receptora 5-HT₆ [3], a także z grupą zwierząt u których wykonano jedynie pozorowaną leżę opuszek węchowych (grupa Shame, SH). Uważa się, że nadruchliwość bulbektomizowanych zwierząt, obserwowana w teście otwartego pola, może być odwracana przez przewlekłe podawanie leków przeciwdepresyjnych [66,69] natomiast zmiany w odpowiedzi na test biernego unikania są pomocne w detekcji aktywności przeciwdepresyjnej substancji podawanych jednokrotnie [67,70]. Związek EMD 386088 podawany przewlekłe (w dawce 2.5 mg/kg) wykazał aktywność przeciwdepresyjną w modelu OB skracając fazę nabywania w teście biernego unikania (Ryc. 4 w pracy [P-3]) oraz zmniejszając nadruchliwość zwierząt w teście otwartego pola (Ryc. 6 w pracy [P-3]). Natomiast nie obserwowano działania przeciwdepresyjnego u bulbektomizowanych zwierząt po podaniu wielokrotnym związku EMD 386088 w dawce 1.25 mg/kg (dawka nieaktywna przeciwdepresyjnie również w teście zmodyfikowanego FST, wyniki przedstawione w pracy [P-4]). U bulbektomizowanych szczurów wykazano również, że związek EMD 386088 podany jednokrotnie (zarówno w dawce 1.25 jak i 2.5 mg/kg) nie wykazał efektu przeciwdepresyjnego u zwierząt, podobnie jak amitryptylina, będąca lekiem odniesienia w tym teście (Ryc. 5 w pracy [P-3]). Uzyskane wyniki pozwalają na stwierdzenie, że związek EMD 386088 wykazuje aktywność przeciwdepresyjną również po podaniu wielokrotnym, podobnie jak zarejestrowane w terapii u ludzi leki przeciwdepresyjne.

Monoaminergiczna teoria powstawania depresji, obowiązująca od lat 60-tych XX wieku, już od kilkunastu lat jest niewystarczającą dla pełnego wytłumaczenia mechanizmów działania leków przeciwdepresyjnych. Obecnie wiadomo, że istotne dla aktywności przeciwdepresyjnej są powstające, podczas wielokrotnych podań leków przeciwdepresyjnych, tzw. zmiany adaptacyjne na poziomie aktywności receptorowej wywołujące zmiany ich gęstości/funkcji, ale również zmiany

wynikające z wpływu stosowanych leków na czynniki neurotroficzne takie jak czynnik wzrostu pochodzenia mózgowego (BDNF, ang. *brain-derived neurotrophic factor*,) czy zależny od cAMP czynnik transkrypcyjny (CREB, ang. *cAMP-response element binding protein*) [71,72]. Zatem kontynuując badania zmierzające do ustalenia mechanizmów zaangażowanych w przeciwdepresyjne działanie związku EMD 386088 po podaniu systemowym, zarówno jednokrotnym jak i wielokrotnym, opisano w publikacji [P-6], wpływ EMD 386088 na poziom ekspresji białka dla BDNF, CREB, cFos oraz receptorów 5-HT₆ u szczurów, które zostały poddane procedurze OB. Poziomy ekspresji białka dla BDNF, CREB, cFos oraz receptorów 5-HT₆ zostały oznaczone w wybranych strukturach mózgu biorących udział w regulacji nastroju oraz charakteryzujących się wysoką ekspresją receptorów 5-HT₆, takich jak hipokamp (Hp) oraz kora przedczołowa (PFC, ang. *prefrontal cortex*). Badania miały na celu ustalenie czy obserwowany efekt przeciwdepresyjny w tym modelu (opisany w pracy [P-3]), po przewlekłym podaniu związku EMD 386088, jest być może związany z podwyższeniem poziomu neurotrofin takich jak BDNF czy całkowity poziom CREB, a także jak wygląda ekspresja receptorów 5-HT₆ oraz białka cFos, które związane jest z aktywnością neuronalną jak i działaniem leków przeciwdepresyjnych [73–75]. Zatem 24 godziny po zakończeniu badań behawioralnych u szczurów poddanych procedurze OB (właściwej: OB jak i pozorowanej: SH) i wielokrotnie nastrzykiwanych badanymi substancjami pobrano Hp i PFC oraz wykonano oznaczenia biochemiczne metodą Western blot. Związek EMD 386088 (1.25 i 2.5 mg/kg) podany jednorazowo powodował istotny wzrost poziomu białka dla BDNF i CREB w PFC (Rycina 1 b, d, e w pracy [P-6]), natomiast w Hp obserwowano jedynie wzrost poziomu białka dla BDNF (Ryc. 2 b, d, e w pracy [P-6]), które to badania były zgodne z wynikami otrzymanymi przez innych badaczy dla agonisty receptora 5-HT₆, związku LY 586713 [72,76]. Co ważne, wykazany po raz pierwszy dla agonisty receptora 5-HT₆, podwyższony poziom BDNF i CREB utrzymywał się również po podaniu wielokrotnym związku EMD 386088 zarówno w PFC jak i w Hp (Ryc. 3b, d, e i Ryc. 4 b, d, e w pracy [P-6]). Takie efekty obserwowane są także po wielokrotnych podaniach leków przeciwdepresyjnych i właśnie z takim oddziaływaniem, poprzez neurotrofiny, wiązany jest między innymi ich mechanizm działania przeciwdepresyjnego [77,78]. Następnie wykazano, że podanie związku EMD 386088 powoduje wzrost poziomu białka dla receptora 5-HT₆ w PFC i HP i zmiana ta nie podlega *down*-regulacji po podaniu przewlekłym (Ryc. 1a i e; Ryc. 2a i e, Ryc. 3 a i e oraz Ryc. 4.a i e w pracy [P-6]). W pracy [P-6] oznaczono również poziom białka cFos, którego poziom wzrasta między innymi podczas stymulacji czynnikami transkrypcyjnymi, neurotransmiterami czy zmianami stężenia jonów wapnia w neuronach, ale jednocześnie jest wiązane z niekorzystnymi działaniami w ośrodkowym układzie nerwowym, w tym z procesami zapalnymi [73,75]. Jednorazowe podanie związku EMD 386088 powodowało różne, zależne od dawki zmiany w

poziomie białka cFos w PFC oraz brak wpływu w Hp (Ryc. 2 c i e w pracy [P-6]), ale co istotne aktywna przeciwdepresyjnie dawka związku EMD 386088 (2.5 mg/kg) powodowała przywrócenie poziomu białka cFos do porównywalnego z grupą kontrolną w PFC (Ryc. 1c i e w pracy [P-6]). Podobne efekty obserwowano także dla leku przeciwdepresyjnego fluoksetyny [73], natomiast inny agonista receptora 5-HT₆, związek EMDT, powodował wzrost ekspresji mRNA dla cFos. Dyskutując jednak te rozbieżne wyniki należy zwrócić uwagę, że były to obserwacje prowadzone u myszy i w innych strukturach mózgu takich jak prążkowie czy kora mózdzku [8]. Przewlekłe podawanie związku EMD 386088 powodowało podobne zmiany w poziomie białka dla cFos jak po jego jednorazowym podaniu w PFC (Ryc. 3 c i e w pracy [P-6]), natomiast w Hp obserwowano niezależny od dawki wzrost poziomu cFos (Ryc. 4 c i e w pracy [P-6]). Wykonane oznaczenia w pracy [P-6] wskazują, że efekt przeciwdepresyjny związku EMD 386088 utrzymujący się po podaniu przewlekłym może być częściowo wiązany ze wzrostem poziomu neurotrofin takich jak BDNF czy CREB w badanych strukturach ośrodkowego układu nerwowego, co istotnie odróżnia ten związek od innych agonistów receptora 5-HT₆, dla których podwyższenie poziomu neurotrofin obserwowano po podaniu ostrym, ale jego brak po podaniu przewlekłym.

Dla pełnego obrazu aktywności farmakologicznej związku istotna jest również ocena jego parametrów farmakokinetycznych. Dla związku EMD 386088 wykonano oznaczenia farmakokinetyczne w takim samym schemacie podania i dawkowania (po 30 minutach od jego podania dootrzewnowego, w dawkach 5 i 2.5 mg/kg) jak badania behawioralne po podaniu jednokrotnym. Przeprowadzone oznaczenia farmakokinetyczne dla związku EMD 386088, pokazały jego szybkie wchłanianie i dużą objętość dystrybucji, sugerującą przenikanie związku EMD 386088 do obwodowych kompartmentów po podaniu dootrzewnowym (Tab. 2 w pracy [P-5]), a także jego znaczną przenikalność przez barierę krew-mózg, charakteryzującą się wysokim współczynnikiem mózg/osocze, szczególnie dla aktywnej przeciwdepresyjnie dawki 5 mg/kg (Tab. 3 w pracy [P-5]). Związek EMD 386088 charakteryzował się relatywnie szybką eliminacją z organizmu szczura, wskazując na biologiczny okres półtrwania ok. 70 minut (Tab. 2 w pracy [P-5]).

W przeprowadzonych przez Wesołowską i Nikiforuk badaniach związku SB 399885, selektywnego antagonisty receptorów 5-HT₆, wykazano zdolność ligandów receptorów 5-HT₆ do ułatwiania ujawniania się efektu farmakologicznego leków przeciwdepresyjnych. Zależność ta była szczególnie zaznaczona dla substancji o noradrenergicznym i dopaminergicznym mechanizmie działania, podczas jednoczesnego stosowania sub-terapeutycznych dawek tych leków z podprogową dawką przeciwdepresyjną związku SB 399885 [79]. Z uwagi na wspomniane już wcześniej podobne efekty behawioralne obserwowane dla agonistów i antagonistów receptorów 5-HT₆ oraz istotną aktywność przeciwdepresyjną związku EMD 386088 (w zmodyfikowanym FST), oznaczono jego

