

UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM



AUTOREFERAT

Anna Rapacz

Katedra i Zakład Farmakodynamiki

Wydział Farmaceutyczny

Kraków 2018

Spis treści

1. Imię i nazwisko	3
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe	3
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych	3
4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. 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
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego	4
4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego	4
4.3. Prezentacja wyników stanowiących podstawę habilitacji.....	7
4.3.1. Wprowadzenie	7
4.3.2. Cel pracy	19
4.3.3. Wyniki badań i wnioski.....	22
4.3.4. Podsumowanie	33
5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych	34
5.1. Aktywność naukowo-badawcza przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych	34
5.2. Aktywność naukowo-badawcza po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych	36
6. Podsumowanie całego dorobku naukowego	42
7. Piśmiennictwo	43

1. Imię i nazwisko

Anna Rapacz

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

- 2012** **doktor nauk farmaceutycznych** – Zakład Farmakodynamiki, Katedra Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków
Tytuł rozprawy doktorskiej: „Właściwości przeciwarrytmiczne i hipotensyjne nowych pochodnych ksantonu o aktywności adrenolitycznej”
Promotor: Prof. dr hab. Barbara Filipek
- 2004** **dyplom** ukończenia Studiów Podyplomowych z Biologii Molekularnej, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków
- 2003** **magister farmacji** – Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków
Praca magisterska pt.: „Udział grzybów *Candida* w zakażeniach u chorych hospitalizowanych na oddziałach intensywnej terapii” wykonana w Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej, opiekun: dr Danuta Trojanowska

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- 2014-obecnie** **adiunkt** – Zakład Farmakodynamiki, Katedra Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków
- 2004-2014** **asystent** – Zakład Farmakodynamiki, Katedra Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. 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

„Aktywność przeciwdrgawkowa oraz analgetyczna nowych pochodnych pirolidyno-2,5-dionu”

4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego

H1. Rybka S., Obniska J.*, **Rapacz A.**, Filipek B., Kamiński K., **2014.** Synthesis, physicochemical and anticonvulsant properties of new *N*-Mannich bases derived from pyrrolidine-2,5-dione and its 3-methyl analog. *Archiv der Pharmazie* 347, 768-776.

Wiley; IF₂₀₁₄ = 1,531; MNiSW₂₀₁₄ = 20 pkt; *autor korespondujący

H2. **Rapacz A.***, Rybka S., Obniska J., Sałat K., Powroźnik B., Pękała E., Filipek B., **2016.** Evaluation of anticonvulsant and antinociceptive properties of new *N*-Mannich bases derived from pyrrolidine-2,5-dione and 3-methylpyrrolidine-2,5-dione. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 389, 339-348.

Springer; IF₂₀₁₆ = 2,558; MNiSW₂₀₁₆ = 25 pkt; *autor korespondujący

H3. Obniska J.*, **Rapacz A.**, Rybka S., Powroźnik B., Pękała E., Filipek B., Żmudzki P., Kamiński K., **2015.** Design, synthesis and biological activity of new amides derived from 3-methyl-3-phenyl-2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yl-acetic acid. *European Journal of Medicinal Chemistry* 102, 14-25.

Elsevier; IF₂₀₁₅ = 3,902; MNiSW₂₀₁₅ = 40 pkt; *autor korespondujący

H4. Obniska J.*, **Rapacz A.**, Rybka S., Góra M., Kamiński K., Sałat K., Żmudzki P., **2016.** Synthesis, and anticonvulsant activity of new amides derived from 3-methyl- or 3-ethyl-3-methyl-2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yl-acetic acids. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 24, 1598-1607.

Elsevier; IF₂₀₁₆ = 2,930; MNiSW₂₀₁₆ = 25 pkt; *autor korespondujący

H5. Rapacz A.*, Obniska J., Wiklik-Poudel B., Rybka S., Sałat K., Filipek B., **2016**. Anticonvulsant and antinociceptive activity of new amides derived from 3-phenyl-2,5-dioxopyrrolidine-1-yl-acetic acid in mice. *European Journal of Pharmacology* 781, 239-249.

Elsevier; IF₂₀₁₆ = 2,896; MNiSW₂₀₁₆ = 30 pkt; *autor korespondujący

H6. Kamiński K.*, **Rapacz A.**, Łuszczki J., Latacz G., Obniska J., Kieć-Kononowicz K., Filipek B., **2015**. Design, synthesis and biological evaluation of new hybrid anticonvulsants derived from *N*-benzyl-2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)propanamide and 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)butanamide derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 23, 2548-2561.

Elsevier; IF₂₀₁₅ = 2,923; MNiSW₂₀₁₅ = 30 pkt; *autor korespondujący

H7. Rapacz A.*, Kamiński K., Obniska J., Koczurkiewicz P., Pękala E., Filipek B., **2017**. Analgesic, antiallodynic, and anticonvulsant activity of novel hybrid molecules derived from *N*-benzyl-2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)propanamide and 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)butanamide in animal models of pain and epilepsy. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 390, 567-579.

Springer; IF₂₀₁₆ = 2,558¹; MNiSW₂₀₁₆ = 25 pkt; *autor korespondujący

H8. Kamiński K.*, **Rapacz A.**, Filipek B., Obniska J., **2016**. Design, synthesis and anticonvulsant activity of new hybrid compounds derived from *N*-phenyl-2-(2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yl) propanamides and butanamides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 24, 2938-2946.

Elsevier; IF₂₀₁₆ = 2,930; MNiSW₂₀₁₆ = 25 pkt; *autor korespondujący

H9. Rapacz A.*, Głuch-Lutwin M., Mordyl B., Filipek B., Abram M., Kamiński K., **2018**. Evaluation of anticonvulsant and analgesic activity of new hybrid compounds derived from *N*-phenyl-2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)-propanamides and –butanamides. *Epilepsy Research* 143, 11-19.

Elsevier; IF₂₀₁₆ = 2,367²; MNiSW₂₀₁₆ = 25 pkt; *autor korespondujący

H10. Obniska J., **Rapacz A.**, Rybka S., Góra M., Żmudzki P., Kamiński K*., **2017**. Synthesis and Anticonvulsant Properties of New 3,3-Diphenyl-2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yl-acetamides and 3,3-Diphenyl-propionamides. *Archiv der Pharmazie* 2017, 350, e1600368.

Wiley; IF₂₀₁₆ = 1,994¹; MNiSW₂₀₁₆ = 20 pkt; *autor korespondujący

¹ Podano punktację z roku 2016 z uwagi na brak danych z roku 2017

² Podano punktację z roku 2016 z uwagi na brak danych z roku 2018

H11. Rapacz A.*, Obniska J., Koczurkiewicz P., Wójcik-Pszczola K., Siwek A., Gryboś A., Rybka S., Karcz A., Pękala E., Filipek B., **2018**. Antiallodynic and antihyperalgesic activity of new 3,3-diphenylpropionamides with anticonvulsant activity in models of pain in mice. *European Journal of Pharmacology* 821, 39-48.

Elsevier; IF₂₀₁₆ = 2,896³; MNiSW₂₀₁₆ = 30 pkt; *autor korespondujący

Sumaryczny współczynnik oddziaływania *impact factor* publikacji stanowiących podstawę habilitacji wynosi **IF = 29,485**, co odpowiada punktacji **MNiSW = 295**.

W 5 pracach jestem pierwszym autorem oraz autorem korespondującym, a mój średni procentowy udział w prezentowanych publikacjach wynosi **59%**.

³ Podano punktację z roku 2016 z uwagi na brak danych z roku 2018

4.3. Prezentacja wyników stanowiących podstawę habilitacji

4.3.1. Wprowadzenie

4.3.1.1. Padaczka

Padaczka (epilepsja) jest najczęstszą poważną przewlekłą chorobą neurologiczną, która dotyka około 65 milionów ludzi na świecie i dotyczy osób w każdym wieku [Moshé i wsp. 2015; Schmidt i Schachter 2014]. Wystąpienie napadu padaczkowego związane jest z nagłym, przejściowym zaburzeniem czynności mózgu wskutek nadmiernych wyładowań elektrycznych w komórkach nerwowych. Natomiast, termin padaczka obejmuje wiele zespołów i jednostek chorobowych o bardzo złożonym patomechanizmie [Brodie i wsp. 2018]. W etiologii padaczki uwzględnia się m.in. czynniki genetyczne, wady strukturalne i metaboliczne ośrodkowego układu nerwowego (OUN) oraz różnorodne mechanizmy molekularne, obejmujące zaburzenia równowagi pomiędzy procesami pobudzającymi i hamującymi w OUN (nadmierna aktywność receptorów glutaminianergicznych, niedostateczne hamowanie przez receptory GABA_A, dysfunkcja zależnych od napięcia kanałów jonowych), a także zmiany w funkcjonowaniu komórek glijowych. Proces epileptogenezy obejmuje szereg zmian zachodzących w neuronach oraz sieciach neuronalnych, które prowadzą do zmian w funkcji neuronów, wystąpienia klinicznych napadów padaczkowych i rozwoju padaczki [Łukawski i wsp. 2018]. Ponadto w ostatnich latach podjęto szereg badań w celu wyjaśnienia roli komórek glicji, a także dysfunkcji znajdujących się tam kanałów jonowych oraz receptorów, w procesie epileptogenezy [Coulter i Steinhäuser 2015; Heuser i wsp. 2014].

Aktualna klasyfikacja rodzajów napadów padaczkowych przedstawiona w 2017 r. przez Międzynarodową Ligę Przeciwpadaczkową (*International League Against Epilepsy* - ILAE) wymienia napady o początku ogniskowym, uogólnionym, nieznanym oraz napady niesklasyfikowane [Brodie i wsp. 2018]. Napady o początku ogniskowym obejmują napady z zachowaną bądź zaburzoną świadomością o początku ruchowym (automatyzmy, atoniczny, kloniczny, napad zgięciowy, hiperkinetyczny, miokloniczny, toniczny) lub bez manifestacji ruchowej (autonomiczne, zatrzymanie behawioralne, poznawczy, emocjonalny, czuciowy), a także napad ogniskowy z ewolucją do dwustronnego napadu toniczno-klonicznego (wcześniej określany jako napad wtórnie uogólniony). Napady o uogólnionym początku obejmują napady ruchowe (toniczno-kloniczny, toniczny, kloniczny, miokloniczny, miokloniczno-toniczno-kloniczny, miokloniczno-atoniczny, atoniczny, napad zgięciowy) oraz napady bez manifestacji ruchowej (typowy, nietypowy, miokloniczny, mioklonie powiek). Natomiast wśród napadów o nieznanym początku wyróżnia się napady ruchowe (toniczno-kloniczny, napad zgięciowy) oraz napady bez manifestacji ruchowej (zatrzymanie behawioralne).

Leki przeciwpadaczkowe stanowią podstawę leczenia padaczki, której celem jest zapewnienie jak najlepszej poprawy jakości życia pacjenta, poprzez zmniejszenie częstości napadów oraz ograniczenie działań niepożądanych. Decyzję o wyborze leku podejmuje się po rozpoznaniu klinicznej postaci napadów padaczkowych, uwzględniając stan kliniczny pacjenta (wiek, płeć, okres ciąży, współistniejące choroby, itp.), a jako leki pierwszego wyboru mogą być zastosowane leki zarówno starszej, jak i nowej generacji. Wyniki przeprowadzonych badań nie wykazały wyższej skuteczności leków drugiej generacji, jednak leki te w wielu przypadkach cechowały się lepszą tolerancją [Marson i wsp. 2007a, 2007b]. Jako leki pierwszego wyboru w leczeniu napadów ogniskowych zalecane są przede wszystkim karbamazepina, lamotrygina i lewetyracetam, natomiast w leczeniu uogólnionych napadów toniczno-klonicznych (z/bez innych uogólnionych typów napadów) zalecany jest kwas walproinowy, dla którego alternatywą, jest lamotrygina lub lewetyracetam, szczególnie u pacjentek w wieku rozrodczym [Dunin-Wąsowicz i wsp. 2015; Nevitt i wsp. 2017; Patel i Pennell 2016]. Ze względu na ryzyko wystąpienia działań niepożądanych terapię powinno rozpoczynać się od jednego leku podawanego w małych, stopniowo zwiększanych dawkach. Celem farmakoterapii jest osiągnięcie kontroli częstości napadów przy stosowaniu jak najmniejszej dawki leku. W przypadku nieskuteczności bądź złej tolerancji leku zaleca się monoterapię alternatywną lekami I rzutu, a dalej w przypadku dobrej tolerancji lecz braku skuteczności kolejną monoterapię alternatywną lekami I rzutu. Dopiero w dalszym etapie leczenia zaleca się terapię dodaną lekami I i II rzutu, a następnie terapię lekami III rzutu [Jędrzejczak 2012; Nevitt i wsp. 2017; Perucca i wsp. 2018; Rejdak i wsp. 2016]. Kluczowym zagadnieniem jest optymalizacja farmakoterapii padaczki w okresie ciąży, mająca na celu jak najlepszą kontrolę napadów oraz zmniejszenie ryzyka wystąpienia wad płodu oraz zaburzeń późniejszego rozwoju dziecka [Jędrzejczak i wsp. 2017]. Szczególne postępowanie musi być wdrożone w przypadku wystąpienia stanu padaczkowego, będącego neurologicznym stanem nagłym stanowiącym zagrożenie dla życia oraz dobrostanu pacjenta [Brophy i wsp. 2012]. Ponadto szczególne postępowanie musi być wprowadzone w leczeniu lekoopornych zespołów padaczkowych m.in. zespołu Dravet, zespołu Lennox-Gastauta oraz zespołu Westa [Dunin-Wąsowicz i wsp. 2015; Wilmshurst i wsp. 2017; Wirrell 2016].