wpływ na ujawnianie się efektu przeciwdepresyjnego leków przeciwdepresyjnych (praca [P-5]). Do badań wybrano przedstawicieli: trójpierścieniowych leków przeciwdepresyjnych, nieselektywnie hamujących wychwyt zwrotny NA i 5-HT – imipraminę (15 mg/kg); selektywnych inhibitorów wychwyty zwrotnego NA – reboksetynę (5 mg/kg); selektywnych inhibitorów wychwyty zwrotnego 5-HT – s-citalopram (10 mg/kg); inhibitorów wychwyty zwrotnego DA – bupropion (10 mg/kg) oraz selektywnych inhibitorów monoaminooksydazy-A – moklobemid (10 mg/kg). W przeprowadzonych badaniach pokazano, że związek EMD 386088 (2.5 mg/kg) wykazał specyficzną (Tab. 1 w pracy [P-5]) i pozytywną interakcję z nieaktywnymi dawkami: imipraminy (Ryc. 1a w pracy [P-5]), reboksetyny (Ryc. 1b w pracy [P-5]), moklobemidu (Ryc. 1c w pracy [P-5]) oraz bupropionu (Ryc. 1d w pracy [P-5]) manifestującą się skróceniem czasu immobilizacji i wydłużeniem czasu wspinania lub pływania w porównaniu z grupą zwierząt kontrolnych. Jedynie podczas jednoczesnego podania EMD 386088 i s-citalopramu nie obserwowano tej pozytywnej interakcji (Ryc. 1e w pracy [P-5]). Wyniki te pozostają w zgodzie z uprzednio uzyskanymi danymi dla związku EMD 386088, które wiążą przeciwdepresyjny efekt jego działania z wpływem na transmisję dopaminergiczną (praca [P-4]) oraz danymi wskazującymi na fakt, że receptory 5-HT₆ są zlokalizowane postsynaptycznie na neuronach innych niż serotonergiczne [12,14]. Ponieważ najsilniejsze wzmocnienie działania przeciwdepresyjnego obserwowano podczas jednoczesnego podania imipraminy i związku EMD 386088, które nie znajdowało pełnego uzasadnienia w procesach farmakodynamicznych, postanowiono sprawdzić wpływ tej interakcji na parametry farmakokinetyczne. W takim schemacie podawania substancji zaobserwowano wolniejsze wchłanianie i spadek objętości dystrybucji dla związku EMD 386088 (Tab. 2 i Ryc. 2 w pracy [P-5]) jak również około dwu i pół-krotny spadek jego przechodzenia przez barierę krew-mózg (Tab. 3 w pracy [P-5]). W świetle otrzymanych wyników, obserwowane istotne działanie przeciwdepresyjne po jednoczesnym podaniu EMD 386088 i imipraminy może wynikać z lipofilowych własności oraz charakterystyki amfifilowo-zasadowej EMD 386088 (pK_a>8). Częsteczka badanego związku, podlegając metabolizmowi, jest wychwytywana przez kwaśne kompartmenty takie jak lizosomy jako niezjonizowana słaba zasada. W lizosomach dochodzi do jonizacji tej cząsteczki i uniemożliwienia jej zwrotnej dyfuzji do cytozolu, co powoduje jej akumulację w tych organellach [80]. Proces tropizmu lizosomalnego jest energozależny, wymaga integralności komórkowej oraz podlega wysyceniu, natomiast imipramina jest substancją, która hamuje tropizm lizosomalny substancji [81]. Wydaje się, zatem możliwym do przyjęcia wytłumaczeniem, że obserwowany *in vivo*, w zmodyfikowanym FST, wzrost aktywności przeciwdepresyjnej po jednoczesnym podaniu nieaktywnych dawek imipraminy i związku EMD 386088 może wynikać ze zmniejszenia stężenia związku EMD 386088 w lizosomach (jako formy depot), co prowadzi do wzrostu jego stężenia w osoczu oraz zmniejszenia jego objętości dystrybucji

(Tab. 2 w pracy [P-5]). Wydaje się natomiast, że można raczej wykluczyć, jako czynnik odpowiedzialny za wzrost aktywności przeciwdepresyjnej po jednoczesnym podaniu EMD 386088 oraz imipraminy, interakcję farmakokinetyczną z izoenzymami cytochromu P-450 z uwagi na wykazaną dla związku EMD 386088 bardzo niską aktywność hamującą ($IC_{50}=2.25 \mu\text{M}$) wobec CYP2D6 i brak wpływu na CYP3A4 (Ryc. 9 w pracy [P-5]).

4.3.3.4. Ocena działania przeciwlękowego związku EMD 386088 u szczurów

Wielu autorów wykazało, że ligandy receptora 5-HT₆ mogą wykazywać aktywność przeciwlękową. Co ciekawe efekty takie obserwowane były zarówno dla selektywnych antagonistów [34,79,82,33] jak i agonistów receptora 5-HT₆ [48,50,83]. Dla związku EMD 386088 wykazano uprzednio aktywność przeciwlękową po podaniu dohipokamapalnym [48]. Kontynuując badania nad aktywnością farmakologiczną EMD 386088 po podaniu systemowym oznaczono jego aktywność przeciwlękową w dwóch, dobrze zwalidowanych testach: konfliktu wg Vogla oraz EPM. Test konfliktu wg Vogla, należy do grupy testów, w której zachowanie lękowe u zwierząt wywoływane jest nieprzyjemnym bodźcem zewnętrznym (w tym wypadku jest to krótkotrwały (1s) bodziec elektryczny o natężeniu 0.5 mA) [84]. Natomiast w teście EPM wykorzystuje się naturalną niechęć zwierząt do przebywania na uniesionych i otwartych przestrzeniach [85]. Związek EMD 386088 wykazał istotną aktywność przeciwlękową w obydwu testach. Podany w dawce 2.5 mg/kg (ale nie 1.25 mg/kg i 5 mg/kg) zwiększał: czas i procent czasu przebywania w ramionach otwartych jak i liczbę i procent liczby wejść do ramion otwartych, w porównaniu z grupą kontrolną, które to parametry związane są z aktywnością przeciwlękową substancji (Ryc. 1 w pracy [P-7]). Natomiast nie obserwowano wzrostu aktywności eksploracyjnej u zwierząt (Tab. 1 w pracy [P-7]). Pozwala to na przyjęcie tezy, że w teście EPM u szczurów obserwowano specyficzne, przeciwlękowe działanie związku EMD 386088 podanego jednorazowo, dootrzewnowo w dawce 2.5 mg/kg (Ryc. 1 w pracy [P-7]). W teście konfliktu wg Vogla, aktywność przeciwlękową wykazała również dawka 2.5 mg/kg związku EMD 386088, po podaniu której obserwowano istotny wzrost liczby liźnięć i akceptowanych szoków w porównaniu z grupą kontrolną (Ryc. 3 w pracy [P-7]). Uzyskane wyniki zweryfikowano pod kątem ich specyficzności przeciwlękowej w tym teście oceniając wpływ związku EMD 386088 na pobieranie wody oraz odczuwanie bólu w teście gorącej płytki (Tab. 3 w pracy [P-7]). Otrzymane w pracy [P-7] wyniki pozwalają na stwierdzenie, że związek EMD 386088 wykazuje specyficzną aktywność przeciwlękową w przeprowadzonych testach behawioralnych u szczurów. Dodatkowo warto zauważyć, że obserwowany efekt farmakologiczny dla związku EMD

386088 wykazuje charakterystyczną dla związków oddziałujących z receptorami serotoninowymi U-kształtną zależność dawka-efekt [86–91].

Ponieważ związek EMD 386088 został opisany jako częściowy agonista receptorów 5-HT₆ (praca [P-2]) interesującym było sprawdzenie czy obserwowany efekt przeciwlękowy zależy od pobudzenia czy blokady receptorów 5-HT₆, w związku z tym w dalszej części pracy [P-7] wykonano testy interakcji polegające na jednoczesnym podaniu EMD 386088 (2.5 mg/kg) i selektywnego antagonisty receptorów 5-HT₆, związku SB 271046 (w nieaktywnej przeciwlękowo dawce 1 mg/kg, Ryc. 1 w pracy [P-7]) w teście EPM. W takiej konfiguracji podań uzyskano całkowite zniesienie obserwowanego uprzednio działania przeciwlękowego EMD 386088 (Ryc. 2 w pracy [P-7]) oraz brak wpływu na aktywność eksploracyjną u szczurów (Tab. 2 w pracy [P-7]). Zatem można wysnuć wniosek, że obserwowane działanie przeciwlękowe związku EMD 386088 w teście EPM jest bezpośrednio związane z pobudzeniem receptora 5-HT₆.

Analizowano także, czy aktywność przeciwlękowa związku EMD 386088 nie wynika z możliwej potencjalnej czynnościowej interakcji pomiędzy agonistą/częściowym agonistą receptora 5-HT₆, a układem receptora GABA_A oraz miejscem wiążącym benzodiazepiny w tym kompleksie [14,92], jak ma to miejsce w przypadku antagonistów receptorów 5-HT₆ [34], które to rozważania opisano w pracy [P-1]. Przeprowadzone oznaczenia w teście EPM jednoznacznie wskazały, że aktywność przeciwlękowa związku EMD 386088 nie jest związana z powyższą czynnościową interakcją (Ryc. 2 w pracy [P-7]), co dodatkowo zostało potwierdzone w oznaczeniach *in vitro*, które wskazywały na brak powinowactwa związku EMD 386088 do receptora GABA_A (Tab. 1 w pracy [P-2]). Uzyskane wyniki wskazują na inne mechanizmy zaangażowane w efekt przeciwlękowy agonistów niż mechanizm wykazany dla antagonistów receptorów 5-HT₆.

Ponieważ dostępne dane literaturowe sugerują, że antagoniści receptora 5-HT₃ wykazują wpływ na zachowanie zwierząt w testach behawioralnych, a szczególnie działanie przeciwlękowe w różnych modelach lęku [93–96], a związek EMD 386088 posiada umiarkowane powinowactwo do tego receptora przeprowadzono oznaczenia *ex vivo* na izolowanym jelicie kawii domowej w celu oceny potencjalnej aktywności antagonistycznej związku EMD 386088 wobec receptora 5-HT₃. Uzyskane wyniki wskazują na brak aktywności antagonistycznej związku EMD 386088 wobec receptora 5-HT₃ (Ryc. 4 w pracy [P-7]), a obserwowane przesunięcie krzywej dawka-odpowiedź jedynie w maksymalnym stosowanym stężeniu związku EMD 386088 (10 μM) może świadczyć o działaniu niespecyficznym lub dodatkowych, innych, najprawdopodobniej nie związanych z układem serotoninowym miejscach interakcji [97]. Wyniki te pozwalają na stwierdzenie, że związek EMD 386088 nie jest antagonistą receptorów 5-HT₃, a zatem jego obserwowana aktywność przeciwlękowa nie może być wiązana z blokowaniem tych receptorów.

Ponieważ zmniejszenie nadruchliwości bulbektomizowanych zwierząt w teście otwartego pola związane jest również z reakcją stresową i/lub lękową rozwijającą się u zwierząt [69], zatem można przyjąć również, że uzyskane wyniki w pracy [P-3] (Ryc. 6 w pracy [P-3]) potwierdzają także aktywność przeciwłękową związku EMD 386088 po podaniu przewlekłym.

4.3.4. PODSUMOWANIE

Na podstawie uzyskanych wyników badań, których rezultatem jest osiągnięcie naukowe, będące podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego, można wysnuć następujące wnioski odnośnie związku EMD 386088:

- Przeprowadzone badania potwierdziły, że związek EMD 386088 jest selektywnym ligandem receptorów 5-HT₆, charakteryzującym się wysokim powinowactwem wobec tych receptorów oraz nieznacznym wiązaniem do receptorów 5-HT₃. Analizując, różnymi metodami i w różnych laboratoriach, aktywność wewnętrzną związku EMD 386088 wykazano, że jest on częściowym agonistą receptorów 5-HT₆.
- Wydaje się, że związek EMD 386088 podlega dość szybkiemu metabolizmowi, najprawdopodobniej w wyniku reakcji dehydrogenacji układu tetrahydropirydyny, a także w procesie utleniania podstawnika metylowego lub układu tetrahydropirydyny.
- Związek EMD 386088 nie wpływa na aktywność izoenzymów takich jak CYP3A4 i CYP2D6 cytochromu P-450 w badaniach *in vitro*, które są związane z metabolizmem wielu leków przeciwdepresyjnych. Pozwala to na wykluczenie interakcji farmakokinetycznych związku EMD 386088 z lekami przeciwdepresyjnymi.
- Związek EMD 386088 wykazuje aktywność przeciwdepresyjną i przeciwłękową po podaniu systemowym (dootrzewnowym), zarówno jednokrotnym jak i wielokrotnym, w różnych eksperymentalnych testach i modelach, a ten obserwowany efekt związany jest bezpośrednio z pobudzeniem receptorów 5-HT₆.
- Działanie przeciwdepresyjne związku EMD 386088 związane jest pośrednio z aktywacją układu dopaminergicznego poprzez receptory D₁ i D₂ oraz inhibicję wychwytu zwrotnego DA. Układ serotonergiczny i noradrenergiczny nie jest zaangażowany w efekt przeciwdepresyjny EMD 386088. W uzyskanym efekcie przeciwdepresyjnym związku EMD 386088, po jego podaniu przewlekłym, istotnym wydaje się również obserwowany wzrost poziomu białka dla takich neurotrofin jak BDNF czy CREB w PFC i Hp u szczurów z wyindukowanym modelem depresji.
- Związek EMD 386088, po podaniu dootrzewnowym, charakteryzuje się szybką przenikalnością przez barierę krew-mózg z kompartmentów obwodowych, dużą objętością dystrybucji, lipofilnością, tropizmem lizosomalnym oraz dość krótkim biologicznym okresem półtrwania.

- Związek EMD 386088 ułatwia ujawnienie się efektu przeciwdepresyjnego leków przeciwdepresyjnych oddziałujących poprzez szlaki dopaminergiczne i noradrenergiczne.
- Nasilenie działania przeciwdepresyjnego imipraminy przez związek EMD 386088 związane jest z jego tropizmem lizosomalnym.
- Przeciwlękowe działanie związku EMD 386088 związane jest z bezpośrednią aktywacją receptorów 5-HT₆, natomiast można wykluczyć w tym efekcie udział kompleksu receptora GABA_A / bezodiazepinowego.
- Z uwagi na brak działania antagonistycznego związku EMD 386088 wobec receptorów 5-HT₃ można wykluczyć udział tych receptorów z mechanizmu obserwowanego efektu przeciwlękowego EMD 386088.

Prezentowane wyniki badań doświadczalnych, zawarte w pracach [P-2]-[P-7], poszerzają wiedzę na temat roli receptorów 5-HT₆ w zaburzeniach afektywnych, rozważanych w pracy [P-1]. Stanowią one również wkład w badania nad ustaleniem funkcjonalnego znaczenia częściowego agonizmu wobec receptorów 5-HT₆, szczególnie w obserwowanych efektach przeciwdepresyjnych. Związek EMD 386088 wydaje się interesującą substancją o charakterze narzędziowym, której poznanie różnych aspektów aktywności farmakologicznej jest bardzo istotne w kontekście nie tylko jego wpływu na nastrój (badanego w niniejszym osiągnięciu), ale również prowadzonych w innych ośrodkach badań nad wykorzystaniem ligandów receptorów 5-HT₆ (w tym związku EMD 386088) w terapii zaburzeń kognitywnych w przebiegu choroby Alzheimera czy wpływie na masę ciała.

4.3.5. PIŚMIENNICTWO

- [1] Hoyer D, Hannon JP, Martin GR. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacol Biochem Behav* 2002;71:533–54. doi:10.1016/S0091-3057(01)00746-8.
- [2] Wirth A, Holst K, Ponimaskin E. How serotonin receptors regulate morphogenic signalling in neurons. *Prog Neurobiol* 2017;151:35–56. doi:10.1016/j.pneurobio.2016.03.007.
- [3] Monsma Jr. FJ, Shen Y, Ward RP, Hamblin MW, Sibley DR. Cloning and expression of a novel serotonin receptor with high affinity for tricyclic psychotropic drugs. *Mol Pharmacol* 1993;43:320–7.
- [4] Ruat M, Traiffort E, Arrang JM, Tardivel-Lacombe J, Diaz J, Leurs R, et al. A novel rat serotonin (5-HT₆) receptor: molecular cloning, localization and stimulation of cAMP accumulation. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;193:268–76.
- [5] Kohen R, Metcalf MA, Khan N, Druck T, Huebner K, Lachowicz JE, et al. Cloning, characterization, and chromosomal localization of a human 5-HT₆ serotonin receptor. *J Neurochem* 1996;66:47–56.
- [6] Kohen R, Fashingbauer L a., Heidmann DE a, Guthrie CR, Hamblin MW. Cloning of the mouse 5-HT₆ serotonin receptor and mutagenesis studies of the third cytoplasmic loop. *Mol Brain Res* 2001;90:110–7.

doi:10.1016/S0169-328X(01)00090-0.

- [7] Hirst WD, Abrahamsen B, Blaney FE, Calver AR, Aloj L, Price GW, et al. Differences in the central nervous system distribution and pharmacology of the mouse 5-hydroxytryptamine-6 receptor compared with rat and human receptors investigated by radioligand binding, site-directed mutagenesis, and molecular modeling. *Mol Pharmacol* 2003;64:1295–308. doi:10.1124/mol.64.6.1295.
- [8] Svenningsson P, Tzavara ET, Qi H, Carruthers R, Witkin JM, Nomikos GG, et al. Biochemical and Behavioral Evidence for Antidepressant-Like Effects of 5-HT₆ Receptor Stimulation. *J Neurosci* 2007;27:4201–9. doi:10.1523/JNEUROSCI.3110-06.2007.
- [9] Sleight AJ, Boess FG, Bös M, Levet-Trafit B, Riemer C, Bourson A. Characterization of Ro 04-6790 and Ro 63-0563: potent and selective antagonists at human and rat 5-HT₆ receptors. *Br J Pharmacol* 1998;124:556–62. doi:10.1038/sj.bjp.0701851.
- [10] Gérard C, Martres MP, Lefèvre K, Miquel MC, Vergé D, Lanfumey L, et al. Immune-localization of serotonin 5-HT₆ receptor-like material in the rat central nervous system. *Brain Res* 1997;746:207–19. doi:10.1016/S0006-8993(96)01224-3.
- [11] Yoshioka M, Matsumoto M, Togashi H, Mori K, Saito H. Central distribution and function of 5-HT₆ receptor subtype in the rat brain. *Life Sci* 1998;62:1473–7. doi:10.1016/S0024-3205(98)00092-7.
- [12] Ward RP, Hamblin MW, Lachowicz JE, Hoffman BJ, Sibley DR, Dorsa DM. Localization of serotonin subtype 6 receptor messenger RNA in the rat brain by in situ hybridization histochemistry. *Neuroscience* 1995;64:1105–11. doi:10.1016/0306-4522(94)00439-C.
- [13] Ward RP, Dorsa DM. Colocalization of serotonin receptor subtypes 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}, and 5-HT₆ with neuropeptides in rat striatum. *J Comp Neurol* 1996;370:405–14. doi:10.1002/(SICI)1096-9861(19960701)370:3<405::AID-CNE10>3.0.CO;2-R.
- [14] Gérard C, el Mestikawy S, Lebrand C, Adrien J, Ruat M, Traiffort E, et al. Quantitative RT-PCR distribution of serotonin 5-HT₆ receptor mRNA in the central nervous system of control or 5,7-dihydroxytryptamine-treated rats. *Synapse* 1996;23:164–73. doi:10.1002/(SICI)1098-2396(199607)23:3<164::AID-SYN5>3.0.CO;2-6.
- [15] Yun H-M, Baik J-H, Kang I, Jin C, Rhim H. Physical Interaction of Jab1 with Human Serotonin 6 G-protein-coupled Receptor and Their Possible Roles in Cell Survival. *J Biol Chem* 2010;285:10016–29. doi:10.1074/jbc.M109.068759.
- [16] Yun H-M, Rhim H. The Serotonin-6 Receptor as a Novel Therapeutic Target. *Exp Neurobiol* 2011;20:159. doi:10.5607/en.2011.20.4.159.
- [17] Roth BL, Craigo SC, Choudhary MS, Uluer A, Monsma FJ, Shen Y, et al. Binding of typical and atypical antipsychotic agents to 5-hydroxytryptamine-6 and 5-hydroxytryptamine-7 receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;268:1403–10.
- [18] Cummings J, Lee G, Mortsdorf T, Ritter A, Zhong K. Alzheimer's disease drug development pipeline: 2017. *Alzheimer's Dement Transl Res Clin Interv* 2017;3:367–84. doi:10.1016/j.trci.2017.05.002.
- [19] de Jong IEM, Mørk A. Antagonism of the 5-HT₆receptor – Preclinical rationale for the treatment of Alzheimer's disease. *Neuropharmacology* 2017;125:50–63. doi:10.1016/j.neuropharm.2017.07.010.
- [20] Atri A, Frölich L, Ballard C, Tariot PN, Molinuevo JL, Boneva N, et al. Effect of idalopirdine as adjunct to cholinesterase inhibitors on change in cognition in patients with Alzheimer disease three randomized