Mimo znaczącego postępu, jaki dokonał się w ostatnich latach i dostępności kilkunastu leków przeciwpadaczkowych (w tym leków trzeciej generacji) nadal ok. 30% pacjentów nie uzyskuje zadowalającej poprawy [Golyala i Kwan 2017]. Padaczka lekooporna wg definicji ILAE oznacza niepowodzenie w kontroli napadów przy zastosowaniu dwóch tolerowanych, odpowiednio dobranych schematów leczenia (jako monoterapii lub politerapii) [Kwan i wsp. 2010]. Ponadto, mimo skuteczności leku, w niektórych przypadkach zła tolerancja może spowodować konieczność jego odstawienia, bądź wpływa istotnie na obniżenie jakości życia chorych [Löscher i Schmidt 2011]. Stąd tak

ważne są dalsze badania nad poszukiwaniem nowych skutecznych i bezpiecznych leków przeciwdrgawkowych [French i wsp. 2013; Galanopoulou i wsp. 2012].

Najważniejsze poznane mechanizmy molekularnego działania leków przeciwdrgawkowych obejmują wpływ na neuronalne potencjałozależne kanały jonowe, wpływ na transmisję GABA-ergiczną oraz działanie poprzez receptory dla aminokwasów pobudzających. Zaburzenia w obrębie błony komórkowej neuronu, związane z dysfunkcją kanałów sodowych (głównie $Na_v1.1-1.3$ oraz $Na_v1.6$) prowadzą do nadmiernych wyładowań neuronalnych, a w konsekwencji do padaczki [Mantegazza i wsp. 2010]. W badaniach na myszach transgenicznym wykazano, że mutacja prowadząca do dysfunkcji kanałów sodowych $Na_v1.2$ prowadziła do wystąpienia przewlekłych drgawek u zwierząt [Kearney i wsp. 2001]. Wpływ na potencjałozależne neuronalne kanały sodowe to podstawowy mechanizm działania wielu leków przeciwpadaczkowych m. in. fenytoiny, karbamazepiny, okskarbazepiny, eslikarbazepiny, lamotryginy i rufinamidu [Brodie 2017; Rogawski i Löscher 2004]. Leki te poprzez blokowanie kanałów hamują powtarzające się wyładowania neuronalne i ograniczają ich szerzenie. Ponadto wpływ na kanały sodowe wykazuje lakozamid, jednak w przeciwieństwie do wymienionych leków nasila on powolną inaktywację kanałów sodowych, co prowadzi do stabilizacji błon komórkowych nadmiernie pobudliwych neuronów [Rogawski i wsp. 2015]. Wpływ na kanały sodowe wykazują również kwas walproinowy, topiramát, felbamát oraz zonisamid [Mantegazza i wsp. 2010].

Istotne znaczenie w mechanizmie działania leków przeciwpadaczkowych odgrywają również kanały wapniowe, wśród których wyróżniamy kanały aktywowane wysokim potencjałem (typu L, $Ca_v1.1-1.4$; typu P/Q, $Ca_v2.1$; typu N, $Ca_v2.2$; typu R, $Ca_v2.3$) oraz kanały aktywowane niskim potencjałem (typu T, $Ca_v3.1-3.3$). Kanały $Ca_v3.1-3.3$ występujące przede wszystkim w neuronach wzgórza odgrywają istotną rolę patofizjologii napadów nieświadomości. Do leków przeciwdrgawkowych blokujących ten typ kanałów wapniowych zaliczamy kwas walproinowy, etosuksymid i zonisamid. Kanały $Ca_v2.1$ zlokalizowane są w neuronach mózgu (przede wszystkim komórkach Purkiniego kory mózdzku) na zakończeniach presynaptycznych oraz dendrytach i biorą udział w uwalnianiu neuroprzekaźników. Kanały $Ca_v2.2$ znajdują się w neuronach ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego na zakończeniach presynaptycznych, dendrytach oraz ciałach komórkowych i biorą udział w uwalnianiu neuroprzekaźników oraz generowaniu potencjału czynnościowego. Kanały $Ca_v2.3$ występują w neuronach zarówno pre- jak i postsynaptycznie, wykazano ich istotny udział w uwalnianiu kwasu glutaminowego [Ermolyuk i wsp. 2013]. Z kolei, spośród kanałów wapniowych typu L (występujących głównie w sercu oraz naczyniach krwionośnych), w OUN zlokalizowane są przede wszystkim kanały $Ca_v1.2$ i 1.3 (w stosunku 90/10%) zlokalizowane postsynaptycznie na dendrytach oraz ciałach komórkowych, biorące udział w przekazywaniu sygnałów w synapsach oraz procesach związanych z pamięcią i neuroprotekcją.

Stwierdzono, iż dysfunkcja kanałów wapniowych $Ca_v1.2$ i $Ca_v1.3$ wiąże się nie tylko z ciężkimi zaburzeniami rytmu serca, ale także z objawami neurologicznymi, w tym z wystąpieniem drgawek. Co więcej, kanały $Ca_v1.2$ zdają się pełnić krytyczną rolę w generowaniu drgawek gorączkowych. Nimodypina, należąca do grupy blokerów kanałów wapniowych wykazała aktywność w znoszeniu nadmiernych wyładowań neuronalnych i drgawek gorączkowych w modelach *in vitro* i *in vivo* [Zamponi i wsp. 2015]. Ponadto inne leki z grupy dihydropirydynowych blokerów kanałów wapniowych wykazały aktywność przeciwdrgawkową w różnych zwierzęcych modelach drgawek [Marinho i wsp. 1997; Meyer i wsp. 1987, 1986; Wurpel i Iyer 1994]. Co więcej, leki te wpływały hamująco na proces epileptogenezy [Kułak i wsp. 2004]. Jednak badania *in vivo* nad rolą kanałów $Ca_v1.2$ i 1.3 w różnych rejonach mózgu są utrudnione z uwagi na preferencyjne wiązanie leków z kanałami zlokalizowanymi w sercu i naczyniach i stąd istotne objawy sercowo-naczyniowe [Helton i wsp. 2005]. Wpływ blokujący wobec wysokonapięciowych kanałów wapniowych wykazują gabapentyna, pregabalina, lewetyracetam, a także karbamazepina, topiramata, felbamat, lamotrygina [Dibué-Adjei i wsp. 2017; Lukyanetz i wsp. 2002; Rogawski i Löscher 2004]. Gabapentyna i pregabalina wiążą się z podjednostkami $\alpha_2\delta$ kanałów wapniowych i przez to hamują napływ jonów wapnia do wnętrza komórki nerwowej oraz uwalnianie neuroprzekaźników w obrębie włókien nerwowych [Dolphin 2016]. Podjednostki $\alpha_2\delta-1$ – $\alpha_2\delta-4$ są ważnymi podjednostkami pomocniczymi kanałów wapniowych bramkowanych napięciem Ca_v1 oraz Ca_v2 i odpowiadają za prawidłową funkcję tych kanałów. Gabapentynoidy wiążą się z podjednostkami $\alpha_2\delta-1$ i $\alpha_2\delta-2$, przy czym za efekt przeciwdrgawkowy odpowiada wiązanie z podjednostką $\alpha_2\delta-1$ [Field i wsp. 2006; Lotarski i wsp. 2014]. Podjednostka ta znajduje się w wielu rodzajach komórek nerwowych w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym, głównie w części presynaptycznej neuronu, ale także na dendrytach i ciałach komórkowych [Bauer i wsp. 2009]. Badania molekularne wykazały wyższą specyficzność wiązania z podjednostką $\alpha_2\delta-1$ kanału wapniowego dla pregabaliny [Li i wsp. 2011]. Równocześnie liczne badania potwierdzają, iż silny efekt analgetyczny pregabaliny i gabapentyny związany jest również z wpływem na podjednostkę $\alpha_2\delta-1$ wysokonapięciowych kanałów wapniowych. Zwiększoną ekspresję podjednostek $\alpha_2\delta-1$ zaobserwowano przy uszkodzeniach neuronów zwojów korzeni grzbietowych, a także w wielu modelach bólu neuropatycznego [Bauer i wsp. 2009]. Wykazano, że myszy transgeniczne z nadekspresją podjednostek $\alpha_2\delta-1$ cechują objawy allodynii i hiperalgezji [Li i wsp. 2006]. Z kolei, w innym doświadczeniu wykazano, że u myszy transgenicznych ze zmienioną podjednostką $\alpha_2\delta-1$ pregabalina była nieskuteczna w znoszeniu objawów bólu neuropatycznego [Field i wsp. 2006]. Ponadto stwierdzono, że nadekspresja podjednostek $\alpha_2\delta-1$ prowadzi do nadmiernej aktywacji kanałów $Ca_v2.2$ (typ N), pełniących istotną rolę w przekazywaniu bodźców nocycyptywnych [Dolphin 2016].

Kolejny punkt uchwytu leków przeciwdrgawkowych stanowią kanały potasowe, pełniące istotną funkcję w utrzymaniu potencjału spoczynkowego neuronu i fazy repolaryzacji potencjału czynnościowego. Otwarcie kanałów potasowych prowadzi do wypływu jonów potasowych na zewnątrz błony komórkowej i hiperpolaryzacji. Mechanizm działania retygabiny, stosowanej w leczeniu wspomagającym napadów ogniskowych, jest związany z wpływem na bramkowane napięciem kanały potasowe (K_v7.2-7.5) [Gunthorpe i wsp. 2012].

Ponadto, wykazano wpływ lamotryginy na kanały HCN aktywowane hiperpolaryzacją (ang. *hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel*), przewodzące prąd I_h, z czym wiąże się jej skuteczność w leczeniu napadów nieświadomości. Podobnie wpływ na kanały HCN został zaobserwowany dla gabapentyny [Coulter 2003].

Kwas γ -aminomasłowy (GABA) to najważniejszy neuroprzebieżnik hamujący w mózgu, a wpływ na transmisję GABA-ergiczną stanowi istotny mechanizm działania wielu leków przeciwpadaczkowych [Rowley i wsp. 2012]. Leki takie jak fenobarbital, benzodiazepiny, styrypentol, topiramata działają poprzez wpływ agonistyczny na receptory jonotropowe GABA_A. Z kolei antagoniści kompetyjni (bikukulina) i niekompetyjni (pentyletetrazol, pikrotoksyna) tego receptora wykorzystywani są w zwierzęcych modelach drgawek indukowanych chemicznie. Na transmisję GABA-ergiczną wpływają także leki hamujące rozkład GABA, bądź zwiększające jego syntezę. Wigabatryna jest nieodwracalnym inhibitorem aminotransferazy kwasu γ -aminomasłowego (GABA-T), natomiast kwas walproinowy cechuje złożony mechanizm działania, w tym wpływ na zwiększenie syntezę i hamowanie rozkładu GABA. Z kolei tiagabina działa poprzez wybiórcze hamowanie transportera kwasu γ -aminomasłowego typu 1 (GAT-1), blokując wychwyt GABA przez komórki nerwowe i glejowe, a tym samym zwiększając jego stężenie w szczelinie synaptycznej [Borden i wsp. 1994].

Stwierdzono również, że zaburzenia dotyczące działania układu glutaminianergicznego prowadzą do rozwoju wielu schorzeń, obejmujących zarówno choroby neurologiczne, w tym padaczkę, jak i choroby psychiczne [Rowley i wsp. 2012]. Poprzez wpływ hamujący na jonotropowe receptory glutaminianergiczne, do których zalicza się receptory NMDA, AMPA i kainowe, biorące udział w szybkiej neurotransmisji sygnału czynnościowego w mózgu, leki przeciwdrgawkowe hamują nadmierną aktywność aminokwasów pobudzających, w tym glutaminianu. Jednym z mechanizmów działania felbamatu jest antagonizm wobec receptora NMDA [Kuo i wsp. 2004]. Natomiast działanie antagonistyczne wobec receptora AMPA wykazuje perampnel, który jest selektywnym, niekompetyjnym antagonistą tego receptora [Zaccara i Schmidt 2016]. Ponadto hamowanie receptorów AMPA i kainowych jest jednym z mechanizmów działania topiramatu [Gryder i Rogawski 2003]. Wpływ na receptory AMPA wykazano również dla lewetyracetamu [Klitgaard i wsp. 2016].

Inny mechanizm działania przeciwdrgawkowego związany jest z wpływem na białko pęcherzyków synaptycznych 2A (SV2A), które bierze udział w procesie fuzji pęcherzyków i egzocytocie neurotransmiterów. Spośród poznanych białek SV2A-C, białko SV2A jest punktem uchwytu dla takich leków jak: lewetyracetam i brywaracetam [Löschner i wsp. 2016]. Leki te wiążąc się z SV2A zmniejszają uwalnianie neuroprzebieżników pobudzających. Brywaracetam wykazuje 20-krotnie silniejsze powinowactwo do białka SV2A w porównaniu do lewetyracetamu [Klitgaard i wsp. 2016]. Badania na myszach transgenicznym wykazały, iż dysfunkcja białka SV2A prowadziła do wystąpienia drgawek i śmierci zwierząt [Crèvecoeur i wsp. 2013].

Mając na uwadze szerokie spektrum aktywności przeciwdrgawkowej lewetyracetamu i brywaracetamu w oparciu o nowy mechanizm działania, warto podkreślić istotne znaczenie poszukiwania nowych punktów uchwytu dla leków przeciwdrgawkowych. Leki takie mogłyby wykazać skuteczność w farmakoterapii padaczki lekoopornej. Stąd badane są różne potencjalne molekularne cele działania m.in. wpływ na szlak mTOR (ang. *mammalian target of rapamycin*), czynnik transkrypcyjny Nrf2 (ang. *nuclear related factor 2*), kotransportery NKCC1 (ang. *Na-K-2Cl cotransporter*) i KCC2 (ang. *K-Cl cotransporter*) (odpowiedzialne za utrzymanie błonowego gradientu jonów), receptory purynergiczne P2X, adenozynowe, glutaminianergiczne receptory metabotropowe (mGlu2, mGlu3, mGlu5), a także wpływ na czynniki neurotroficzne np. neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego BDNF (ang. *brain-derived neurotrophic factor*) oraz zapalne np. transformujący czynnik wzrostu beta TGF- β (ang. *transforming growth factor β*) [Kambli i wsp. 2017; Ngomba i van Luijteleaar 2018; Patel i wsp. 2017; Sadowski i wsp. 2015; Zaccara i Schmidt 2016]. Szczególną uwagę zwraca się na mechanizmy epileptogenezy, w tym mechanizmy molekularne, epigenetyczne, procesy immunologiczne oraz zapalne, jak również biomarkery epileptogenezy [Jozwiak i wsp. 2017; Kaminski i wsp. 2014; Kobow i wsp. 2012].