- clinical trials. *JAMA - J Am Med Assoc* 2018;319:130–42. doi:10.1001/jama.2017.20373.
- [21] Roche M, Harkin A, Kelly JP. Chronic fluoxetine treatment attenuates stressor-induced changes in temperature, heart rate, and neuronal activation in the olfactory bulbectomized rat. *Neuropsychopharmacology* 2007;32:1312–20. doi:10.1038/sj.npp.1301253.
- [22] Heal DJ, Smith SL, Fisas A, Codony X, Buschmann H. Selective 5-HT₆ receptor ligands: progress in the development of a novel pharmacological approach to the treatment of obesity and related metabolic disorders. *Pharmacol Ther* 2008;117:207–31. doi:10.1016/j.pharmthera.2007.08.006.
- [23] Sargent BJ, Henderson AJ. Targeting 5-HT receptors for the treatment of obesity. *Curr Opin Pharmacol* 2011;11:52–8. doi:10.1016/j.coph.2011.01.005.
- [24] Heal DJ, Smith SL, Fisas A, Codony X, Buschmann H. Selective 5-HT₆ receptor ligands: progress in the development of a novel pharmacological approach to the treatment of obesity and related metabolic disorders. *Pharmacol Ther* 2008;117:207–31. doi:10.1016/j.pharmthera.2007.08.006.
- [25] Fisas A, Codony X, Romero G, Dordal A, Giraldo J, Mercé R, et al. Chronic 5-HT₆ receptor modulation by E-6837 induces hypophagia and sustained weight loss in diet-induced obese rats. *Br J Pharmacol* 2006;148:973–83. doi:10.1038/sj.bjp.0706807.
- [26] Frassetto A, Zhang J, Lao JZ, White A, Metzger JM, Fong TM, et al. Reduced sensitivity to diet-induced obesity in mice carrying a mutant 5-HT₆ receptor. *Brain Res* 2008;1236:140–4. doi:10.1016/j.brainres.2008.08.012.
- [27] Dudek M, Marcinkowska M, Bucki A, Olczyk A, Kołaczkowski M. Idalopirdine – a small molecule antagonist of 5-HT₆ with therapeutic potential against obesity. *Metab Brain Dis* 2015;30:1487–94. doi:10.1007/s11011-015-9736-3.
- [28] Kotanska M, Lustyk K, Bucki A, Marcinkowska M, Śniecikowska J, Kolaczkowski M. Idalopirdine, a selective 5-HT₆ receptor antagonist, reduces food intake and body weight in a model of excessive eating. *Metab Brain Dis* 2018;733–40. doi:10.1007/s11011-017-0175-1.
- [29] Heal D, Gosden J, Smith S. *The 5-HT₆ Receptor as a Target for Developing Novel Antiobesity Drugs*. vol. 96. Elsevier Inc.; 2011. doi:10.1016/B978-0-12-385902-0.00004-8.
- [30] Kotańska M, Śniecikowska J, Jastrzebska-Wiesek M, Kołaczkowski M, Pytka K. Metabolic and cardiovascular benefits and risks of EMD386088-A 5-HT₆ receptor partial agonist and dopamine transporter inhibitor. *Front Neurosci* 2017;11. doi:10.3389/fnins.2017.00050.
- [31] Yau JL, Noble J, Widdowson J, Seckl JR. Impact of adrenalectomy on 5-HT₆ and 5-HT₇ receptor gene expression in the rat hippocampus. *Brain Res Mol Brain Res* 1997;45:182–6.
- [32] Vogt IR, Shimron-Abarbanell D, Neidt H, Erdmann J, Cichon S, Schulze TG, et al. Investigation of the human serotonin 6 [5-HT₆] receptor gene in bipolar affective disorder and schizophrenia. *Am J Med Genet* 2000;96:217–21.
- [33] Wesołowska A, Nikiforuk A, Stachowicz K. Anxiolytic-like and antidepressant-like effects produced by the selective 5-HT₆ receptor antagonist SB-258585 after intrahippocampal administration to rats. *Behav Pharmacol* 2007;18:439–46. doi:10.1097/FBP.0b013e3282d28f9c.
- [34] Wesołowska A. The anxiolytic-like effect of the selective 5-HT₆ receptor antagonist SB-399885: the impact of benzodiazepine receptors. *Eur J Pharmacol* 2008;580:355–60. doi:10.1016/j.ejphar.2007.11.022.
- [35] Hirano K, Piers TM, Searle KL, Miller ND, Rutter AR, Chapman PF. Procognitive 5-HT₆ antagonists in the rat

- forced swimming test: potential therapeutic utility in mood disorders associated with Alzheimer's disease. *Life Sci* 2009;84:558–62. doi:10.1016/j.lfs.2009.01.019.
- [36] Mattsson C, Sonesson C, Sandahl A, Greiner HE, Gassen M, Plaschke J, et al. 2-Alkyl-3-(1,2,3,6-tetrahydropyridin-4-yl)-1H-indoles as novel 5-HT₆ receptor agonists. *Bioorg Med Chem Lett* 2005;15:4230–4. doi:10.1016/j.bmcl.2005.06.067.
- [37] Hirst WD, Stean TO, Rogers DC, Sunter D, Pugh P, Moss SF, et al. SB-399885 is a potent, selective 5-HT₆ receptor antagonist with cognitive enhancing properties in aged rat water maze and novel object recognition models. *Eur J Pharmacol* 2006;553:109–19. doi:10.1016/j.ejphar.2006.09.049.
- [38] de Bruin NMWJ, Prickaerts J, van Loevezijn A, Venhorst J, de Groot L, Houba P, et al. Two novel 5-HT₆ receptor antagonists ameliorate scopolamine-induced memory deficits in the object recognition and object location tasks in Wistar rats. *Neurobiol Learn Mem* 2011;96:392–402. doi:10.1016/j.nlm.2011.06.015.
- [39] Woolley ML, Bentley JC, Sleight AJ, Marsden CA, Fone KC. A role for 5-HT₆ receptors in retention of spatial learning in the Morris water maze. *Neuropharmacology* 2001;41:210–9.
- [40] Meneses A. Effects of the 5-HT₆ receptor antagonist Ro 04-6790 on learning consolidation. *Behav Brain Res* 2001;118:107–10.
- [41] Lieben CKJ, Blokland A, Şık A, Sung E, van Nieuwenhuizen P, Schreiber R. The Selective 5-HT₆ Receptor Antagonist Ro4368554 Restores Memory Performance in Cholinergic and Serotonergic Models of Memory Deficiency in the Rat. *Neuropsychopharmacology* 2005;30:2169–79. doi:10.1038/sj.npp.1300777.
- [42] Mitchell ES, Neumaier JF. 5-HT₆ receptors: A novel target for cognitive enhancement. *Pharmacol Ther* 2005;108:320–33. doi:10.1016/j.pharmthera.2005.05.001.
- [43] Burnham KE, Baxter MG, Bainton JR, Southam E, Dawson LA, Bannerman DM, et al. Activation of 5-HT₆ receptors facilitates attentional set shifting. *Psychopharmacology (Berl)* 2010;208:13–21. doi:10.1007/s00213-009-1701-6.
- [44] Kendall I, Slotten HA, Codony X, Burgueño J, Pauwels PJ, Vela JM, et al. E-6801, a 5-HT₆ receptor agonist, improves recognition memory by combined modulation of cholinergic and glutamatergic neurotransmission in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 2011;213:413–30. doi:10.1007/s00213-010-1854-3.
- [45] Woods S, Clarke NN, Layfield R, Fone KCF. 5-HT₆ receptor agonists and antagonists enhance learning and memory in a conditioned emotion response paradigm by modulation of cholinergic and glutamatergic mechanisms. *Br J Pharmacol* 2012;167:436–49. doi:10.1111/j.1476-5381.2012.02022.x.
- [46] Nikiforuk A, Fijał K, Potasiewicz A, Popik P, Kos T. The 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 6 agonist EMD 386088 ameliorates ketamine-induced deficits in attentional set shifting and novel object recognition, but not in the prepulse inhibition in rats. *J Psychopharmacol* 2013;27:469–76. doi:10.1177/0269881113480991.
- [47] Bokare AM, Praveenkumar AK, Bhonde M, Nayak Y, Pal R, Goel R. 5-HT₆ Receptor Agonist and Antagonist Against β -Amyloid-Peptide-Induced Neurotoxicity in PC-12 Cells. *Neurochem Res* 2017;42:1571–9. doi:10.1007/s11064-017-2217-9.
- [48] Nikiforuk A, Kos T, Wesołowska A. The 5-HT₆ receptor agonist EMD 386088 produces antidepressant and anxiolytic effects in rats after intrahippocampal administration. *Psychopharmacology (Berl)* 2011;217:411–8. doi:10.1007/s00213-011-2297-1.

- [49] Ly S, Pishdari B, Lok LL, Hajos M, Kocsis B. Activation of 5-HT₆ receptors modulates sleep-wake activity and hippocampal theta oscillation. *ACS Chem Neurosci* 2013;4:191–9. doi:10.1021/cn300184t.
- [50] Schechter LE, Lin Q, Smith DL, Zhang G, Shan Q, Platt B, et al. Neuropharmacological profile of novel and selective 5-HT₆ receptor agonists: WAY-181187 and WAY-208466. *Neuropsychopharmacology* 2008;33:1323–35. doi:10.1038/sj.npp.1301503.
- [51] Dupuis DS, Mannoury la Cour C, Chaput C, Verrière L, Lavielle G, Millan MJ. Actions of novel agonists, antagonists and antipsychotic agents at recombinant rat 5-HT₆ receptors: a comparative study of coupling to G α s. *Eur J Pharmacol* 2008;588:170–7. doi:10.1016/j.ejphar.2008.04.039.
- [52] Kendall I, Slotten H a, Codony X, Burgueño J, Pauwels PJ, Vela JM, et al. E-6801, a 5-HT₆ receptor agonist, improves recognition memory by combined modulation of cholinergic and glutamatergic neurotransmission in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 2011;213:413–30. doi:10.1007/s00213-010-1854-3.
- [53] Romero G, Sánchez E, Pujol M, Pérez P, Codony X, Holenz J, et al. Efficacy of selective 5-HT₆ receptor ligands determined by monitoring 5-HT₆ receptor-mediated cAMP signaling pathways. *Br J Pharmacol* 2006;148:1133–43. doi:10.1038/sj.bjp.0706827.
- [54] Spina E, Santoro V, D'Arrigo C. Clinically relevant pharmacokinetic drug interactions with second-generation antidepressants: An update. *Clin Ther* 2008;30:1206–27. doi:10.1016/S0149-2918(08)80047-1.
- [55] Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. “Behavioural despair” in rats and mice: strain differences and the effects of imipramine. *Eur J Pharmacol* 1978;51:291–4.
- [56] Detke MJ, Rickels M, Lucki I. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology (Berl)* 1995;121:66–72.
- [57] Maes M, Galecki P, Chang YS, Berk M. A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro)degenerative processes in that illness. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry* 2011;35:676–92. doi:10.1016/j.pnpbp.2010.05.004.
- [58] Antkiewicz-Michaluk L, Wąsik A, Mozdzeń E, Romańska I, Michaluk J. Antidepressant-like effect of tetrahydroisoquinoline amines in the animal model of depressive disorder induced by repeated administration of a low dose of reserpine: Behavioral and neurochemical studies in the rat. *Neurotox Res* 2014;26:85–98. doi:10.1007/s12640-013-9454-8.
- [59] Mozdzeń E, Papp M, Gruca P, Wąsik A, Romańska I, Michaluk J, et al. 1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline produces an antidepressant-like effect in the forced swim test and chronic mild stress model of depression in the rat: Neurochemical correlates. *Eur J Pharmacol* 2014;729:107–15. doi:10.1016/j.ejphar.2014.01.075.
- [60] Wesołowska A. Study into a possible mechanism responsible for the antidepressant-like activity of the selective 5-HT₆ receptor antagonist SB-399885 in rats. *Pharmacol Rep* 2007;59:664–71.
- [61] Lacroix LP, Dawson L a, Hagan JJ, Heidbreder C a. 5-HT₆ Receptor Antagonist SB-271046 Enhances Extracellular Levels of Monoamines in the Rat Medial Prefrontal Cortex. *Synapse* 2004;51:158–64. doi:10.1002/syn.10288.
- [62] Loiseau F, Dekeyne A, Millan MJ. Pro-cognitive effects of 5-HT₆ receptor antagonists in the social recognition procedure in rats: implication of the frontal cortex. *Psychopharmacology (Berl)* 2008;196:93–

104. doi:10.1007/s00213-007-0934-5.
- [63] Jancsár SM, Leonard BE. The effect of (+/-)mianserin and its enantiomers on the behavioural hyperactivity of the olfactory-bulbectomized rat. *Neuropharmacology* 1984;23:1065–70.
- [64] van Riezen H, Schnieden H, Wren AF. Olfactory bulb ablation in the rat: behavioural changes and their reversal by antidepressant drugs. *Br J Pharmacol* 1977;60:521–8.
- [65] Kelly JP, Wynn S, Leonard BE. The olfactory bulbectomized rat as a model of depression: an update. *Pharmacol Ther* 1997;74:299–316.
- [66] Song C, Leonard BE. The olfactory bulbectomised rat as a model of depression. *Neurosci Biobehav Rev* 2005;29:627–47. doi:10.1016/j.neubiorev.2005.03.010.
- [67] van Riezen H, Leonard BE. Effects of psychotropic drugs on the behavior and neurochemistry of olfactory bulbectomized rats. *Pharmacol Ther* 1990;47:21–34.
- [68] Cairncross KD, Cox B, Forster C, Wren AF. Olfactory projection systems, drugs and behaviour: a review. *Psychoneuroendocrinology* 1979;4:253–72.
- [69] Harkin A, Kelly JP, Leonard BE. A review of the relevance and validity of olfactory bulbectomy as a model of depression. *Clin Neurosci Res* 2003;3:253–62. doi:10.1016/S1566-2772(03)00087-2.
- [70] Joly D, Sanger DJ. The effects of fluoxetine and zimeldine on the behavior of olfactory bulbectomized rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1986;24:199–204.
- [71] Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature* 2008;455:894–902. doi:10.1038/nature07455.
- [72] de Foubert G, O'Neill MJ, Zetterström TSC. Acute onset by 5-HT₆-receptor activation on rat brain brain-derived neurotrophic factor and activity-regulated cytoskeletal-associated protein mRNA expression. *Neuroscience* 2007;147:778–85. doi:10.1016/j.neuroscience.2007.04.045.
- [73] Chang CH, Chen MC, Lu J. Effect of antidepressant drugs on the vmPFC-limbic circuitry. *Neuropharmacology* 2015;92:116–24. doi:10.1016/j.neuropharm.2015.01.010.
- [74] Miyata S, Hamamura T, Lee Y, Miki M, Habara T, Oka T, et al. Contrasting Fos expression induced by acute reboxetine and fluoxetine in the rat forebrain: Neuroanatomical substrates for the antidepressant effect. *Psychopharmacology (Berl)* 2005;177:289–95. doi:10.1007/s00213-004-2072-7.
- [75] Kovács KJ. c-Fos as a transcription factor: A stressful (re)view from a functional map. *Neurochem Int* 1998;33:287–97. doi:10.1016/S0197-0186(98)00023-0.
- [76] de Foubert G, Khundakar AA, Zetterström TS. Effects of repeated 5-HT₆ receptor stimulation on BDNF gene expression and cell survival. *Neurosci Lett* 2013;553:211–5. doi:10.1016/j.neulet.2013.08.029.
- [77] Pittenger C, Duman RS. Stress, Depression, and Neuroplasticity: A Convergence of Mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 2008;33:88–109. doi:10.1038/sj.npp.1301574.
- [78] Ménard C, Hodes GE, Russo SJ. Pathogenesis of depression: insights from human and rodent studies. *Neuroscience* 2016;321:138–62. doi:10.1016/j.neuroscience.2015.05.053.Pathogenesis.
- [79] Wesołowska A, Nikiforuk A. Effects of the brain-penetrant and selective 5-HT₆ receptor antagonist SB-399885 in animal models of anxiety and depression. *Neuropharmacology* 2007;52:1274–83. doi:10.1016/j.neuropharm.2007.01.007.
- [80] Walczak M. Binding of new aminopropan-2-ol compounds to bovine serum albumin, α 1-acid glycoprotein and rat serum using equilibrium dialysis and LC/MS/MS. *Pharmacol Rep* 2013;65:1294–303.

- [81] Daniel A, Wojcikowski J. Lysosomal trapping as an important mechanism involved in the cellular distribution of perazine and in pharmacokinetic interaction with antidepressants. *Eur Neuropsychopharmacol* 1999;9:483–91.
- [82] Hirst WD, Stean TO, Rogers DC, Sunter D, Pugh P, Moss SF, et al. SB-399885 is a potent, selective 5-HT₆ receptor antagonist with cognitive enhancing properties in aged rat water maze and novel object recognition models. *Eur J Pharmacol* 2006;553:109–19. doi:10.1016/j.ejphar.2006.09.049.
- [83] Carr G V, Schechter LE, Lucki I. Antidepressant and anxiolytic effects of selective 5-HT₆ receptor agonists in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2011;213:499–507. doi:10.1007/s00213-010-1798-7.
- [84] Vogel JR, Beer B, Clody DE. A simple and reliable conflict procedure for testing anti-anxiety agents. *Psychopharmacologia* 1971;21:1–7.
- [85] Pellow S, File SE. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 1986;24:525–9.
- [86] Pellow S, Johnston AL, File SE. Selective agonists and antagonists for 5-hydroxytryptamine receptor subtypes, and interactions with yohimbine and FG 7142 using the elevated plus-maze test in the rat. *J Pharm Pharmacol* 1987;39:917–28.
- [87] Millan MJ. The neurobiology and control of anxious states. *Prog Neurobiol* 2003;70:83–244.
- [88] Borsini F, Stasi M, Minetti P, Riccioni T, Menini T. Effect of ST 1936, a 5-HT₆ ligand, on rodent adenylate cyclase and forced swimming test. *Int J Neuropsychopharmacol* 2008;11:123–4.
- [89] Griebel G, Rodgers RJ, Perrault G, Sanger DJ. Risk assessment behaviour: evaluation of utility in the study of 5-HT-related drugs in the rat elevated plus-maze test. *Pharmacol Biochem Behav* 1997;57:817–27.
- [90] Rodgers RJ, Johnson NJ, Carr J, Hodgson TP. Resistance of experientially-induced changes in murine plus-maze behaviour to altered retest conditions. *Behav Brain Res* 1997;86:71–7.
- [91] Setem J, Pinheiro a P, Motta V a, Morato S, Cruz a P. Ethopharmacological analysis of 5-HT ligands on the rat elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav* 1999;62:515–21.
- [92] Woolley ML, Marsden CA, Fone KCF. 5-HT₆ receptors. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 2004;3:59–79.
- [93] Adell A. Lu-AA21004, a multimodal serotonergic agent, for the potential treatment of depression and anxiety. *IDrugs* 2010;13:900–10.
- [94] Kumar B, Jindal A, Pandey DK, Bhatt S, Devadoss T, Mahesh R. Antidepressant and anxiolytic-like effects of 4n, a novel 5-HT₃ receptor antagonist using behaviour based rodent models. *Indian J Exp Biol* 2012;50:625–32.
- [95] Olivier B, van Wijngaarden I, Soudijn W. 5-HT₃ receptor antagonists and anxiety; a preclinical and clinical review. *Eur Neuropsychopharmacol* 2000;10:77–95. doi:10.1016/S0924-977X(99)00065-6.
- [96] Costall B, Naylor RJ. 5-HT₃ receptors. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 2004;3:27–37.
- [97] Salazar-Bookaman MM, Miller DD, Patil PN. Antagonism by imidazoline-type drugs of muscarinic and other receptors in the guinea-pig ileum. *Auton Autacoid Pharmacol* 2006;26:267–73. doi:10.1111/j.1474-8673.2006.00355.x.

5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH

5.1. DZIAŁALNOŚĆ NAUKOWA PRZED UZYSKANIEM STOPNIA DOKTORA

Moje zainteresowania farmakologią, a szczególnie badaniami farmakologicznymi nowych substancji, rozpoczęły się już podczas studiów na kierunku farmacja prowadzonych na Wydziale Farmaceutycznym UJ CM, gdy jako studentka IV roku zapisałam się do Studenckiego Koła Naukowego przy Katedrze Farmakodynamiki UJ CM. Tam miałam możliwość poznania szeregu metod badawczych stosowanych w farmakologii eksperymentalnej. Przeprowadzone, w ramach pracy w kole naukowym, doświadczenia stały się podstawą mojej pracy magisterskiej, wykonanej w 1998 roku, w Katedrze Farmakodynamiki UJ CM pod kierunkiem prof. dr hab. Ryszarda Czarneckiego pt. „Porównawcza ocena właściwości przeciwarrytmicznych i hipotensyjnych ksantonowych pochodnych chiralnego 2-amino-1-butanolu”, a której wyniki zostały zaprezentowane podczas XVII Zjazdu Naukowego Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego w Poznaniu we wrześniu 1999 r.

Bezpośrednio po ukończeniu studiów na Wydziale Farmaceutycznym UJ CM, we wrześniu 1998 roku, rozpoczęłam pracę na etacie asystenta w Katedrze Farmakodynamiki UJ CM. W Katedrze Farmakodynamiki, w której byłam zatrudniona w latach 1998-2010, prowadziłam badania *in vivo* oceniające aktywność farmakologiczną nowych ligandów receptorów monoaminergicznych, a także wpływających na napięciowo zależne kanały sodowe. Prowadzone, przeze mnie w Katedrze badania, miały na celu ocenę potencjalnej aktywności przeciwarrytmicznej, hipotensyjnej, miejscowo znieczulającej, przeciwdrgawkowej oraz przeciwdepresyjnej pochodnych ksantonu, ze szczególnym uwzględnieniem ewentualnych różnic w aktywności farmakologicznej poszczególnych ich enancjomerów. Wyniki powyższych badań zostały przedstawione w publikacjach: D-13, D-14, A-32, A-34. Badania nad aktywnością krążeniową i ośrodkową chiralnych pochodnych 2-amino-1-butanolu stały się podstawą rozprawy doktorskiej pt. „Farmakologiczna ocena aktywności ośrodkowej, miejscowo znieczulającej oraz krążeniowej nowych aminobutanolowych pochodnych ksantonu”, którą przygotowałam pod opieką naukową promotora prof. dr hab. Ryszarda Czarneckiego, a obroniłam w grudniu 2006 roku. Swój warsztat badawczy poszerzyłam także o metody badań *ex vivo*, pozwalające na ocenę funkcjonalną czynności receptorów monoaminergicznych, a szczególnie adrenergicznych i serotonergicznych. Wyniki opisane w rozprawie doktorskiej opublikowałam w pracach D-11 i D-12. Jednocześnie brałam udział w badaniach behawioralnych związanych z oceną aktywności ośrodkowej nowych analogów GABA (publikacja A-28 i A-33).

5.2. DZIAŁALNOŚĆ NAUKOWA PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA

W latach 2006-2008 **kierowałam** projektem statutowym pt. „Nowe pochodne [3,4-d]-pirydazyny o potencjalnej aktywności przeciwbólowej” (356/P/F), które to badania zaowocowały wyselekcjonowaniem wysoce aktywnych przeciwbólowo struktur, które zostały opatentowane w roku 2012 (B-1 – B-4), a wyniki badań farmakologicznych opublikowałam w pracy A-29. Następnie, w latach 2009-2010, **kierowałam** projektem z dotacji statutowych „Badanie własności farmakologicznych nowych arylopiperazynoalkilowych pochodnych hydantoiny o potencjalnej aktywności α -adrenolitycznej.” (K/ZBW/000401), w którym wykonywałam badania farmakologiczne *ex vivo* na izolowanej aorcie szczura. Badania te doprowadziły do wyselekcjonowania serii pochodnych hydantoiny o istotnym, α -adrenolitycznym działaniu (publikacja A-26).