Warto zaznaczyć, iż mechanizm działania wielu leków przeciwdrgawkowych jest złożony i nadal nie został w pełni poznany.

Aktualny stan wiedzy, obejmujący postępy oraz ograniczenia w farmakoterapii padaczki na podstawie najnowszego piśmiennictwa przedstawiłam w publikacji **C12**.

4.3.1.2. Leki przeciwdrgawkowe w leczeniu bólu neuropatycznego

Leki przeciwdrgawkowe, obok leczenia padaczki, mają zastosowanie w farmakoterapii innych schorzeń: choroby afektywnej dwubiegunowej, lęku, bólu migrenowego głowy oraz fibromialgii. Ponadto leki te wykazują wysoką skuteczność kliniczną w leczeniu bólu neuropatycznego [Rogawski i Löschner 2004]. Ból ten spowodowany jest uszkodzeniem lub chorobą somatosensorycznej części układu nerwowego [Finnerup i wsp. 2016]. Najczęstsze zespoły obwodowego bólu neuropatycznego to:

neuropatia cukrzycowa, neuralgia popółpaścowa, neuralgia trójdzielna, ból fantomowy, przetrwały ból pooperacyjny, ból neuropatyczny w przebiegu choroby nowotworowej oraz ból neuropatyczny w przebiegu zakażenia HIV. Natomiast ośrodkowy ból neuropatyczny obejmuje m.in. ból poudarowy, ból rdzeniowy pourazowy oraz ból związany z chorobą Parkinsona [Szczudlik i wsp. 2014]. Badania epidemiologiczne wskazują, że ból neuropatyczny dotyczy 7-10% populacji i wraz z często towarzyszącymi mu zaburzeniami lękowymi, depresyjnymi oraz bezsennością dramatycznie pogarsza jakość życia pacjentów [Dworkin i wsp. 2010; van Hecke 2014]. Patomechanizm bólu neuropatycznego jest złożony i obejmuje zmiany w zakresie pierwszego neuronu (**obwodowa sensytyzacja**) oraz zmiany w zakresie ośrodkowego układu nerwowego (**ośrodkowa sensytyzacja**). Uszkodzenie nerwu obwodowego prowadzi do szeregu zmian w ekspresji bramkowanych napięciem kanałów jonowych (sodowych, w tym $Na_v1.7$, $Na_v1.8$ i $Na_v1.9$; wapniowych; potasowych), kanałów HCN, wrażliwych na niskie pH kanałów ASIC (ang. *Acid-Sensing Ion Channels*) [Dray 2008; Li i Xu 2015; Tibbs i wsp. 2016], kanałów związanych z receptorami przejściowego potencjału TRP (ang. *transient receptor potential*), głównie TRPV1, TRPA1 i TRPM8 [Basso i Altier 2017; Gauchan i wsp. 2009; Malek i wsp. 2015], a także zmian w funkcjonowaniu receptorów jonotropowych, metabotropowych i wewnątrzkomórkowych [Alles i Smith 2018; Bernier i wsp. 2018; Okine i wsp. 2018]. Efektem uszkodzenia jest również wzrost stężenia neuropeptydów: substancji P i peptydu CGRP (peptyd pochodny genu kalcytoniny, ang. *calcitonin gene-related peptide*) oraz czynników neurotroficznycy, jak NGF (czynnik wzrostu nerwów, ang. *nerve growth factor*) i BDNF (mózgowy czynnik neurotroficzny, ang. *brain-derived neurotrophic factor*) [Khan i Smith 2015; Schou i wsp. 2017]. Ponadto dochodzi do zainicjowania rozwoju stanu zapalnego, gdyż w miejscu uszkodzenia nerwu z tkanek i naczyń uwalniane są mediatory prozapalne: bradykinina, serotonina, jony wodorowe, eikozanoidy, cytokiny (zwłaszcza TNF- α , Il-1, Il-6) i wolne rodniki [Calvo i wsp. 2012]. Uszkodzenie nerwu prowadzi także do powstania patologicznych połączeń między różnymi rodzajami włókien nerwowych tzw. efaps. Konsekwencją tych zmian jest powstawanie bólu samoistnego i napadowego charakteryzującego się zmienioną reaktywnością nie tylko uszkodzonych neuronów, ale i obszarów nieuszkodzonych [Malec-Milewska i wsp. 2017]. Nastęstwem długotrwałej aktywacji obwodowych nocycceptorów i utrwalenia procesów zapalenia jest rozwój sensytyzacji ośrodkowej obejmującej procesy pre- i postsynaptyczne (m. in. zwiększoną produkcję podjednostek $\alpha_2\delta-1$ kanałów wapniowych, nadmierną aktywność receptora NMDA). Zasadnicze znaczenie w jej powstawaniu ma tzw. neuroplastyczność struktur układu nerwowego na poziomach czynnościowym i strukturalnym prowadząca do powstania nadwrażliwości neuronów na bodźce bólowe. Dodatkowo dochodzi do utraty funkcji hamujących w drogach serotonergicznycy i noradrenergicznycy, co prowadzi do zahamowania zstępujących mechanizmów kontroli bólu [Alles i Smith 2018]. **Ponadto coraz więcej badań dowodzi niezmiernie istotną rolę komórek gleju, w tym mikrogleju i astrocytów w powstawaniu przewlekłych zespołów bólowych** [Mika i wsp. 2013; Suter

2016; Tsuda 2018]. Charakterystycznymi objawami bólu neuropatycznego są **allodynia** (ból wywołany bodźcem, który u osób zdrowych nie powoduje bólu) oraz **hiperalgezia** (nadwrażliwość na ból) [Jensen i Finnerup 2014]. Mimo obecnej wiedzy, mechanizmy leżące u podstaw występowania bólu neuropatycznego nadal nie zostały w pełni poznane.

Większość leków przeciwdrgawkowych poprzez kanały jonowe oraz receptory wpływa na nieprawidłową aktywność neuronów w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym. Stąd, stwierdza się ich skuteczność również w wielu zespołach bólowych. Spośród leków przeciwdrgawkowych pregabalina i gabapentyna zaliczane są do leków pierwszego wyboru w farmakoterapii obwodowego bólu neuropatycznego [Colloca i wsp. 2017; Finnerup i wsp. 2015]. W terapii ośrodkowego bólu neuropatycznego pregabalina stanowi lek pierwszego wyboru [Szczudlik i wsp. 2014]. Ponadto w leczeniu neuralgii nerwu trójdzielnego jako leki pierwszego wyboru stosowane są karbamazepina i okskarbazepina [Cruccu i wsp. 2016]. Natomiast inne leki przeciwpadaczkowe, m.in. kwas walproinowy, lamotrygina, topiramát, lewetyracetam, lakozamid i zonisamid należą do tzw. trzeciej linii leków stosowanych w bólu neuropatycznym [Colloca i wsp. 2017]. Pregabalina jest stosowana także w leczeniu fibromialgii, będącej zespołem przewlekłego bólu mięśniowo-szkieletowego [Smith i Moore 2012].

Liczne badania eksperymentalne wykazały bądź potwierdzają wysoką aktywność analgetyczną leków przeciwdrgawkowych w szerokim panelu zwierzęcych modeli bólu neuropatycznego [Ardid i wsp. 2003; Beyreuther i wsp. 2006; Flatters i Bennett 2004; Hamidi i wsp. 2012; Kiguchi i wsp. 2004; Laughlin i wsp. 2002; Ohsawa i wsp. 2014; Sałat i wsp. 2015, 2014; Zychowska i wsp. 2013]. Niedawno opublikowano wyniki szeroko zakrojonych badań z użyciem 11 leków przeciwdrgawkowych o różnych mechanizmach działania oceniające aktywność przeciwbólową w czterech modelach bólu (ostrego, zapalnego, tonicznego, neuropatycznego), które przeprowadzone zostały przez badaczy z amerykańskiego programu poszukiwania nowych leków przeciwpadaczkowych (*Epilepsy Therapy Screening Program, ETSP*) [Smith i wsp. 2017]. Badania wykazały istotną aktywność analgetyczną leków przeciwdrgawkowych, przy czym działanie przeciwbólowe we wszystkich modelach zaobserwowano dla tiagabiny, a w trzech testach dla gabapentyny. W modelu bólu neuropatycznego istotne działanie hamujące allodynię zarejestrowano dla tiagabiny, gabapentyny, karbamazepiny, kwasu walproinowego, topiramatu, lamotryginy oraz felbamatu.

Jednakże ostatnie lata przyniosły również negatywne bądź sprzeczne wyniki skuteczności klinicznej dostępnych leków przeciwdrgawkowych [Attal i Bouhassira 2015; Finnerup i wsp. 2015]. Wysoka aktywność przeciwbólowa stwierdzona dla lakozamidu w badaniach eksperymentalnych w modelu neuropatii cukrzycowej, nie znalazła odzwierciedlenia w badaniach klinicznych [Beyreuther i wsp. 2006; Hearn i wsp. 2012]. Podobnie w opublikowanym w 2018 r. badaniu klinicznym,

etosuksymid, mimo obiecujących wyników badań przedklinicznych, nie zmniejszał nasilenia bólu neuropatycznego u leczonych pacjentów [Kerckhove i wsp. 2018]. Zatem poszukiwanie skutecznych leków w farmakoterapii bólu neuropatycznego nadal stanowi istotny cel badań naukowych [Bouhassira i Attal 2018].

4.3.1.3. Zwierzęce modele padaczki i bólu

Do leków przeciwdrgawkowych zalicza się substancje o różnej budowie chemicznej i różnych mechanizmach działania, co znacznie utrudnia racjonalne projektowanie nowych związków o działaniu przeciwdrgawkowym. Z tego względu poszukiwania nowych związków o działaniu przeciwdrgawkowym są bardziej złożone i wykorzystują m.in. metodę projektowania opartego na podobieństwie do istniejących ligandów, metodę projektowania w oparciu o farmakofor, ale także syntezę związków o zupełnie nowej budowie chemicznej [Bialer i White 2010; Perucca i wsp. 2007]. Niezmiernie istotny jest fakt, iż dysponujemy licznymi predykcyjnymi zwierzęcymi modelami napadów padaczkowych, co umożliwia przeprowadzenie badań skринingowych (ang. *pharmacological screening*) oceniających potencjalną aktywność przeciwdrgawkową nowych substancji. Modele te można podzielić na modele ostre oraz przewlekłe, indukowane elektrycznie lub chemicznie (np. pentylenetetrazolem, pikrotoksyną, pilokarpiną, kwasem kainowym, strychniną), modele napadów uogólnionych lub ogniskowych. Ponadto wyróżniane są też modele genetyczne, modele stanu padaczkowego, modele drgawek lekoopornych oraz modele padaczki na tle uszkodzenia mózgu [Kupferberg 2001; Löscher i Schmidt 2011; Wilcox i wsp. 2013].

W ramach amerykańskiego programu poszukiwania nowych leków przeciwpadaczkowych (*Antiepileptic Drug Development Program, ADD*; obecna nazwa *Epilepsy Therapy Screening Program, ETSP*), realizowanego w Narodowym Instytucie Chorób Neurologicznych i Udaru (*National Institute of Neurological Disorders and Stroke, NINDS*), Narodowego Instytutu Zdrowia (*National Institutes of Health, NIH*; Bethesda, USA) przebadano liczne związki o potencjalnej aktywności przeciwdrgawkowej oraz leki przeciwpadaczkowe. Podstawowe badania przesiewowe nowych związków chemicznych o potencjalnej aktywności przeciwdrgawkowej prowadzone w ramach programu ADD opierały się o zastosowanie **testu maksymalnego wstrząsu elektrycznego (MES)**, gdzie u zwierzęcia drgawki wywołane są bodźcem elektrycznym – model ten odpowiada uogólnionym napadom toniczno-klonicznym oraz **testu drgawek chemicznych** wywołanych **podskórnym podaniem pentylenetetrazolu (scPTZ)**, będącym modelem napadów nieświadomości oraz napadów mioklonicznych. Należy dodać, iż obecnie w ramach badań skринingowych test MES nadal stanowi podstawową metodę poszukiwania aktywnych przeciwdrgawkowo substancji, natomiast test scPTZ stosowany jest zwykle w kolejnym etapie badań wstępnych [Löscher 2011]. Z kolei, w ostatnich latach

coraz większe znaczenie przypisuje się **testowi drgawek psychomotorycznych** wywołanych prądem o niskiej częstotliwości – 6 pulsów na sekundę (**test 6 Hz**), który stanowi **model napadów ogniskowych**. Test ten jest wykonywany przy zastosowaniu prądu o natężeniu 22 mA, 32 mA i 44 mA, co odpowiada odpowiednio 1x, 1,5x oraz 2x wartości CC_{97} (natężenie prądu wywołujące drgawki u 97% badanych zwierząt). Znaczenie testu 6 Hz (32 mA) wzrosło gdy okazało się, iż lewetyracetam skuteczny w leczeniu napadów ogniskowych u ludzi jest aktywny w tym modelu drgawek, natomiast nie jest skuteczny w testach MES i scPTZ [Barton i wsp. 2001]. Obecnie **test 6 Hz przy zastosowaniu bodźca o natężeniu 44 mA**, został wdrożony do badań skringowych i identyfikacji nowych substancji o aktywności przeciwdrgawkowej w ramach amerykańskiego programu poszukiwania nowych leków przeciwpadaczkowych jako użyteczny test stanowiący **potencjalny model padaczki lekoopornej** [Metcalf i wsp. 2017]. Warto zaznaczyć, iż w przypadku lewetyracetamu, jego aktywność przeciwdrgawkowa w teście 6 Hz, wysoka przy zastosowaniu bodźca o natężeniu 32 mA, znacznie się obniża przy zastosowaniu bodźca o natężeniu 44 mA. Natomiast niedawno zarejestrowany brywaracetam wykazuje wysokie działanie przeciwdrgawkowe także przy zastosowaniu natężenia bodźca 44 mA [Löscher i wsp. 2016].