W roku 2008 rozpoczęłam współpracę w ramach konsorcjum realizującego projekt zatytułowany „Opracowanie innowacyjnego leku stosowanego w terapii schorzeń Ośrodkowego Układu Nerwowego (OUN) schizofrenii, depresji i lęku, badania przedkliniczne.” Ten multidyscyplinarny projekt realizowany był w latach 2008-2013 przez konsorcjum naukowo-badawcze, koordynowane przez firmę ADAMED, a składające się z naukowców z Wydziału Farmaceutycznego UJ CM, Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie oraz Politechniki Krakowskiej. Projekt dofinansowany był przez NCBiR w ramach programu Inicjatywa Technologiczna I. (KB/88/12655/IT1-C/U/08). W projekcie tym byłam współwykonawcą behawioralnych badań farmakologicznych, nowo syntetyzowanych w ramach projektu substancji, u gryzoni. Współpraca ta zaowocowała publikacjami: A-9, A-16, A-20, A-31.

We wrześniu 2010 roku rozpoczęłam pracę na etacie adiunkta w Zakładzie Farmacji Klinicznej UJ CM, gdzie jestem zatrudniona do chwili obecnej. Badania naukowe realizowane przez zespół Zakładu Farmacji Klinicznej, koncentrują się na poszukiwaniach nowych, biologicznie aktywnych związków będących ligandami receptorów monoaminergicznych wpływających na czynność ośrodkowego układu nerwowego. Badania zależności struktura chemiczna-powinowactwo-aktywność farmakologiczna dotyczą głównie ligandów receptorów serotoninergeicznych i dopaminergicznych oraz ich potencjalnych efektów działania w zwierzęcych testach i modelach schizofrenii, depresji czy lęku, a także ich wpływie na procesy kognitywne. Celem prowadzonych badań jest uzyskanie potencjalnych, nowych substancji leczniczych w tych schorzeniach lub narzędzi badawczych użytecznych w testach farmakologicznych. Prowadzone tu badania koncentrują się na możliwie wszechstronnym poznawaniu mechanizmów związanych z regulacyjną rolą 5-HT w

organizmie, a szczególnie w ośrodkowym układzie nerwowym, ze szczególnym uwzględnieniem roli i ligandów receptorów 5-HT_{1A}, 5-HT₆ oraz 5-HT₇.

Badania, których byłam kierownikiem:

W latach 2013-2015 byłam **kierownikiem** projektu z dotacji statutowych „Badania ośrodkowej aktywności farmakologicznej 4-arylopiperazyno-alkilowych pochodnych 3,3-dipodstawionego pirolidyno-2,5-dionu o potencjalnym działaniu przeciwdrgawkowym” (K/ZDS/004123), w ramach którego przebadalam potencjalną aktywność przeciwlękową, przeciwdepresyjną oraz przeciwdrgawkową wybranych pochodnych pirolidyno-2,5-dionu w testach *in vivo* u gryzoni (publikacja D-10). Następny projekt z dotacji statutowych (na lata 2016-2018), którego kierownikiem jestem obecnie pt. „Badanie aktywności ośrodkowej arylopiperazynowych pochodnych 5-arylo-5-metylohydantoinowych, selektywnych ligandów receptora 5-HT_{1A} oraz 5-HT₇” (K/ZDS/006134) koncentruje się na badaniu aktywności farmakologicznej, a szczególnie ocenie potencjalnego działania przeciwdepresyjnego i przeciwlękowego, nowych pochodnych hydantoiny o aktywności antagonistycznej wobec receptora 5-HT₇ i pewnym, ale nieznacznym powinowactwie do receptora 5-HT_{1A}. Owocem przeprowadzonych przeze mnie badań farmakologicznych dla tych substancji syntetyzowanych w Katedrze Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych UJ CM są publikacje A-2, A-3, A-5 i D-1. Kontynuując tę współpracę, obecnie jestem wykonawcą w projekcie OPUS pt. „Triazynowe ligandy receptora serotoninowego 5-HT₆ – nowa perspektywa w terapii współczesnych chorób cywilizacyjnych” (Grant OPUS NCN Nr UMO-2015/17/B/NZ7/02973, projekt realizowany w latach: 2016-2019). Pierwsze otrzymane wyniki badań behawioralnych, wskazujących na potencjalną aktywność przeciwdepresyjną w grupie pochodnych 4-benzyl-1,3,5-triazyny, zostały przedstawione w pracy A-7.

Zakład Farmacji Klinicznej współpracuje naukowo również z Katedrą Chemii Farmaceutycznej UJ CM, gdzie od szeregu lat prowadzone są badania nad modyfikacjami chemicznymi długołańcuchowych arylo-alkilo-piperazyn (LCAPs), które to dają możliwości uzyskania nowych ligandów, w tym szczególnie mnie interesujących, ligandów receptorów serotoninergicznych 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₆ i 5-HT₇ oraz dopaminergicznych D₁, D₂, D₃ i D₄. Poszukiwania zależności struktura – aktywność koncentrują się na spodziewanym działaniu przeciwpowrotkowym, przeciwdepresyjnym i/lub przeciwlękowym. W grupie LCAPs skoncentrowano się na pochodnych 7,8-dipodstawionych teofiliny (ligandy receptorów 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} i 5-HT₇) oraz pochodnych zawierających ugrupowanie chinolinowe i izochinolinowe (antagoniści receptorów 5-HT₇). W ramach współpracy z Katedrą Chemii Farmaceutycznej UJ CM byłam **wykonawcą** badań farmakologicznych w projektach:

1. „Biomimetyki LCAP - pochodne amin alicyklicznych, jako nowa klasa ligandów dla receptorów monoaminergicznych” (Grant NCN nr UMO-2012/05/B/NZ7/03076, wykonywany w latach 2013-2016) w ramach którego uzyskano interesującą aktywność przeciwłkową dla pochodnej 7,8-teofiliny oraz przeciwdepresyjną dla pochodnej chinolinowej LCAPs co zaowocowało licznymi publikacjami, których jestem współautorem: A-8, A-12, A-14, A-18;
2. „Synteza i właściwości farmakologiczne mono-, di- i triheterocyklicznych pochodnych azolowych, jako kombinowanych ligandów receptorowych i inhibitorów fosfodiesteraz o potencjalnym działaniu psychotropowym.” (Grant NCN nr UMO-2012/07/B/NZ7/01173, projekt wykonywany w latach 2013-2016). W ramach projektu wyselekcjonowano struktury będące pochodnymi 8-aminopuryno-2,3-dionu o multireceptorowym profilu oraz potencjalnej aktywności przeciwpsychotycznej i przeciwdepresyjnej wykazanej w testach behawioralnych u gryzoni. Wyniki tych badań opisano w pracy A-15, której jestem współautorem;
3. „Poszukiwanie nowych ligandów receptorów 5-HT₆ i 5-HT₇ o potencjalnym działaniu ośrodkowym” (MNiSW nr NN405 671540; projekt realizowany w latach: 2011-2013). Rezultatem badań behawioralnych, które wykonywałam w tym projekcie, jest publikacja A-19. Przedstawiono w niej wyniki badań *in vivo*, dotyczące istotnej i specyficznej aktywności przeciwdepresyjnej wyselekcjonowanych LCAPs, wykazujących istotne powinowactwo do receptorów 5-HT₇ i 5-HT_{1A};
4. „Poszukiwanie związków biologicznie aktywnych wśród ligandów receptorów serotoninowych, szczególnie 5-HT₇, i dopaminowych o potencjalnym działaniu psychotropowym” (Grant NCN Nr UMO-2011/01/B/NZ4/00695; projekt realizowany w latach 2011-2014). W projekcie uzyskano aktywne pochodne imidazo[2,1-f]puryno-2,4-dionu wykazujące aktywność agonistyczną wobec presynaptycznych receptorów 5HT_{1A} oraz antagonistyczną wobec postsynaptycznych receptorów 5HT_{1A}, 5HT_{2A} i D₂. W badaniach behawioralnych nowych pochodnych wykazano istotne działanie przeciwpsychotyczne oraz dodatkowo przeciwdepresyjne i przeciwłkowe. Wyniki te wyniki zostały zaprezentowane w pracach A-21 i A-22;
5. “Poszukiwanie nowych związków biologicznie aktywnych o potencjalnym działaniu psychotropowym w grupie ligandów receptorów monoaminergicznych” (Grant MNiSW Nr NN 405 378437; projekt realizowany w latach 2009-2012). W ramach projektu uczestniczyłam w wykonywaniu badań behawioralnych (aktywności przeciwpsychotycznej i przeciwdepresyjnej) dla nowosyntetyzowanych struktur będących funkcjonalnymi analogami arypiprazolu. W ramach projektu otrzymano pochodne o istotnej aktywności, które opisano w pracach A-23, A-24, A-27 i A-30;

6. „Nowa nieamyloidowa terapia zaburzeń poznawczych” finansowanym przez NCBiR o numerze PBS3/B7/20/2015. W ramach prac prowadzonych przez konsorcjum badawcze NATCo (Wydział Farmaceutyczny UJ CM, Instytut Farmakologii PAN, firma farmaceutyczna CELON Pharma SA) uczestniczyłam w wykonywaniu badań aktywności przeciwdepresyjnej i przeciwpsychotycznej u gryzoni, a wyniki tych doświadczeń zostały zaprezentowane w pracach A-13 i A-18.
7. „Synteza i właściwości farmakologiczne zróżnicowanych strukturalnie analogów PQ-10 jako wielofunkcyjnych ligandów o możliwości poprawy funkcji poznawczych w zwierzęcych modelach depresji, lęku i schizofrenii” (Grant SONATA NCN Nr UMO-2016/21/D/NZ7/01573; projekt przeznaczony na lata 2017-2020). Badania aktywności ośrodkowej nowych pochodnych opracowanych w ramach tego projektu trwają;
8. „Poszukiwanie selektywnych funkcjonalnie agonistów receptora 5-HT_{1A} jako nowych narzędzi farmakologicznych w opracowaniu terapii schorzeń psychiatrycznych i neurodegeneracyjnych” (Grant OPUS NCN Nr UMO-Dec/2015/19/B/NZ7/03543) realizacja projektu w latach 2016-2019). W ramach tego projektu wykonuję badania w kierunku aktywności przeciwdepresyjnej i przeciwłękowej nowych, funkcjonalnie selektywnych agonistów receptora 5-HT_{1A}. Dotychczas uzyskane wyniki opublikowano w artykule A-4.