Zwierzęce **modele rozniecania drgawek – modele kindlingu**, polegające na przewlekłej ekspozycji na podprogowy bodziec elektryczny lub chemiczny o charakterze prodrdawkowym obrazują proces epileptogenezy. Drgawki wywołane przez rozniecanie elektryczne struktur układu limbicznego, zwykle ciała migdałowatego u gryzoni stanowią model napadów ogniskowych, w tym model padaczki skroniowej (*temporal lobe epilepsy*, TLE) oraz napadów wtórnie uogólnionych [Sankar i wsp. 2010; Wilcox i wsp. 2013]. Również, test 6 Hz przy zastosowaniu powtarzających się przez określony czas impulsów może stanowić cenny model do badań epileptogenezy [Giordano i wsp. 2016]. Ponadto **modele stanu padaczkowego** (np. test pilokarpinowy) mogą być zastosowane do badania mechanizmów epileptogenezy, a także do poszukiwania substancji skutecznie hamujących bądź zapobiegających rozwojowi stanu padaczkowego [Leite i wsp. 2002].

Z kolei, **modele genetyczne** wykorzystują zwierzęta wykazujące spontaniczne napady drgawkowe, bądź o genetycznie uwarunkowanej nadwrażliwości na bodziec np. dźwiękowy, elektryczny, wysoką temperaturę, substancje o działaniu prodrdawkowym. Obejmują m.in. genetyczne modele napadów nieświadomości, czy model stwardnienia guzowatego, stanowiąc tym samym modele lepiej odzwierciedlające przebieg choroby u ludzi [Simonato i wsp. 2014]. Ze względu na fakt, iż mimo wprowadzania nowych leków nadal ok. 30% chorych cierpi na padaczkę lekooporną, opracowano także szereg **modeli drgawek lekoopornych** m.in. test 6 Hz (44 mA), drgawki indukowane lamotryginą u szczurów (*LTG-resistant kindled rat*), czy model stanu padaczkowego indukowanego kwasem kainowym lub pilokarpiną [Postma i wsp. 2000; Wilcox i wsp. 2013].

Podobnie w badaniach aktywności przeciwbólowej zastosowanie znalazły liczne zwierzęce modele bólu, w tym modele bólu ostrego (np. test gorącej płytki, test zanurzenia ogona, test wycofania łapy), bólu tonicznego (np. test formalinowy), bólu zapalnego ostrego (np. test przeciągania) i przewlekłego (np. modele indukowanego zapalenia stawów) oraz bólu neuropatycznego pochodzenia obwodowego bądź ośrodkowego. **Test gorącej płytki** u myszy należy do jednego z najczęściej wykonywanych testów wykorzystywanych w badaniu nocycypcji ostrej. Odpowiedź na bodziec termiczny w postaci podskoku i/lub lizania łapy zachodzi za pośrednictwem ośrodkowego układu nerwowego. Zatem, substancje aktywne w tym teście działają głównie w rdzeniu kręgowym i/lub wyższych poziomach ośrodkowego układu nerwowego. Stąd wysoką aktywność w tym teście wykazują leki opioidowe, natomiast leki działające obwodowo zwykle nie są skuteczne. Również leki przeciwdrgawkowe w większości nie wykazują istotnej aktywności w tym teście przy zastosowaniu niższych, nie wywołujących sedacji dawek [Laughlin i wsp. 2002; Smith i wsp. 2017]. **Test formalinowy** stanowi model bólu tonicznego, w którym wyróżnia się dwie fazy: fazę bólu ostrego trwającego przez około 5 min od podpowięziowego wstrzyknięcia do tylnej łapy gryzonia roztworu formaliny (odpowiedź: lizanie, gryzienie, potrząsanie łapą), a następnie po kilkuminutowym braku reakcji rozwija się druga faza testu – faza bólu tonicznego trwająca kilkanaście minut. Faza bólu ostrego związana jest z aktywacją przewodzenia bodźców bólowych, głównie przez włókna typu C, z kolei druga faza testu związana jest z reakcją zapalną na obwodzie oraz ośrodkową sensytyzacją [Salinas-Abarca i wsp. 2017]. Test formalinowy stanowi ważny test w poszukiwaniu substancji działających przeciwbólowo i przeciwzapalnie, w tym co istotne związków aktywnych w leczeniu bólu przewlekłego [Tjølsen i wsp. 1992]. Leki przeciwdrgawkowe wykazują aktywność przeciwbólową przede wszystkim w drugiej fazie testu formalinowego [Laughlin i wsp. 2002; Smith i wsp. 2017]. Ponadto dysponujemy szeregiem modeli bólu neuropatycznego u gryzoni, zaliczamy tu m.in. **model luźnego podwiązania nerwu kulszowego wg Bennett'a i Xie** (*chronic constriction injury, CCI*), **model częściowego podwiązania nerwu kulszowego** (*partial sciatic nerve ligation, PSNL*) oraz **model podwiązania nerwów rdzeniowych** (*spinal nerve ligation, SNL*) [Bennett i Xie 1988; Jaggi i wsp. 2011]. Ponadto szeroko stosowanymi modelami jest **obwodowa neuropatia wywołana podaniem cytostatyku** (*chemotherapy-induced neuropathic pain, CINP*) np. oksaliplatyny, paklitakselu, winkrystyny, cisplatyny oraz **neuropatia cukrzycowa** (*diabetic peripheral neuropathy, DPN*), zwykle wywołana podaniem antybiotyku o działaniu cytostatycznym – streptozotocyny. U ok. 95% pacjentów leczonych oksaliplatyną notuje się wystąpienie obwodowej neuropatii czuciowej, charakteryzującej się zaburzeniami czucia i/lub parestezją kończyn, często wywołanymi przez zimno [Manji 2013]. W **modelu obwodowej neuropatii wywołanej podaniem oksaliplatyny** (*oxaliplatin-induced neuropathy*) już jednorazowe podanie oksaliplatyny prowadzi u gryzoni do wystąpienia objawów neuropatii: allodynii i hiperalgezji, mechanicznej oraz termicznej, w tym nadwrażliwości na

zimno. Neuropatia ta charakteryzuje się występowaniem dwóch faz: wczesnej, która rozwija się wkrótce po podaniu cytostatyku oraz późnej, następującej po kilku dniach. Mechanizm neuropatii nie jest do końca poznany, dochodzi do uszkodzenia nerwów, ze zmianami funkcjonalnymi, procesami zapalnymi oraz nadmierną aktywacją komórek gleju [Jaggi i Singh 2012]. Podobnie neuropatia cukrzycowa związana jest z uszkodzeniem włókien nerwowych, zmielinizowanych i niezmielinizowanych, zarówno ruchowych, czuciowych, jak i autonomicznych, procesami immunologicznymi, a także złożonymi zmianami w funkcjonowaniu komórek glejowych [Mika i wsp. 2013; Obrosova 2009; Tsuda 2016]. Częstość jej występowania zwiększa się wraz ze wzrostem zachorowania na cukrzycę i z czasem jej trwania. U chorych z zaawansowaną cukrzycą typu 2 objawy neuropatii mogą dotyczyć nawet 50% osób [Tsfaye i wsp. 2013]. W **modelu neuropatii cukrzycowej** po 2-4 tygodniach od podania streptozotocyny, u gryzoni z istotnie podniesionym poziomem glukozy we krwi (> 300 mg/dl) dochodzi do pojawienia się objawów neuropatii: allodynii, hiperalgezji, a w przypadku zaawansowanej neuropatii także hipoalgezji mechanicznej oraz termicznej [Obrosova 2009]. Wyniki badań prowadzonych w wielu ośrodkach badawczych wykazują skuteczność leków przeciwdrgawkowych w znoszeniu objawów neuropatii w różnych modelach bólu neuropatycznego [Flatters i Bennett 2004; Hamidi i wsp. 2012; Smith i wsp. 2017].

Należy podkreślić, że choroby przewlekłe, w tym padaczka oraz ból neuropatyczny, szczególnie w sytuacji kiedy nie znajdujemy skutecznej farmakoterapii, dramatycznie obniżają jakość życia chorych niosąc za sobą głębokie kliniczne, psychospołeczne, demograficzne i ekonomiczne konsekwencje. Ogromnym wyzwaniem w leczeniu padaczki jest znalezienie leków hamujących epileptogenezę i modyfikujących przebieg choroby, a także leków skutecznych w leczeniu napadów lekoopornych. Z kolei fakt, iż wiele leków przeciwdrgawkowych wykazuje skuteczność kliniczną również w leczeniu bólu, w tym bólu neuropatycznego, znacznie poszerza ich spektrum zastosowania. Zwierzęce modele eksperymentalne umożliwiają odkrycie leków przeciwdrgawkowych oraz przeciwbólowych, pozwalają lepiej scharakteryzować znane leki oraz pomagają w zrozumieniu patofizjologii padaczki i bólu.

4.3.2. Cel pracy

Badania w grupie pochodnych pirolidyno-2,5-dionu prowadzone są przez zespół pracowników Zakładu Chemii Leków, Katedry Chemii Farmaceutycznej UJ CM od wielu lat, a ich konsekwencją jest otrzymanie szeregu aktywnych przeciwdrgawkowo struktur, dla których synteza i działanie farmakologiczne zostały przedstawione w licznych publikacjach naukowych [Obniska i wsp. 2013, 2012, 2010, 2009, 2005, 2002]. Początkowo wykonanie niektórych badań farmakologicznych aktywności przeciwdrgawkowej dla wybranych związków było możliwe w ramach współpracy z amerykańskim Narodowym Instytutem Zdrowia (NIH, Bethesda, USA) w programie poszukiwania nowych leków przeciwpadaczkowych.

Natomiast od 2013 roku nawiązałam współpracę z Prof. Jolantą Obniską z Zakładu Chemii Leków, Katedry Chemii Farmaceutycznej UJ CM w kierunku przeprowadzania badań farmakologicznych aktywności przeciwdrgawkowej, a następnie rozszerzyłam tematykę badań naukowych o ocenę potencjalnej aktywności analgetycznej aktywnych przeciwdrgawkowo substancji, w wybranych modelach bólu, z uwzględnieniem modeli bólu neuropatycznego. Tak szerokie badania chemiczno-farmakologiczne oraz poszerzone badania farmakologiczne były możliwe dzięki wspólnie podjętym staraniom i uzyskaniu grantu OPUS 6 pt.: „**Synteza, badanie właściwości fizykochemicznych i farmakologicznych nowych amidowych pochodnych 3,3-dipodstawionych kwasów pirolidyno-2,5-diono-alkilowych o potencjalnym wpływie na ośrodkowy układ nerwowy**” z Narodowego Centrum Nauki (NCN) na prowadzenie badań podstawowych oraz umożliwiło wzbogacenie warsztatu badawczego m.in. o aparat służący do wykonania testu drgawek psychomotorycznych (test 6 Hz), który obecnie uważany jest za obligatoryjny test wykorzystywany przy poszukiwaniu nowych substancji o aktywności przeciwdrgawkowej. Stworzony warsztat badawczy umożliwił również współpracę z innymi naukowcami z Wydziału Farmaceutycznego UJ CM zajmującymi się powyższą tematyką badawczą.

Głównym celem podjętych badań farmakologicznych była ocena aktywności przeciwdrgawkowej nowych związków z grupy pochodnych pirolidyno-2,5-dionu oraz dla wybranych, aktywnych przeciwdrgawkowo struktur działania analgetycznego.

Przeprowadzone badania farmakologiczne, których wynikiem jest osiągnięcie naukowe (**publikacje H1-H11**), będące przedmiotem przedłożonego wniosku obejmowały:

- Wstępny skrining farmakologiczny obejmujący oznaczenie aktywności przeciwdrgawkowej po dootrzewnowym podaniu związków w modelach drgawek wywołanych czynnikiem elektrycznym i chemicznym, mianowicie w teście maksymalnego wstrząsu elektrycznego

(MES) (**model napadów uogólnionych toniczno-klonicznych**) oraz teście drgawek wywołanych podskórnym podaniem pentylenotetrazolu (scPTZ) (**model napadów nieświadomości** oraz **napadów mioklonicznych**). Ponadto wszystkie substancje oceniano pod kątem działania neurotoksycznego, badając wpływ na koordynację ruchową w teście obracającego się pręta (rotarod) (**publikacje H1, H3-H6, H8, H10**).