W celu poszerzenia badań nad związkiem EMD 386088, którego badania aktywności przeciwdepresyjnej i przeciwłękowej stanowią podstawę mojego osiągnięcia habilitacyjnego, nawiązałam współpracę z dr n. farm. Magdaleną Kotańską z Zakładu Wstępnych Badań Farmakologicznych Katedry Farmakodynamiki UJ CM. W ramach tej współpracy wykonane zostały oznaczenia wpływu EMD 386088 na procesy metaboliczne i związane z tym ryzyko sercowo-naczyniowe. W tym celu szczury, którym przewlekłe (przez 21 dni) podawano związek EMD 386088 (5 i 2.5 mg/kg/dzień) badane były w dwóch modelach otyłości: nadmiernego objadania się paszą preferencyjną oraz żywieniem paszą bogato-tłuszczową. U zwierząt otrzymujących EMD 386088 w dawce 5 mg/kg zaobserwowano istotne statystycznie zmniejszenie masy ciała szczurów w obu modelach, co jest dobrym wstępem do dalszych badań tej substancji w kierunku potencjalnych możliwości jej stosowania w terapii otyłości. Uzyskane wyniki badań zostały opublikowane w pracy A-10.

Realizując badania behawioralne w Zakładzie Farmacji Klinicznej, inne niż uprzednio wymienione, jestem współautorem prac powstałych w wyniku współpracy z:

- dr Jackiem Stefanowiczem z Katedry Technologii Leków i Biotechnologii Farmaceutycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, w wyniku której przebadano serię związków będących pochodnymi 3-aminotropanu. Oznaczając ich aktywność wewnętrzną *in vivo* wobec

receptorów 5-HT_{1A} i D₂ oraz wykonując badania behawioralne wykazano ich potencjalną aktywność przeciwpsychotyczną. Wyniki przeprowadzonych badań opublikowano w pracy A-11;

- dr hab. Karoliną Pytką z Katedry Farmakodynamiki UJ CM, w wyniku której wykazano istotną aktywność przeciwdepresyjną i przeciwłękową nowych, fenylopiperazynowych antagonistów receptorów serotonergicznym 5-HT_{1A} i 5-HT₇ w testach behawioralnych u myszy, a które to wyniki przedstawiono w pracy A-17;
- dr hab. Agnieszką Zagórką z Katedry Chemii Farmaceutycznej UJ CM polegającą na oznaczeniu aktywności wewnętrznej *in vivo* nowych pochodnych teofiliny wobec receptorów 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} i D₂ oraz ich potencjalną aktywność przeciwpsychotyczną i /lub przeciwdepresyjną. Wyniki tych badań zostały opublikowane w pracy A-25;
- dr hab. Kingą Sałat, prof. UJ z Katedry Farmakodynamiki UJ CM polegającą na współudziale w wykonywaniu badań farmakologicznych *in vivo* i oznaczeń immunoenzymatycznych prostaglandyny PGE₂ metodą ELISA dla pochodnych gamma-butyrolaktonu wykazujących istotną aktywność przeciwbólową. Uzyskane wyniki zostały przedstawione w pracy D-9;
- dr Adrianem Newman-Tancredim oraz dr Markiem A. Varneyem z firmy Neurolix Inc. w Dana Point, Kalifornia, USA. Współpraca ta dotyczy badań nad aktywnością farmakologiczną selektywnych funkcjonalnie agonistów receptorów 5-HT_{1A} oraz możliwościami potencjalnego ich wykorzystania jako nowych narzędzi farmakologicznych w opracowaniu terapii schorzeń psychiatrycznych i neurodegeneracyjnych w ramach grantu (OPUS NCN Nr UMO-Dec/2015/19/B/NZ7/03543) realizowanego we współpracy z Katedrą Chemii Farmaceutycznej UJ CM (publikacja A-4), ale również wykraczające poza jego ramy. Wyniki przeprowadzonych, poszerzonych badań nad aktywnością selektywnych funkcjonalnie agonistów receptorów 5-HT_{1A} stały się przedmiotem ubiegania się, wraz z firmą Neurolix o ochronę patentową. W czerwcu 2017 roku zostało wysłane do Europejskiego Urzędu Patentowego zgłoszenie o numerze BET 17P1742-MOM, a obecnie toczy się postępowanie patentowe.

Obecnie realizuję także badania behawioralne w ramach kolejnych grantów zatytułowanych „Ligandy receptorów 5-HT₆ jako dodatek do przeciwpsychotycznej terapii schizofrenii – wpływ na masę ciała, parametry metaboliczne, zaburzenia kognitywne i zaburzenia nastroju” (Grant OPUS NCN Nr UMO-2015/19/B/NZ7/00227) oraz „Synteza i badania farmakologiczne nowych pochodnych benzizoksazolopropylololidyny jako wielofunkcyjnych ligandów o potencjalnych właściwościach prokognitywnych i przeciwpsychotycznych” (Grant SONATA NCN Nr UMO-2014/15/D/NZ7/01789).

Poza pracą naukowo-badawczą z prawdziwą przyjemnością zajmowałam się i nadal zajmuję dydaktyką, prowadząc zajęcia ze studentami V roku Farmacji z przedmiotu Farmakoterapia, II roku Kosmetologii z przedmiotu Substancje lecznicze w kosmetologii. W roku akademickim 2016/2017 prowadziłam seminaria dla studentów I i II roku Pielęgniarstwa z przedmiotów Farmakologia oraz Farmakologia kliniczna. Praca dydaktyczna przekłada się na współautorstwo publikacji przeglądowych, pisanych także z udziałem studentów, które omawiają współczesne możliwości farmakoterapii i terapii schorzeń takich jak cukrzyca ciążowa (praca D-7), łuszczyca (praca D-5), jadłowstręt psychiczny (praca D-8), otyłość (praca D-6), trądzik pospolity (praca D-4), bakteryjne zakażenia skóry (praca D-3) oraz cellulit (praca D-2).

Podsumowanie dorobku naukowego po otrzymaniu stopnia doktora (wyłączając publikacje stanowiące osiągnięcie naukowe):

Liczba publikacji: 42

Łączny *impact factor*: 100,906

Łączna liczba punktów MNiSW: 996.

5.3. UDZIAŁ W PROJEKTACH BADAWCZYCH

- 2017-2020 **Wykonawca** projektu „Synteza i właściwości farmakologiczne zróżnicowanych strukturalnie analogów PQ-10 jako wielofunkcyjnych ligandów o możliwości poprawy funkcji poznawczych w zwierzęcych modelach depresji, lęku i schizofrenii” Grant SONATA NCN Nr UMO-2016/21/D/NZ7/01573
- 2016-2019 **Wykonawca** projektu zatytułowanego „Poszukiwanie selektywnych funkcjonalnie agonistów receptora 5-HT_{1A} jako nowych narzędzi farmakologicznych w opracowaniu terapii schorzeń psychiatrycznych i neurodegeneracyjnych” (Grant OPUS NCN Nr UMO-Dec/2015/19/B/NZ7/03543)
- 2016-2019 **Wykonawca** projektu zatytułowanego „Triazynowe ligandy receptora serotoninowego 5-HT₆ – nowa perspektywa w terapii współczesnych chorób cywilizacyjnych” (Grant OPUS NCN Nr UMO-2015/17/B/NZ7/02973)
- 2016-2019 **Wykonawca** projektu zatytułowanego „Ligandy receptorów 5-HT₆ jako dodatek do przeciwpsychotycznej terapii schizofrenii – wpływ na masę ciała, parametry metaboliczne, zaburzenia kognitywne i zaburzenia nastroju” (Grant OPUS NCN Nr UMO-2015/19/B/NZ7/00227)
- 2015-2018 **Wykonawca** projektu zatytułowanego– „Synteza i badania farmakologiczne nowych pochodnych benzizoksazolopropylpirolidyny jako wielofunkcyjnych ligandów o potencjalnych właściwościach prokognitywnych i przeciwpsychotycznych” (Grant NCN Nr UMO-2014/15/D/NZ7/01789)
- 2013-2016 **Wykonawca** projektu zatytułowanego „Biomimetyki LCAP - pochodne amin alicyklicznych, jako nowa klasa ligandów dla receptorów monoaminergicznych”

(Grant NCN nr UMO-2012/05/B/NZ7/03076)

- 2013-2016 **Wykonawca** projektu zatytułowanego „Synteza i właściwości farmakologiczne mono-, di- i triheterocyklicznych pochodnych azolowych, jako kombinowanych ligandów receptorowych i inhibitorów fosfodiesteraz o potencjalnym działaniu psychotropowym.” (Grant NCN nr UMO-2012/07/B/NZ7/01173)
- 2015 **Wykonawca** projektu zatytułowanego „Nowa nieamyloidowa terapia zaburzeń poznawczych” finansowanego przez NCBiR o numerze PBS3/B7/20/2015 w ramach w konsorcjum badawczego NATCo w projekcie Prokog współfinansowanego przez Unię Europejską (UDA-POIG.01.03.01-12-063/09-00)
- 2011-2013 **Wykonawca** projektu zatytułowanego „Poszukiwanie nowych ligandów receptorów 5-HT₆ i 5-HT₇ o potencjalnym działaniu ośrodkowym” (MNiSW nr N N405 671540)
- 2011-2014 **Wykonawca** projektu zatytułowanego „Poszukiwanie związków biologicznie aktywnych wśród ligandów receptorów serotoninowych, szczególnie 5-HT₇, i dopaminowych o potencjalnym działaniu psychotropowym” (Grant NCN Nr UMO-2011/01/B/NZ4/00695)
- 2009-2012 **Wykonawca** projektu zatytułowanego “Poszukiwanie nowych związków biologicznie aktywnych o potencjalnym działaniu psychotropowym w grupie ligandów receptorów monoaminergicznych” (Grant MNiSW Nr NN 405 378437)
- 2008-2012 **Wykonawca** projektu zatytułowanego „Opracowanie innowacyjnego leku stosowanego w terapii schorzeń Ośrodkowego Układu Nerwowego (OUN) schizofrenii, depresji i lęku, badania przedkliniczne.” Projekt realizowany przy współpracy z firmą ADAMED, dofinansowany przez NCBiR w ramach programu Inicjatywa Technologiczna I. (KB/88/12655/IT1-C/U/08)
- 2016-2018 **Kierownik** projektu z dotacji statutowych „Badanie aktywności ośrodkowej arylopiperazynowych pochodnych 5-arylo-5-metylohydantoinowych, selektywnych ligandów receptora 5-HT_{1A} oraz 5-HT₇” (K/ZDS/006134)
- 2013-2015 **Kierownik** projektu z dotacji statutowych „Badania ośrodkowej aktywności farmakologicznej 4-arylopiperazyno-alkilowych pochodnych 3,3-dipodstawionego piroolidyno-2,5-dionu o potencjalnym działaniu przeciwdrgawkowym” (K/ZDS/004123)
- 2009-2010 **Kierownik** projektu z dotacji statutowych „Badanie własności farmakologicznych nowych arylopiperazynoalkilowych pochodnych hydantoiny o potencjalnej aktywności α -adrenolitycznej.” (K/ZBW/000401)
- 2006-2008 **Kierownik** projektu statutowego „Nowe pochodne [3,4-d]-pirydazyny o potencjalnej aktywności przeciwbólowej” (356/P/F)

5.4. *PODSUMOWANIE CAŁEGO DOROBKU NAUKOWEGO*

- **Sumaryczny Impact Factor dla całego dorobku naukowego: 122,349**
- **Łączna liczba punktów MNiSW dla całego dorobku naukowego: 1235**
- **Łączna liczba cytowań =371** (*Web of Science Core Collection 1945-2018 z dnia 29.05.2018 r.*).
- **Współczynnik Hirscha = 12** (*Web of Science Core Collection 1945-2018 z dnia 29.05.2018 r.*).

Łączna liczba publikacji: 55, w tym:

- ✓ Publikacje znajdujące się w bazie Journal Citation Reports: 41
- ✓ Pozostałe publikacje: 14

Liczba projektów badawczych: 16, w tym:

- ✓ Kierownik projektu: 4
- ✓ Wykonawca projektu: 12

Łączna liczba streszczeń ze zjazdów: 118, w tym:

- ✓ międzynarodowych: 78
- ✓ krajowych: 40

5.5. *PRZEBYTE SZKOLENIA I KURSY*

Szkolenia i warsztaty:

1. Udział w projekcie „Ars Docendi – rozwój kompetencji dydaktycznych kadry Uniwersytetu Jagiellońskiego” Poszukiwanie informacji i ocena wiarygodności danych; Kraków, 8 i 15 marca 2018r.
2. XXXV Szkoła Zimowa Instytutu Farmakologii PAN „Farmakoterapia zaburzeń funkcji poznawczych”, Kraków, 6-9 lutego 2018r.
3. Warsztaty dydaktyczne „Ars Docendi” pt. „Jak dobrze zaprojektować kurs.” Rok akademicki 2016/2017
4. Kurs: Aktualne możliwości terapii niektórych chorób układu nerwowego, Kraków, 18-19 listopad 2016r
5. Szkolenie dla osób odpowiedzialnych za planowanie procedur i doświadczeń; dla osób wykonujących procedury na zwierzętach oraz osób uśmiercających zwierzęta wykorzystywane w procedurach. Polskie Towarzystwo Nauk o Zwierzętach Laboratoryjnych PolLASA, Kraków, 28.09-01.10.2015r.
6. XXXII Szkoła Zimowa Instytutu Farmakologii PAN „Farmakologia kanabidoidów”, Kraków 13-16 stycznia 2015
7. Kurs w ramach projektu „Pro bono Collegii Medici Universitas Jagiellonicae” pt. „Zaawansowane techniki edukacyjne w naukach medycznych. Kurs zaawansowany – ocena efektów kształcenia”, Kraków, 30.01-27.02-2013r.
8. XXIX Szkoła Zimowa Instytutu Farmakologii PAN „Glej”, Kraków 8-10 luty 2012r
9. XXVII Szkoła Zimowa Instytutu Farmakologii PAN „Rytmy w ośrodkowym układzie nerwowym”, Kraków 16-19 luty 2010r
10. XXVII Szkoła Zimowa Instytutu Farmakologii PAN „Pobudzające aminokwasy III”, Kraków 17-20 luty 2009r.
11. XXIV Szkoła Zimowa Instytutu Farmakologii PAN „Pamięć: od neuronu do kliniki”, Kraków 14-17 luty 2007r
12. XIX Szkoła Zimowa Instytutu Farmakologii PAN „Schizofrenia: patogeneza i terapia”, Mogilany 20-22 luty 2002r

13. XVII Szkoła Zimowa Instytutu Farmakologii PAN „Pobudzające aminokwasy 2000 – aspekty związane z fizjologią oraz patologią i terapią schorzeń neuropsychiatrycznych”, Przegorzały 23-25 luty 2000r

14. Sympozjum „Neuropsychofarmakologia 2000 – dziś i jutro”; Kraków 20-21 październik 2000r

5.6. *RECENZJE PRAC NAUKOWYCH*

Expert Opinion On Investigational Drugs (IF=4,030)

Psychopharmacology (IF= 3,308)

Neurochemistry International (IF= 3,262)

Journal of Pharmacy and Pharmacology (IF= 2,405)

Cognitive, Affective and Behavioral Neuroscience (IF= 3,263)

Current Pharmaceutical Design (IF=2,611)

Pharmacological Reports (IF= 2,587)

5.7. *ORGANIZACJE NAUKOWE*

Członek: Polskiego Towarzystwa Farmakologicznego,
Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego,
Polskiego Towarzystwa Toksykologicznego.

Skarbnik Krakowskiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego.

5.8. *STAŻE NAUKOWE*

Staż luty – kwiecień 2002 r w Zakładzie Neurobiologii Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie – nauka oznaczenia powinowactwa do receptorów z wykorzystaniem techniki radioreceptorowej *in vitro*.

Staż luty-marzec 2017 r w Zakładzie Neurochemii Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie – nauka operacji stereotaktycznych i podań domózgowych leków oraz substancji biologicznie aktywnych

5.9. *WSPÓŁPRACA NAUKOWA*

Instytut Farmakologii PAN w Krakowie, Zakład Neurobiologii, Zakład Neurochemii, Zakład Chemii Leków

Instytut Psychiatrii i Neurologii w Warszawie, Zakład Farmakologii i Fizjologii Układu Nerwowego
Warszawski Uniwersytet Medyczny, Katedra Technologii Leków i Biotechnologii Farmaceutycznej
Wydział Farmaceutyczny we Wrocławiu, Katedra i Zakład Chemii Leków

Wydział Farmaceutyczny UJ CM, Katedra Chemii Farmaceutycznej, Katedra Farmakobiologii,
Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych, Katedra Farmakodynamiki
Neurolix Inc., Dana Point, USA

Adamed sp z oo, Czosnów k. Warszawy

CELON Pharma SA

6. NAGRODY I WYRÓŻNIENIA

Nagroda Dziekana Wydziału Farmaceutycznego UJ CM za osiągnięcia naukowe w 2017 r.
Nagroda Dziekana Wydziału Farmaceutycznego UJ CM za osiągnięcia naukowe w 2016 r.
Nagroda Dziekana Wydziału Farmaceutycznego UJ CM za osiągnięcia naukowe w 2015 r.
Brazowy Medal za Długoletnią Służbę – Prezydent Rzeczypospolitej Polskiej, 2016 r.

7. DZIAŁALNOŚĆ DYDAKTYCZNA I ORGANIZACYJNA

PRACA DYDAKTYCZNA

Do roku 2010, jako asystent a następnie adiunkt w Katedrze Farmakodynamiki UJ CM, prowadziłam zajęcia (seminaria i ćwiczenia) dla studentów IV roku Farmacji z przedmiotu Farmakologia z Farmakodynamiką. Po przejściu, w październiku 2010, do Zakładu Farmacji Klinicznej UJ CM prowadzę zajęcia seminaryjno-ćwiczeniowe ze studentami V roku Farmacji z przedmiotu Farmakoterapia oraz I roku Kosmetologii z przedmiotu Substancje Lecznicze w Kosmetologii. W roku akademickim 2016/2017 prowadziłam seminaria dla studentów I i II roku Pielęgniarstwa z przedmiotów Farmakologia oraz Farmakologia kliniczna. W ramach pracy dydaktycznej opracowuję także zestawy kolokwii oraz pytania egzaminacyjne, współtworzę Sylabus powyższych przedmiotów, obsługuję system USOS UJ i Pegaz UJ.

Od roku akademickiego 2015/2016 jestem opiekunem Studenckiego Koła Naukowego przy Zakładzie Farmacji Klinicznej, którego uczestnicy biorą aktywny udział w konferencjach naukowych (II nagroda dla studentki, której byłam opiekunem, za prezentację ustną na 25th. IMSC w Krakowie w roku 2017, II i III nagroda dla studentów na 26th IMSC w Krakowie w roku 2018). W ramach działalności poza pensum dydaktycznym ale w ramach Uniwersytetu Jagiellońskiego prowadziłam seminaria szkoleniowe z farmakoterapii cukrzycy dla studentów Farmacji, przygotowujących się do akcji promującej wiedzę na temat cukrzycy wśród osób zdrowych, z grupy ryzyka jak i chorych pt. „Zapytaj farmaceutę”. Prowadziłam również warsztaty naukowe pt. „In the morning or in the evening – does the time of taking medicine has an impact on their effect?” w ramach 26th IMSC 2018 w Krakowie.

W ciągu mojej pracy naukowo-dydaktycznej byłam opiekunem 28 prac magisterskich, w tym 18 na kierunku Farmacja oraz 10 na kierunku Kosmetologia Wydziału Farmaceutycznego UJ CM.

Sprawowałam opiekę naukowo-dydaktyczną nad zagranicznymi studentami w ramach programu Erasmus+:

- studentki z Hiszpanii:
 - ✓ Isabel Serrano Lillo, Complutense University of Madrid, 02-06.2014 r.
 - ✓ Lucía Quesada Muñoz, Complutense University of Madrid, 02-06.2015 r.

- studentka z Włoch: Martina De Marco, Università della Calabria, 03-06.2017 r.

Doskonalenie warsztatu dydaktycznego przez udział i ukończenie w kursów:

1. Projekt „Ars Docendi – rozwój kompetencji dydaktycznych kadry Uniwersytetu Jagiellońskiego” Poszukiwanie informacji i ocena wiarygodności danych; Kraków, 8 i 15 marca 2018 r.
2. Warsztaty dydaktyczne „Ars Docendi” pt. Jak dobrze zaprojektować kurs. Rok akademicki 2016/2017
3. Kurs w ramach projektu „Pro bono Collegii Medici Universitas Jagiellonicae” pt. „Zaawansowane techniki edukacyjne w naukach medycznych. Kurs zaawansowany – ocena efektów kształcenia”, Kraków, 30.01-27.02-2013 r.

DZIAŁALNOŚĆ ORGANIZACYJNA

Od 2015 r. pracuję w Zespole ds. Dobrostanu Zwierząt przy Wydziale Farmaceutycznym UJ CM oraz uczestniczę w pracach Wydziałowego Zespołu ds. Jakości Kształcenia na Wydziale Farmaceutycznym UJ CM. Od 2015 r. do chwili obecnej jestem osobą odpowiedzialną w Zakładzie Farmacji Klinicznej UJ CM za sprawy związane z dobrostanem zwierząt wykorzystywanych w doświadczeniach. Również od 2015 r. pełnię funkcję opiekuna dydaktycznego studentów kierunku Farmacja odbywających 6-cio miesięczną praktykę zawodową w aptece oraz opiekuna Studenckiego Koła Naukowego przy Zakładzie Farmacji Klinicznej UJ CM. W latach 2011-2014 byłam członkiem Zespołu ds. programu kształcenia na kierunku Kosmetologia prowadzonym na Wydziale Farmaceutycznym UJ CM. Od 2017 r. pełnię funkcję skarbnika Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego oddział Kraków.

Magdalena Januszczyk