- Dalsze badania aktywności przeciwdrgawkowej obejmowały oznaczenie aktywności przeciwdrgawkowej w teście drgawek psychomotorycznych (test 6 Hz) przy intensywności bodźca 32 mA (**model napadów ogniskowych**) (**publikacje H3-H5, H7, H9, H10**) i 44 mA (**model napadów lekoopornych**) (**publikacja H9**), ocenę wpływu na próg pobudliwości drgawkowej w teście drgawek elektrycznych (test MEST) oraz ocenę aktywności przeciwdrgawkowej w teście pilokarpinowym (**model stanu padaczkowego**) (**publikacja H2**).
- Dla aktywnych związków wyznaczono dawki efektywne – ED_{50} (ang. *effective dose*), dawki toksyczne – TD_{50} (ang. *toxic dose*) oraz indeksy terapeutyczne (ang. *protective index*) (**publikacje H1, H3-H10**).
- Dla aktywnych przeciwdrgawkowo związków przeprowadzono ocenę aktywności przeciwbólowej w teście gorącej płytki (**model bólu ostrego**) (**publikacje H2, H7, H9, H11**), teście formalinowym (**model bólu tonicznego**) (**publikacje H2-H5, H7, H9, H11**) oraz w modelach bólu neuropatycznego: **neuropatii obwodowej indukowanej podaniem cytostatyku** (**publikacje H5, H7, H9, H11**) oraz **neuropatii cukrzycowej** (**publikacja H11**).
- Dodatkowo dla wybranych związków oznaczono wpływ na ruchliwość spontaniczną, procesy pamięciowe w teście biernego unikania oraz koordynację ruchową w teście komina (**publikacje H2, H3, H7, H9, H11**).
- Badania farmakologiczne *in vitro* obejmowały potencjalne punkty uchwytu, które mogłyby stanowić mechanizm działania przeciwdrgawkowego i/lub przeciwbólowego takie jak: kanały sodowe i wapniowe (**publikacje H2-H5, H7, H8, H10, H11**), receptory $GABA_A$ (**publikacja H7**), receptory NMDA (**publikacje H7, H9, H11**) oraz wybrane receptory adrenergiczne, serotonergiczne, cholinergiczne (**publikacje H7, H11**).
- Ponadto dla wybranych substancji w badaniach *in vitro* dokonano oceny potencjału mutagennego oraz antymutagennego z wykorzystaniem szczepu bakteryjnego *Vibrio harveyi* i/lub testu Ames, a także działania hepatotoksycznego (komórki Hep G2), cytotoksycznego

(komórki neuroblastoma IMR-32) oraz antyproliferacyjnego (komórki HEK-293) (**publikacje H2, H3, H6, H7, H9, H11**).

- Dla wybranych dwóch substancji dokonano oceny ich stabilności metabolicznej z zastosowaniem modelu mikrosomów ludzkich bądź mysich (**publikacje H6, H11**).

Przeprowadzone badania farmakologiczne w ramach niniejszego cyklu publikacji przyczyniły się również do **poszerzenia wiedzy o aktywności leków przeciwdrgawkowych w testach eksperymentalnych z wykorzystaniem myszy szczepu CD-1**. Dla porównania aktywności farmakologicznej badanych pochodnych piroolidyno-2,5-dionu, jako związki odniesienia stosowano następujące leki przeciwdrgawkowe: **kwasy walproinowy** – jako związek odniesienia o szerokim spektrum działania w badaniach eksperymentalnych (MES/scPTZ/6 Hz) oraz lek aktywny w teście 6 Hz (44 mA); **lakoamid, fenytoinę i karbamazepinę** – jako związki odniesienia w teście MES oraz **lakoamid** – jako związek odniesienia w teście MEST, oceniającym próg pobudliwości drgawkowej oraz teście pilokarpinowym; **etosuksymid** – jako związek odniesienia w teście scPTZ oraz **lewetyracetam** – jako związek odniesienia w teście 6 Hz (32 mA). Z uwagi na fakt, iż leki przeciwdrgawkowe wykazują również działanie przeciwbólowe w zwierzęcych modelach bólu, do porównania aktywności badanych związków wykorzystano: **kwasy walproinowy i pregabalinę** – jako związki odniesienia w teście gorącej płytki, teście formalinowym oraz w modelu bólu neuropatycznego indukowanego podaniem oksaliplatyny oraz **lakoamid** – jako związek odniesienia w teście gorącej płytki, teście formalinowym, w modelu bólu neuropatycznego indukowanego podaniem oksaliplatyny oraz w modelu neuropatii cukrzycowej.

4.3.3. Wyniki badań i wnioski

Publikacja H1. Rybka S., Obniska J., Rapacz A., Filipek B., Kamiński K., 2014. Synthesis, physicochemical and anticonvulsant properties of new *N*-Mannich bases derived from pyrrolidine-2,5-dione and its 3-methyl analog. *Archiv der Pharmazie* 347, 768-776.

W pracy tej we wstępnych badaniach skringingowych oceniono aktywność przeciwdrgawkową 22 nowych zasad Mannicha pochodnych pirolidyno-2,5-dionu oraz 3-metylopirolidyno-2,5-dionu w teście maksymalnego wstrząsu elektrycznego (MES) oraz teście drgawek wywołanych podskórnym podaniem pentylenetetrazolu (scPTZ). Badania wykonano w dwóch punktach czasowych, mianowicie po 0,5 oraz 4 h od dootrzewnowego podania związków. Spośród badanych związków sześć z nich było aktywnych w teście MES, natomiast pięć związków w teście scPTZ. Poszerzone badania aktywności przeciwdrgawkowej oraz bezpieczeństwa pozwoliły na ustalenie dawki efektywnej (ED₅₀) w wyżej wymienionych testach oraz dawki neurotoksycznej (TD₅₀) w teście rotarod. Najwyższą aktywność przeciwdrgawkową w teście MES wykazały związki **12** oraz **24** (struktury przedstawiono na Rys. 1 i w Tab. 1, praca **H1**) dla których wartości ED₅₀ wyniosły odpowiednio 16,13 i 16,37 mg/kg. Ponadto istotną aktywność wykazały związki **13**, **15** oraz **23** dla których wartości ED₅₀ wyniosły od 37,79 do 46,07 mg/kg. W teście scPTZ najwyższą aktywność wykazały związki **12** oraz **23** dla których wartości ED₅₀ wyniosły odpowiednio 133,99 mg/kg i 128,82 mg/kg. Najlepszy profil bezpieczeństwa stwierdzono dla związków **12** oraz **23**, które badane w dawkach aż do 500 mg/kg nie powodowały zaburzeń koordynacji ruchowej w teście obracającego się pręta (rotarod). Indeksy terapeutyczne dla związków **12** i **23** w teście MES wyniosły odpowiednio > 31 oraz > 13 i były znacznie wyższe niż związków odniesienia **fenytoiny** (IT = 7,74) i **kwasy walproinowego** (IT = 1,5). Indeksy terapeutyczne dla związków **12** i **23** w teście scPTZ wyniosły > 3,73 oraz > 3,88 i były również wyższe od indeksów związków odniesienia: **etosuksymidu** (IT = 2,5) i **kwasy walproinowego** (IT = 1,8). Przeprowadzone badania chemiczno-farmakologiczne pozwoliły na ustalenie zależności struktura-aktywność, co jest niezmiernie ważne przy planowaniu dalszych prac syntetycznych. W badanej serii związków bardziej aktywne okazały się pochodne 3-metylopirolidyno-2,5-dionu.

Wnioski: W serii zasad Mannicha pochodnych pirolidyno-2,5-dionu oraz 3-metylopirolidyno-2,5-dionu wysoką aktywność przeciwdrgawkową w teście MES (model napadów uogólnionych toniczno-klonicznych) wykazało pięć związków: **12**, **13**, **15**, **23** i **24**, a w teście scPTZ (model napadów nieświadomości oraz napadów mioklonicznych) dwie pochodne: **12** i **23**. Co istotne, związki te charakteryzowały się korzystnym profilem bezpieczeństwa.

Publikacja H2. Rapacz A., Rybka S., Obniska J., Sałat K., Powroźnik B., Pękala E., Filipek B., 2016. Evaluation of anticonvulsant and antinociceptive properties of new *N*-Mannich bases derived from pyrrolidine-2,5-dione and 3-methylpyrrolidine-2,5-dione. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 389, 339-348.

W pracy tej zaprezentowano wyniki poszerzonych badań farmakologicznych pięciu wyselekcjonowanych związków: **12**, **13**, **15**, **23** oraz **24** (struktury przedstawiono na Rys. 1, praca **H2**). Wszystkie badane związki w dawce 30 mg/kg, a związki **12**, **23**, **24** oraz **lakoamid** również w dawce 10 mg/kg istotnie statystycznie podnosiły próg pobudliwości drgawkowej w teście MEST, co potwierdza ich istotną aktywność w modelu drgawek elektrycznych. Dodatkowo, związki **12** oraz **23**, które we wcześniejszych badaniach były aktywne w teście scPTZ, podane w dawce 100 mg/kg wykazały istotne działanie w teście drgawek chemicznych wywołanych podaniem pilokarpiny (model stanu padaczkowego). Dla **lakoamidu** efekt istotny statystycznie wykazano przy zastosowaniu dawki 40 mg/kg. Biorąc pod uwagę fakt, iż leki przeciwdrgawkowe stosowane są także w leczeniu bólu, ważnym celem dalszych badań była ocena działania analgetycznego wybranych aktywnych przeciwdrgawkowo struktur. W teście gorącej płytki (model bólu ostrego) oraz w pierwszej fazie testu formalinowego (model bólu tonicznego, faza bólu ostrego) aktywne były wszystkie związki podane w dawce 30 mg/kg, z wyjątkiem zw. **23**, a także **lakoamid**. W drugiej fazie testu formalinowego (faza bólu zapalnego) wszystkie związki, podobnie jak **lakoamid** istotnie statystycznie zmniejszały czas lizania łapy, wykazując tym samym efekt analgetyczny. Badane związki, z wyjątkiem zw. **12**, istotnie statystycznie zmniejszały ruchliwość spontaniczną myszy, co świadczy o ich działaniu sedatywnym. W badaniach *in vitro* wykonanych we współpracy z Zakładem Biochemii Farmaceutycznej UJ CM związki **12**, **13**, **23** oraz **24** oceniono pod kątem potencjalnego działania mutagennego oraz antymutagennego w teście *Vibrio harveyi*. Żaden z testowanych związków nie wykazał aktywności mutagennej, a związek **13** wykazał aktywność antymutagenną. W dalszych badaniach *in vitro* wykonanych komercyjnie w laboratoriach Cerep (Francja) związki **12** i **23** w stężeniu 100 μ M w istotnym stopniu wiązały się z kanałem sodowym ($\text{Na}_v1.2$) (zw. **12** = 85,8%; zw. **23** = 89,9%) oraz kanałem wapniowym (typ L) (zw. **12** = 59,4%; zw. **23** = 65,9%), co może sugerować ich potencjalny molekularny mechanizm działania.

Wnioski: Poszerzone badania aktywności przeciwdrgawkowej dla związków **12**, **13**, **15**, **23** i **24**, wykazały ich aktywność w teście MEST, a dla związków **12** i **23** również w teście pilokarpinowym (model stanu padaczkowego). Ponadto badane związki, z wyj. zw. **23**, wykazały działanie analgetyczne w teście gorącej płytki (model bólu ostrego) oraz w pierwszej fazie testu formalinowego (model bólu tonicznego, faza bólu ostrego). Z kolei w drugiej fazie testu formalinowego (faza bólu zapalnego) istotną aktywnością cechowały się wszystkie badane substancje. Przeprowadzone badania potwierdziły założenie, że związki z grupy pirolidyno-2,5-dionu aktywne przeciwdrgawkowo mogą wykazywać jednocześnie silne działanie analgetyczne, a ich mechanizm działania może być wynikiem wiązania z kanałem sodowym ($\text{Na}_v1.2$) oraz kanałem wapniowym typu L.

Publikacja H3. Obniska J., Rapacz A., Rybka S., Powroźnik B., Pękala E., Filipek B., Żmudzki P., Kamiński K., 2015. Design, synthesis and biological activity of new amides derived from 3-methyl-3-phenyl-2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yl-acetic acid. *European Journal of Medicinal Chemistry* 102, 14-25.

W pracy przebadano 18 nowych amidowych pochodnych 3-metylo-3-fenylopirolidyno-2,5-dionu. Wstępne badania aktywności przeciwdrgawkowej w testach MES oraz scPTZ w dwóch punktach czasowych – po 0,5 i 2 h od dootrzewnowego podania związków wykonano dla 6 substancji w ramach amerykańskiego programu rozwoju leków przeciwpadaczkowych (*Antiepileptic Drug Development Program, ADD*) realizowanego w Narodowym Instytucie Zdrowia (NIH, Bethesda, USA). Badania kolejnych 12 związków oraz poszerzone badania mające ustalić dawki ED₅₀ i TD₅₀ wykonano w Zakładzie Farmakodynamiki UJ CM. Spośród wszystkich związków, osiem substancji oznaczonych numerami **6-10, 17, 19 i 22** (struktury przedstawiono w Tab. 1, praca **H3**) wyselekcjonowano do dalszych badań. Uzyskane wartości ED₅₀ w teście MES dla związków **7, 8, 10 i 17** wyniosły od 97,51 do 215,31 mg/kg. Natomiast w teście scPTZ wartości ED₅₀ dla związków **6, 7, 9, 19** oraz **22** wyniosły od 40,87 do 120,06 mg/kg. Jako związki odniesienia zastosowano **fenytoinę, etosuksymid** oraz **kwasy walproinowy**. Indeksy terapeutyczne badanych substancji w teście MES były wyższe w porównaniu **kwasem walproinowym**, jednak niższe niż indeks uzyskany dla **fenytoiny**. Natomiast porównując indeksy terapeutyczne badanych związków w teście scPTZ warto podkreślić wysoką skuteczność i niską neurotoksyczność (TD₅₀ > 500 mg/kg) związku **6**, dla którego indeks terapeutyczny wyniósł > 12,23 i był dużo wyższy niż związków odniesienia – **etosuksymidu i kwasu walproinowego**. Ponadto wysokie wartości indeksów terapeutycznych uzyskano w teście scPTZ dla związków **22** (IT > 8,33) oraz **9** (IT > 4,16). Kolejnym etapem niniejszej pracy były badania skriningowe aktywności przeciwdrgawkowej wybranych związków: **8, 14, 17** oraz **23** w teście drgawek psychomotorycznych indukowanych prądem o częstotliwości 6 Hz (test 6 Hz, 32 mA) (model napadów ogniskowych). Związki **17** oraz **23** wykazały aktywność w dawce 100 mg/kg, natomiast związki **8** i **14** były aktywne w dawce 300 mg/kg. Dane z piśmiennictwa wskazują, iż substancje aktywne przeciwdrgawkowo w teście MES wykazują również aktywność analgetyczną. Stąd związki aktywne w teście MES, mianowicie **7, 8 i 17** oceniono pod kątem działania przeciwbólowego w teście formalinowym. Substancje te podane dootrzewnowo w dawkach efektywnych z testu MES wykazały istotną aktywność analgetyczną zarówno w pierwszej, jak i w drugiej fazie testu. Co więcej, w teście komina nie stwierdzono działania neurotoksycznego dla tych związków. Dalsze badania *in vitro* wykonane we współpracy z Zakładem Biochemii Farmaceutycznej UJ CM wykazały dla związków **13, 17 i 22** brak działania mutagennego, a dla związków **13 i 17** aktywność antymutagenną w testach Ames a i *Vibrio harveyi*. W badaniach *in vitro* związek **7** w stężeniu 100 µM w istotnym stopniu wiązał się z kanałem sodowym (Na_v1.2) (56,1%) oraz kanałem wapniowym (typ L) (83,3%), co może wskazywać jego potencjalny mechanizm działania (Cerep, Francja).

Wnioski: W serii amidowych pochodnych 3-metylo-3-fenylopirolidyno-2,5-dionu aktywność przeciwdrgawkową w teście MES, a następnie istotne działanie analgetyczne w teście formalinowym wykazano dla substancji **7, 8 i 17**. Z kolei w teście scPTZ wysoką skutecznością przeciwdrgawkową cechował się związek **6**, dla którego ponadto indeks terapeutyczny wyniósł > 12,23 i był dużo wyższy niż związków odniesienia – **etosuksymidu i kwasu walproinowego**.

Publikacja H4. Obniska J., **Rapacz A.**, Rybka S., Góra M., Kamiński K., Sałat K., Żmudzki P., 2016. Synthesis, and anticonvulsant activity of new amides derived from 3-methyl- or 3-ethyl-3-methyl-2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yl-acetic acids. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 24, 1598-1607.

W części farmakologicznej pracy przedstawiono wyniki badań aktywności przeciwdrgawkowej i przeciwbólowej nowych amidowych pochodnych 3-metylo- lub 3-etylo-3-metylopirolidyno-2,5-dionu. Wstępne badania aktywności przeciwdrgawkowej w testach MES oraz scPTZ, po 0,5 i 4 h od dootrzewnowego podania dla 6 związków wykonano w ramach amerykańskiego programu ADD (NIH, Bethesda, USA). Badania skringowe aktywności przeciwdrgawkowej kolejnych 16 związków oraz poszerzone badania farmakologiczne wykonano w Zakładzie Farmakodynamiki UJ CM. Spośród badanych struktur osiem pochodnych (**7**, **9-12**, **18**, **19** i **24**; struktury przedstawiono w Tab. 1, praca **H4**) zostało wyselekcjonowanych do dalszych badań. Uzyskane wartości ED_{50} w teście MES dla tych związków mieściły się w zakresie 32,08-122,04 mg/kg przy czym najwyższą aktywność przeciwdrgawkową wykazał związek **10**. Natomiast w teście scPTZ najbardziej aktywne były cztery związki (**9**, **11**, **12**, **18**), wśród których najniższą wartość ED_{50} wykazał zw. **9** (40,34 mg/kg). Z kolei, najwyższy indeks terapeutyczny w teście MES uzyskał zw. **10** (IT > 15,59), a w teście scPTZ zw. **9** (IT > 8,0) i były to wartości wyższe w porównaniu do związków odniesienia (**fenytoiny**, **etosuksymidu** i **kwasu walproinowego**). Spośród sześciu wybranych substancji (**7**, **8**, **18**, **19**, **21** i **23**) w teście 6 Hz (32 mA) najwyższą aktywność wykazał związek **19** dla którego wartość ED_{50} wyniosła 73,26 mg/kg, natomiast najwyższą wartość indeksu terapeutycznego uzyskał związek **8** (IT > 3,29) i była to wartość zbliżona do uzyskanej dla **kwasu walproinowego**, a niższa w porównaniu do **lewetyracetamu**. Kolejnym etapem pracy była ocena aktywności przeciwbólowej sześciu wybranych związków (**7**, **9**, **10**, **12**, **18** i **24**) w teście formalinowym. Związki te podane dootrzewnowo w dawkach efektywnych z testu MES wykazały istotną aktywność przeciwbólową zarówno w pierwszej, jak i w drugiej fazie testu formalinowego. Dodatkowo oceniono ich aktywność miejscowo znieczulającą po podskórnym podaniu związków w zmodyfikowanym teście zanurzenia ogona u myszy, a uzyskane wyniki wykazały istotnie statystycznie działanie dla związków **10** i **18** w stężeniu 2%. Dalsze badania wykonane w firmie Cerep (Francja) wykazały dla związku **24** (100 μ M) istotne wiązanie się z kanałami sodowymi ($Na_v1.2$) (63,5%) oraz kanałami wapniowymi (typu L) (82,4%), a dla związku **12** z kanałami wapniowymi (typu L) (71,0%). Pozostałe badane związki: **7**, **9**, **10** i **18** nie wykazały istotnego wiązania z powyższymi kanałami jonowymi (wartości 20,9-36,6% dla kanałów sodowych oraz 4,2-30,8% dla kanałów wapniowych). W badanej serii związków bardziej aktywne okazały się pochodne 3-metylopirolidyno-2,5-dionu w porównaniu z ich 3-etylo-3-metylo analogami.

Wnioski: W grupie amidowych pochodnych 3-metylo- lub 3-etylo-3-metylopirolidyno-2,5-dionu wysoką aktywność przeciwdrgawkową w teście MES wykazano dla siedmiu substancji, a w teście scPTZ dla czterech związków. Najwyższy indeks terapeutyczny w teście MES uzyskał związek **10** (IT > 15,59), a w teście scPTZ zw. **9** (IT > 8,0) i były to wartości wyższe w porównaniu do związków odniesienia (**fenytoiny**, **etosuksymidu** i **kwasu walproinowego**). Dodatkowo dla sześciu związków aktywnych w teście MES zaobserwowano istotny efekt analgetyczny w teście formalinowym.

Obiecujące wyniki uzyskano także w teście 6 Hz (model napadów ogniskowych) gdzie dla czterech związków ustalono wartości ED₅₀. Prawdopodobny mechanizm działania jest związany z kanałami sodowymi (Na_v1.2) i/lub kanałami wapniowymi typu L.

Publikacja H5. Rapacz A., Obniska J., Wiklik-Poudel B., Rybka S., Sałat K., Filipek B., 2016. Anticonvulsant and antinociceptive activity of new amides derived from 3-phenyl-2,5-dioxopyrrolidine-1-yl-acetic acid in mice. *European Journal of Pharmacology* 781, 239-249.

Przedmiotem kolejnej pracy były badania aktywności przeciwdrgawkowej pięciu amidowych pochodnych 3-fenylpirolidyno-2,5-dionu, oznaczonych numerami **3, 4, 5, 6 i 7** (struktury przedstawiono na Rys. 1, praca **H5**). Wstępne badania skringowe wykonane po 0,5 i 2 h od dootrzewnowego podania związków (dawka 100 mg/kg) w testach MES, scPTZ oraz 6 Hz wykazały ich aktywność przeciwdrgawkową w poszczególnych testach oraz brak działania neurotoksycznego. Jako związki odniesienia zastosowano **lakozamid, etosuksymid, lewetyracetam** oraz **kwasy walproinowy**. Poszerzone badania aktywności przeciwdrgawkowej pozwoliły ustalić wartości ED₅₀ w teście MES dla związków **3, 4, 5 i 7**, które mieściły się w zakresie 106,27-126,64 mg/kg. W teście scPTZ aktywne okazały się związki **3, 4, 6 i 7**, a uzyskane dla nich wartości ED₅₀ wyniosły od 86,6 do 89,15 mg/kg. Natomiast w teście 6 Hz aktywne były pochodne **3, 4 i 7** (ED₅₀ = 43,58-108,20 mg/kg). Warto zaznaczyć, że trzy związki **3, 4** oraz **7** wykazały aktywność przeciwdrgawkową w trzech testach, co świadczy o ich szerokim zakresie działania. Ponadto substancje te wykazały wyższe wartości indeksów terapeutycznych w porównaniu do **kwasy walproinowego**. Drugim celem prowadzonych badań była ocena aktywności przeciwbólowej w teście formalinowym oraz w modelu bólu neuropatycznego, indukowanego podaniem oksaliplatyny. Związki **3, 4 i 6** badane w dawkach 7,5-30 mg/kg istotnie skracały czas lizania łapy w drugiej fazie testu, co świadczy o działaniu przeciwbólowym. Ponadto związek **6** w dawce 30 mg/kg wykazał również aktywność w pierwszej fazie testu (faza bólu neurogennego). Substancje aktywne w teście formalinowym zostały następnie zbadane w modelu bólu neuropatycznego. Związki te wykazały istotną statystycznie aktywność hamującą allodynię mechaniczną zarówno w ostrej, jak i późnej fazie testu. Warto podkreślić, iż związki te cechowały się niskim działaniem neurotoksycznym, szczególnie związek **6**, dla którego nie obserwowano zaburzeń koordynacji ruchowej nawet przy zastosowaniu dawki 500 mg/kg. W badaniach *in vitro* związek **4** w stężeniu 100 μM wiązał się z potencjałozależnymi kanałami sodowymi silniej w porównaniu do **karbamazepiny**, a także z zależnymi od potencjału kanałami wapniowymi typu L silniej niż **topiramatem**. Natomiast nie wykazano wiązania z kanałami wapniowymi typu N. Badania wykonane w ramach niniejszej pracy pozwoliły na wyselekcjonowanie związków wykazujących szeroki profil aktywności przeciwdrgawkowej, a ponadto cechujących się istotnym działaniem analgetycznym.

Wnioski: W kolejnej grupie związków amidowych pochodnych 3-fenylpirolidyno-2,5-dionu wartości ED₅₀ w teście MES oraz teście scPTZ ustalono dla czterech związków, natomiast w teście 6 Hz dla trzech substancji. Co istotne, trzy związki, mianowicie **3, 4** oraz **7** wykazały aktywność przeciwdrgawkową we wszystkich testach, co świadczy o ich szerokim profilu działania. Związki te

dodatkowo wykazały wyższe wartości indeksów terapeutycznych w porównaniu do kwasu walproinowego, który stanowi związek odniesienia aktywny w testach MES/scPTZ/6 Hz. Ponadto związki 3, 4 oraz 6 okazały się aktywne w teście formalinowym, a także istotnie hamowały allodynię mechaniczną wywołaną podaniem oksaliplatiną (model bólu neuropatycznego indukowanego cytostatykiem). Mechanizm działania związku 4 może być wynikiem wiązania z kanałem sodowym (Na_v1.2) i/lub kanałem wapniowym typu L.

Publikacja H6. Kamiński K., Rapacz A., Łuszczki J., Latacz G., Obniska J., Kieć-Kononowicz K., Filipek B., 2015. Design, synthesis and biological evaluation of new hybrid anticonvulsants derived from *N*-benzyl-2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)propanamide and 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)butanamide derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 23, 2548-2561.

Badania farmakologiczne przedstawione w publikacji H6 objęły 33 nowe pochodne piperidyno-2,5-dionu i 3-metylo-piperidyno-2,5-dionu z fragmentem propanamidowym lub butanamidowym w położeniu 1 pierścienia imidowego (struktury przedstawiono w Tab. 1, praca H6). Substancje te stanowią związki hybrydowe zawierające w swojej strukturze fragmenty chemiczne obecne w lekach przeciwdrgawkowych takich jak: **etosuksymid**, **lakoamid** oraz **lewetyracetam**, które są aktywne w różnych zwierzęcych modelach drgawek. Celem takiego połączenia było uzyskanie związków cechujących się szerokim profilem aktywności przeciwdrgawkowej. Badania skriningowe w testach MES i scPTZ oraz wpływ na koordynację ruchową w teście rotarod wykonano po 0,5 i 2 h od dootrzewnowego podania związków w dawce 100 mg/kg. Jako związki odniesienia zastosowano **karbamazepinę**, **lakoamid**, **etosuksymid** oraz **kwas walproinowy**. Badane substancje wykazały wysoką aktywność przeciwdrgawkową oraz cechowały się brakiem działania neurotoksycznego. Spośród nich 24 pochodnych było aktywnych w co najmniej jednym teście drgawek (MES lub scPTZ), a 10 było aktywnych w obu testach. Aktywność przeciwdrgawkowa w tej grupie związków była zależna od budowy chemicznej, mianowicie pochodne z fragmentem propanamidowym były aktywne przede wszystkim w teście MES, podczas gdy pochodne z fragmentem butanamidowym w położeniu 1 pierścienia imidowego, wykazywały aktywność również (lub jedynie) w drgawkach wywołanych podaniem pentylenetetrazolu. Poszerzone badania farmakologiczne pozwoliły na ustalenie dawek ED₅₀ dla aż 22 związków. Wartości ED₅₀ 18 aktywnych związków w teście MES wyniosły od 54,9 do 129,64 mg/kg, a 14 aktywnych struktur w teście scPTZ od 42,83 do 90,26 mg/kg. Najbardziej aktywne w obu testach okazały się związki 4 oraz 8. Substancje te wykazały szerokie spektrum działania przeciwdrgawkowego, a także posiadały bardziej korzystny profil bezpieczeństwa w porównaniu do leków referencyjnych. Ponadto istotną aktywność oraz wysoki indeks terapeutyczny wykazał w teście MES związek 15, a w teście scPTZ związek 20. Dalsze badania *in vitro* wykonane we współpracy z Katedrą Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych UJ CM, wykazały dla związku 8 brak działania antyproliferacyjnego i cytotoksycznego. Ponadto związek ten w badaniach z wykorzystaniem ludzkich mikrosomów wątrobowych cechował się dużą stabilnością metaboliczną oraz nie wpływał na funkcję izoenzymu CYP3A4 cytochromu P-450.

Wnioski: Szczególnie aktywne przeciwdrgawkowo substancje znalazły się w grupie hybrydowych pochodnych pirolidyno-2,5-dionu i 3-metylo-pirolidyno-2,5-dionu z fragmentem propanamidowym lub butanamidowym w położeniu 1 pierścienia imidowego, gdzie wartości ED₅₀ udało się ustalić aż dla 22 związków. Najbardziej aktywne substancje działające w obu testach (MES i scPTZ) 4 i 8, cechowały się ponadto bardziej korzystnym indeksem terapeutycznym w porównaniu do leków referencyjnych. Przeprowadzone badania farmakologiczne potwierdziły słuszność koncepcji hybrydowych związków, jako struktur o szerokim profilu aktywności przeciwdrgawkowej.

Publikacja H7. Rapacz A., Kamiński K., Obniska J., Koczurkiewicz P., Pękala E., Filipek B., 2017. Analgesic, antiallodynamic, and anticonvulsant activity of novel hybrid molecules derived from *N*-benzyl-2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)propanamide and 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)butanamide in animal models of pain and epilepsy. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 390, 567-579.

Publikacja H7 stanowi kontynuację badań wysoce aktywnych hybrydowych związków pochodnych pirolidyno-2,5-dionu z fragmentem propanamidowym lub butanamidowym w położeniu 1 pierścienia imidowego. Sześć związków aktywnych w teście MES oraz wykazujących wysoki profil bezpieczeństwa (związki 4, 5, 8, 9, 15 i 16; struktury przedstawiono na Rys. 1, praca H7) zostało ocenionych pod kątem aktywności przeciwbólowej oraz przeciwdrgawkowej w teście drgawek psychomotorycznych. Jako związki odniesienia zastosowano kwas walproinowy i lakoamid. Wszystkie związki podane w dawkach ED₅₀ z testu MES nie wykazały istotnego działania przeciwbólowego w teście gorącej płytki. Natomiast w teście formalinowym wysoką aktywnością cechowały się związki 4, 8 i 9, jak również kwas walproinowy i lakoamid. Substancje te badano następnie w teście von Frey'a oceniając ich wpływ na allodynię mechaniczną w modelu bólu neuropatycznego wywołanego wcześniejszym podaniem oksaliplatyny. Zaobserwowano dla wszystkich związków istotne statystycznie hamowanie allodynii mechanicznej, co świadczy o ich aktywności w tym modelu neuropatii. Z uwagi na fakt, że leki przeciwpadaczkowe mogą wywołać zaburzenia pamięci oraz upośledzać zdolność uczenia się, zbadano także wpływ badanych substancji na pamięć w teście biernego unikania. Wyniki wskazują, że związki 8, 9 oraz lakoamid nie zaburzały procesów pamięciowych, natomiast pewien negatywny wpływ zaobserwowano dla związku 4 i kwasu walproinowego. Dalsze eksperymenty wykazały, iż wszystkie związki były aktywne w teście drgawek psychomotorycznych, który stanowi model napadów ogniskowych, a wartości ED₅₀ mieściły się w zakresie 24,66-47,21 mg/kg. Wartości uzyskane dla związków odniesienia kwasu walproinowego i lakoamidu wyniosły odpowiednio 130,64 mg/kg oraz 5,25 mg/kg. Badane związki (z wyj. zw. 16 i kwasu walproinowego), podobnie jak lakoamid nie wpływały na aktywność lokomotoryczną myszy. Nie stwierdzono zatem dla nich działania sedatywnego, często towarzyszącego związkom aktywnym przeciwdrgawkowo oraz lekom przeciwpadaczkowym. Poszerzając badania bezpieczeństwa oraz z uwagi na fakt pojawienia się doniesień literaturowych wskazujących możliwość działania hepatotoksycznego leków przeciwpadaczkowych, wybrane związki 4 i 9 zbadano także w tym kierunku. W badaniach *in vitro* wykonanych we współpracy z Zakładem Biochemii Farmaceutycznej UJ CM nie wykazano hepatotoksycznego działania

związków. Wyniki badań porównano do kontroli pozytywnej, którą w eksperymencie stanowiła dokсорubicyna – cytostatyk o silnej aktywności cytotoksycznej. Ponadto dla związku **4** wykonano szeroki panel badań receptorowych (Cerep, Francja). Wyniki badań *in vitro* wykazały, iż substancja ta wiązała się istotnie z napięciowo zależnymi kanałami sodowymi oraz umiarkowanie z wysokonapięciowymi kanałami wapniowymi (typ L, miejsce werapamilowe) jedynie po zastosowaniu wysokiego stężenia (500 μ M), co sugerować może inny mechanizm molekularny, odpowiedzialny za efekt przeciwdrgawkowy. Ponadto, nie wykazano istotnego wiązania z kanałami wapniowymi typu N, receptorem GABA_A, NMDA oraz receptorem nikotynowym α 4 β 2.

Wnioski: Poszerzone badania aktywności farmakologicznej sześciu wybranych na podstawie wcześniejszej pracy substancji (zw. **4**, **5**, **8**, **9**, **15** i **16**) wykazały ich wysoką aktywność w teście 6 Hz (ED_{50} = 24,66-47,21 mg/kg). Ponadto silnym działaniem przeciwbólowym wykazanim w teście formalinowym oraz neuropatii indukowanej oksaliplatyną cechowały się zw. **4**, **8** i **9**. Warto podkreślić, iż rezultatem przeprowadzonych badań farmakologicznych (prace **H6** i **H7**) jest uzyskanie związków **4** i **9** o szerokim spektrum aktywności przeciwdrgawkowej w testach MES/scPTZ/6 Hz, a także współtowarzyszącej aktywności przeciwbólowej w modelach bólu tonicznego i neuropatycznego.

Publikacja H8. Kamiński K., Rapacz A., Filipek B., Obniska J., 2016. Design, synthesis and anticonvulsant activity of new hybrid compounds derived from *N*-phenyl-2-(2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yl)-propanamides and -butanamides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 24, 2938-2946.

W kolejnym etapie badań nad nowymi hybrydowymi pochodnymi piroolidyno-2,5-dionu, zawierającymi w swojej strukturze fragmenty chemiczne obecne w lekach przeciwdrgawkowych takich jak **etosuksymid**, **lakoamid** oraz **lewetyracetam** postanowiono ocenić aktywność pochodnych *N*-fenylopirolidyno-2,5-dionu z fragmentem propanamidowym lub butanamidowym w położeniu 1 pierścienia imidowego. Wstępny skrining aktywności przeciwdrgawkowej dla 21 nowych związków w testach MES i scPTZ oraz wpływ na koordynację ruchową w teście rotarod wykonano po 0,5 i 2 h od ich dootrzewnowego podania w dawce 100 mg/kg. Aktywność przeciwdrgawkową w teście MES wykazało sześć związków, a w teście scPTZ pięć pochodnych. Mając na uwadze poszukiwanie aktywnych przeciwdrgawkowo związków w różnych modelach drgawek, niniejsze struktury zbadano także w teście 6 Hz, a otrzymane rezultaty były bardzo obiecujące. Wyniki poszerzonych badań pozwoliły obliczyć wartości ED_{50} dla pięciu związków w teście MES i mieściły się one w zakresie 80,6-120,7 mg/kg, czterech związków w teście scPTZ w zakresie 58,4-87,7 mg/kg oraz sześciu związków w teście 6 Hz (ED_{50} od 41,4 do 88,2 mg/kg). Cztery spośród badanych struktur (związki **4**, **5**, **11** i **19**; struktury przedstawiono na Rys. 1 i w Tab. 1, praca **H8**) wykazały szeroki zakres aktywności przeciwdrgawkowej oraz korzystny profil bezpieczeństwa. W badaniach *in vitro* związek **4** w stężeniu 200 μ M wiązał się istotnie z napięciowo zależnymi kanałami sodowymi oraz umiarkowanie z kanałami wapniowymi (typ L, miejsce diltiazemowe). Dla związku odniesienia – **karbamazepiny** – efekt ten był niższy. Ponadto dla związku nie wykazano istotnego wiązania z innymi wysokonapięciowymi kanałami wapniowymi (Cerep, Francja).

Wnioski: W kolejnej badanej serii hybrydowych pochodnych piroolidyno-2,5-dionu istotną aktywność przeciwdrgawkową wykazano dla szeregu nowych substancji. Wartości ED₅₀ ustalono dla pięciu związków w teście MES (ED₅₀ = 80,6-120,7 mg/kg), czterech związków w teście scPTZ (ED₅₀ = 58,4-87,7 mg/kg) oraz sześciu związków w teście 6 Hz (ED₅₀ = 41,4-88,2 mg/kg). Cztery związki cechowały się szerokim zakresem aktywności przeciwdrgawkowej, a także korzystnym profilem bezpieczeństwa. Mechanizm działania związku 4 może być wynikiem wiązania z kanałami sodowymi (Na_v1.2) i/lub wapniowymi typu L.

Publikacja H9. Rapacz A., Głuch-Lutwin M., Mordyl B., Filipek B., Abram M., Kamiński K., 2018. Evaluation of anticonvulsant and analgesic activity of new hybrid compounds derived from *N*-phenyl-2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)-propanamides and -butanamides. *Epilepsy Research* 143, 11-19.

W pracy tej przedstawiono poszerzone badania farmakologiczne sześciu wyselekcjonowanych związków: **DK-1 (4)**, **DK-2 (5)**, **DK-10 (11)**, **DK-11 (12)**, **DK-14 (14)** i **DK-20 (19)** (struktury przedstawiono na Rys. 1, praca **H9**). Z uwagi na stwierdzoną wcześniej istotną aktywność przeciwdrgawkową związków w teście drgawek psychomotorycznych (test 6 Hz) przy stymulacji bodźcem elektrycznym o natężeniu 32 mA (1,5xCC₉₇) (ED₅₀ w zakresie od 41,4 do 88,2 mg/kg, praca **H8**), postanowiono ocenić działanie przeciwdrgawkowe po zastosowaniu bodźca o natężeniu 44 mA (2xCC₉₇), czyli w modelu padaczki lekoopornej. Uzyskane wyniki okazały się bardzo interesujące, dla trzech związków: **DK-1 (4)**, **DK-10 (11)** i **DK-14 (14)** ustalono wartości ED₅₀, które mieściły się w zakresie 147,4-246,6 mg/kg. Związki **DK-10 (11)** (ED₅₀ = 153,3 mg/kg) i **DK-14 (14)** (ED₅₀ = 147,4 mg/kg) wykazały nieco wyższą aktywność w porównaniu do kwasu walproinowego (ED₅₀ = 183,1 mg/kg) oraz porównywalne indeksy terapeutyczne, które wyniosły odpowiednio 2,6; 2,3 i 2,35. Warto podkreślić, że dane literaturowe wskazują na niższą aktywność lewetyracetamu w tym teście. Dodatkowo w badaniach aktywności analgetycznej wykazano istotne statystycznie działanie przeciwbólowe dla związków **DK-1 (4)**, **DK-2 (5)**, **DK-11 (12)**, **DK-20 (19)** oraz pregabaliny podanych w dawce 30 mg/kg w drugiej fazie testu formalinowego. Związek **DK-11 (12)**, podobnie jak pregabalina wykazał także istotną aktywność przeciwbólową po zastosowaniu niższych dawek 1 i 10 mg/kg. Natomiast kwas walproinowy wykazał aktywność przy zastosowaniu wyższych dawek tj. 150 i 200 mg/kg. W modelu neuropatii indukowanej oksaliplatyną po podaniu związków w dawce 30 mg/kg, a związków **DK-2 (5)** i **DK-11 (12)** również w dawce 10 mg/kg zaobserwowano istotne statystycznie hamowanie allodynii. Pregabalina (1, 10, 30 mg/kg) oraz kwas walproinowy (50, 100, 150 mg/kg) wykazały istotną aktywność we wszystkich zastosowanych dawkach. Wszystkie badane związki w aktywnych dawkach (z wyj. zw. **DK-11 (12)** w dawce 30 mg/kg oraz kwasu walproinowego w dawce 252,74 mg/kg), nie wpływały istotnie na aktywność lokomotoryczną myszy. Dodatkowo żaden z badanych związków nie zaburzał koordynacji ruchowej myszy w teście komina, a w badaniach *in vitro* na linii komórkowej Hep G2 wykonanych we współpracy z Katedrą Farmakobiologii UJ CM nie wykazano działania hepatotoksycznego związków. Przeprowadzone badania *in vitro* nie wykazały istotnego wiązania związku **DK-11 (12)** (100 μM) z kanałem sodowym (Na_v1.2), wysokonapięciowymi kanałami wapniowymi (typy L i N) oraz receptorem NMDA

(Cerep, Francja), co sugerować może inny molekularny mechanizm działania. Planowane są dalsze badania molekularne w kierunku wiązania z innymi kanałami jonowymi (m.in. kanałami wapniowymi typu T) oraz receptorami (m.in. GABA_A).

Wnioski: Dalsze eksperymenty farmakologiczne w grupie związków hybrydowych wykazały aktywność trzech związków: DK-1 (4), DK-10 (11) i DK-14 (14) w teście 6 Hz (44 mA), który stanowi model padaczki lekoopornej. Związki DK-10 (11) i DK-14 (14) wykazały wyższą aktywność i zbliżony profil bezpieczeństwa w porównaniu do kwasu walproinowego. Natomiast w testach bólowych (test formalinowy oraz neuropatia indukowana oksaliplatyną) szczególnie obiecujące wyniki uzyskano dla związku DK-11 (12).

Publikacja H10. Obniska J., Rapacz A., Rybka S., Góra M., Żmudzki P., Kamiński K., 2017. Synthesis and Anticonvulsant Properties of New 3,3-Diphenyl-2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yl-acetamides and 3,3-Diphenyl-propionamides. *Archiv der Pharmazie* 350, e1600368.

W części farmakologicznej pracy przedstawiono wyniki badań aktywności przeciwdrgawkowej nowych amidowych pochodnych 3,3-difenylopirolidyno-2,5-dionu oraz kwasu 3,3-difenylopropanowego (pochodne bez układu imidowego) (struktury przedstawiono w Tab. 1 i 2, praca H10). Badania aktywności przeciwdrgawkowej w testach MES i scPTZ oraz wpływ na koordynację ruchową w teście rotarod wykonano po 0,5 i 2 h od dootrzewnowego podania związków w dawce 100 mg/kg. W teście MES działanie przeciwdrgawkowe wykazało 7, natomiast w teście scPTZ 12 spośród badanych związków. Poszerzone badania farmakologiczne wykazały, iż najwyższą aktywnością przeciwdrgawkową w teście MES cechowały się związki 3p, 3q i 3r dla których wartości ED₅₀ wyniosły odpowiednio 50,91 mg/kg, 31,64 mg/kg oraz 38,15 mg/kg. Z kolei w teście scPTZ wyznaczone dawki ED₅₀ dla aktywnych substancji mieściły się w zakresie 42,83-87,53 mg/kg. Warto podkreślić, że dwa związki 3p i 3q były aktywne w obu testach. Wybranych osiem substancji zbadano ponadto w teście 6 Hz, a uzyskane wartości ED₅₀ wyniosły od 38,15 do 88,24 mg/kg. W badaniach *in vitro* związek 3p w stężeniach 1, 10 i 100 μM wykazał istotne wiązanie (> 50%) z kanałami sodowymi (Na_v1.2), a w stężeniu 100 μM także z kanałami wapniowymi (typ L) (Cerep, Francja), co może wskazywać jego potencjalny mechanizm działania.

Wnioski: W grupie amidowych pochodnych 3,3-difenylopirolidyno-2,5-dionu oraz kwasu 3,3-difenylopropanowego wyznaczono wartości ED₅₀ w teście MES dla 4 związków (ED₅₀ od 31,6 do 85,5 mg/kg), w teście scPTZ dla 12 związków (42,8-87,5 mg/kg) oraz w teście 6 Hz dla 4 związków (38,1-88,2 mg/kg). Przeprowadzone badania pozwoliły wyselekcjonować związek 3q, wykazujący aktywność w trzech testach MES, scPTZ i 6 Hz. Prawdopodobny mechanizm działania związku 3p jest związany z kanałami sodowymi (Na_v1.2) i/lub wapniowymi typu L.

Publikacja H11. Rapacz A., Obniska J., Koczurkiewicz P., Wójcik-Pszczola K., Siwek A., Gryboś A., Rybka S., Karcz A., Pękala E., Filipek B., 2018. Antiallodynic and antihyperalgesic activity of new 3,3-diphenyl-propionamides with anticonvulsant activity in models of pain in mice. *European Journal of Pharmacology* 821, 39-48.

Kontynuując poprzednie badania w publikacji H11 dla wybranych związków JOA 122 (3p), JOA 123 (3q) i JOA 125 (3r) dokonano oceny ich aktywności przeciwbólowej. Obok testu gorącej płytki (model bólu ostrego) i testu formalinowego (model bólu tonicznego) zastosowano także dwa modele bólu neuropatycznego, mianowicie neuropatię wywołaną cytostatykiem oraz neuropatię cukrzycową. Jako związki odniesienia użyto pregabaliny oraz lakozamid. Badane związki, podobnie jak pregabalina, nie wykazały aktywności przeciwbólowej w teście gorącej płytki oraz pierwszej fazie testu formalinowego (faza bólu ostrego), natomiast związki JOA 122 (3p) i JOA 123 (3q) w dawce 30 mg/kg wykazały istotną aktywność w drugiej fazie testu formalinowego (faza bólu zapalnego). Związek JOA 122 (3p), podobnie jak pregabalina, był aktywny również w niższych dawkach, tj. 1 i 10 mg/kg. Aktywność analgetyczną oceniano dodatkowo w modelu neuropatii po podaniu oksaliplatyny. Badania wykonano po 3 h od podania cytostatyku, oceniając wpływ związków oraz lakozamidu na allodynię ostrą oraz po 7 dniach oceniając wpływ na późną fazę allodyinii. 3 h po podaniu oksaliplatyny związek JOA 122 (3p) podany dootrzewnowo w dawkach 1, 10 i 30 mg/kg istotnie statystycznie hamował allodynię mechaniczną, natomiast związek JOA 123 (3q) oraz lakozamid wykazały istotną aktywność analgetyczną w dawkach 10 i 30 mg/kg. Najwyższy efekt przeciwbólowy zanotowano dla lakozamidu w dawce 30 mg/kg. 7 dni po podaniu oksaliplatyny badane związki JOA 122 (3p) i JOA 123 (3q) oraz lakozamid zastosowane w dawkach 10 i 30 mg/kg istotnie hamowały allodynie mechaniczną. Podobnie jak we wcześniejszej fazie najsilniej działał lakozamid w dawce 30 mg/kg. W modelu neuropatii cukrzycowej indukowanej streptozotocyną badane związki JOA 122 (3p) i JOA 123 (3q) oraz lakozamid w dawce 30 mg/kg istotnie zmniejszały allodynię mechaniczną w teście von Frey'a. Ponadto w teście gorącej płytki dla związków i lakozamidu w tej samej dawce wykazano istotne statystycznie wydłużenie latencji reakcji bólowej. Co istotne, związki JOA 122 (3p) oraz pregabalina w aktywnych dawkach nie wpływały istotnie na aktywność lokomotoryczną myszy, natomiast związek JOA 123 (3q) w dawkach 10 i 30 mg/kg oraz lakozamid w dawce 30 mg/kg wykazały efekt sedatywny. W badaniach *in vitro* wykonanych we współpracy z Zakładem Biochemii Farmaceutycznej UJ CM na linii komórkowej Hep G2 dla związku JOA 122 (3p) nie obserwowano działania hepatotoksycznego. Dalsze badania przeprowadzone na mysich mikrosomach wątrobowych wykazały, że związek JOA 122 (3p) nie był stabilny metabolicznie (klirens wyniósł 495 $\mu\text{l}/\text{mg}/\text{min}$). Poszerzone badania *in vitro* dla tej substancji w stężeniu 100 μM wykazały umiarkowane wiązanie z receptorem NMDA (30,4%) oraz niewielkie z receptorem 5-HT₃. Dodatkowo związek wiązał się z receptorem 5-HT_{1A}, a wartość K_i wyniosła 223 nM. Dalsze badania wykonane w Katedrze Farmakobiologii UJ CM nie wykazały wiązania związku JOA 122 (3p) z receptorem GABA_A (dane nieopublikowane). Ponadto, w badaniach *in vitro* mechanizmu działania dla związku JOA 123 (3q) w stężeniu 100 μM wykazano istotne wiązanie z kanałami sodowymi (Na_v1.2) (Cerep, Francja).

Wnioski: Poszerzone badania aktywności farmakologicznej dla wyselekcjonowanych trzech substancji wykazały istotne działanie przeciwbólowe związków JOA 122 (3p) i JOA 123 (3q) w drugiej

fazie testu formalinowego, a także w modelach bólu neuropatycznego: neuropatii indukowanej oksaliplatyną oraz neuropatii cukrzycowej. Mechanizm działania związku JOA 123 (3q) może być wynikiem wiązania z kanałem sodowym (Na_v1.2).

4.3.4. Podsumowanie

Przeprowadzone badania farmakologiczne w grupie pochodnych piperidyno-2,5-dionu pozwoliły uzyskać szereg związków wykazujących istotne działanie przeciwdrgawkowe, w tym substancji o szerokim profilu tej aktywności w różnych zwierzęcych modelach drgawek. Dla wielu badanych związków wartości indeksu terapeutycznego były wyższe w porównaniu do leków referencyjnych, co sugeruje wysokie bezpieczeństwo stosowania tych związków. Ponadto wśród aktywnych przeciwdrgawkowo struktur znalazły się substancje o silnej aktywności przeciwbólowej stwierdzonej w różnych modelach bólu, w tym bólu ostrego, tonicznego oraz neuropatycznego: neuropatii indukowanej oksaliplatyną oraz neuropatii cukrzycowej. Wykonane badania potwierdzają założenie, iż działaniu przeciwdrgawkowemu może współtowarzyszyć istotna aktywność analgetyczna. Ponadto, potwierdzono słuszność koncepcji, iż struktury hybrydowe, mogą stanowić związki o szerokim spektrum aktywności przeciwdrgawkowej, a jednocześnie wysokim profilem bezpieczeństwa. Wykonane badania *in vitro* dla wybranych związków wykazały brak działania mutagennego, cytotoksycznego, w tym hepatotoksycznego oraz antyproliferacyjnego. Badania molekularne przybliżyły wiedzę na temat potencjalnego mechanizmu działania związków.

Ponadto przeprowadzone eksperymenty znacznie przyczyniły się do poszerzenia wiedzy dotyczącej zależności struktura-aktywność pomiędzy testowanymi seriami związków, co umożliwiło dalszą modyfikację aktywnych struktur i syntezę ich analogów o potencjalnym silniejszym działaniu przeciwdrgawkowym i analgetycznym. Dla wyselekcjonowanych najbardziej aktywnych substancji planowane są dalsze badania farmakologiczne oraz badania molekularne mające na celu poszerzenie wiedzy na temat ich mechanizmu działania. W ramach obecnie realizowanych dwóch grantów (NCN) badane są związki, które stanowią modyfikację chemiczną aktywnych związków, a także nowe hybrydowe pochodne piperidyno-2,5-dionu lub imidazolidyno-2,4-dionu.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

5.1. Aktywność naukowo-badawcza przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych

Moje zainteresowania naukowo-badawcze związane z farmakologią rozpoczęły się podczas studiów na Wydziale Farmaceutycznym UJ CM. W trakcie IV i V roku studiów w ramach Koła Farmakologicznego działającego przy Zakładzie Farmakodynamiki UJ CM miałam możliwość zapoznania się z metodyką badań naukowych. Wyniki badań prowadzonych w ramach koła naukowego prezentowałam na studenckich konferencjach naukowych w Bydgoszczy i Krakowie w latach 2002 i 2003. Praca pt. „Próby zastosowania w terapii agonistów i antagonistów receptora β_3 -adrenergicznego” uzyskała **I nagrodę** w II Ogólnopolskim Przeglądzie Prac Naukowych Studentów Medycyny i Lekarzy Stażystów w Bydgoszczy w 2002 r., natomiast praca pt. „Poszukiwanie biologicznie czynnych struktur w grupie nowych chiralnych aminobutanolowych pochodnych ksantonu” została **wyróżniona** w 2003 r. Ponadto w 2004 r. uczestniczyłam w studenckiej konferencji w Mersin (Turcja), prezentując wyniki badań prowadzonych w ramach koła naukowego.

Ze względu na dodatkowe zainteresowania naukowe pracę magisterską pt. „**Udział grzybów *Candida* w zakażeniach u chorych hospitalizowanych na oddziałach intensywnej terapii**” wykonałam w Zakładzie Mikrobiologii UJ CM pod opieką dr Danuty Trojanowskiej. **Studia ukończyłam z wyróżnieniem będąc w grupie 5% najlepszych absolwentów Wydziału Farmaceutycznego UJ CM.** Pragnąc poszerzyć swoją wiedzę, w 2003 r. podjęłam roczne **studia podyplomowe z Biologii Molekularnej na Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego**. W tym czasie odbywałam również roczny staż zawodowy w aptece otwartej.

W październiku 2004 r. rozpoczęłam pracę w Zakładzie Farmakodynamiki UJ CM, gdzie pod opieką naukową prof. dr hab. Ryszarda Czarneckiego, a od 2005 r. prof. dr hab. Barbary Filipek, a także dzięki współpracy z prof. dr hab. Henrykiem Maroną oraz dr Natalią Szkaradek z Zakładu Chemii Bioorganicznej, Katedry Chemii Organicznej UJ CM kontynuowałam prace badawcze w kierunku poszukiwania struktur aktywnych biologicznie w grupie pochodnych ksantonu. Szczególnym kierunkiem moich zainteresowań była ocena aktywności przeciwartmicznej i hipotensyjnej nowo zsyntetyzowanych związków. Wstępne badania farmakologiczne obejmowały oznaczenie profilaktycznej aktywności przeciwartmicznej w modelu arytmii adrenergicznej, oznaczenie wpływu na ciśnienie tętnicze krwi oraz na prawidłowy elektrokardiogram po dożylnym podaniu badanych związków szczurom. Poszerzone badania oceniające wpływ wybranych związków na poszczególne podtypy receptora α_1 , receptor β_2 oraz kanały wapniowe wykonałam na narządach

izolowanych (aorta, śledziona, tchawica, nasieniowody) zwierząt laboratoryjnych. Ponadto poszerzone badania objęły m.in. oznaczenie wpływu na pracę izolowanego serca szczura, ocenę aktywności przeciwartrymicznej w modelu izolowanego serca, ocenę aktywności przeciwartrymicznej i hipotensyjnej po podaniu dożołądkowym, oznaczenie toksyczności ostrej. Powyższe badania pozwoliły na wyselekcjonowanie najbardziej aktywnych związków, czyli pochodnych ksantenu z ugrupowaniem aminopropanolowym w pozycji 4 oraz z ugrupowaniem 2-metoksyfenylo-piperazynowym.

Niniejsze badania prowadziłam w ramach 2 projektów własnych i 1 projektu celowego, których byłam kierownikiem, finansowanych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, pt.:

- „Ocena wpływu nowych pochodnych ksantonowych na wybrane parametry układu sercowo-naczyniowego i ośrodkowego układu nerwowego” (2005-2007)
- „Mechanizm działania nowych pochodnych ksantenu o aktywności przeciwartrymicznej i hipotensyjnej” (2008-2010)
- „Właściwości przeciwartrymiczne i hipotensyjne nowych pochodnych ksantenu o aktywności adrenolitycznej” (2011-2012)

W 2012 r. **obroniłam z wyróżnieniem pracę doktorską** pod kierunkiem prof. dr hab. Barbary Filipek pt. **„Właściwości przeciwartrymiczne i hipotensyjne nowych pochodnych ksantenu o aktywności adrenolitycznej”**. Wstępne wyniki badań chemiczno-farmakologicznych zostały opublikowane w 2009 r. (prace **A1** i **A3**). Wyniki poszerzonych badań farmakologicznych zostały później opublikowane w 4 pracach (prace **B4**, **B5**, **B7** i **B8**) o łącznym **IF = 9,556**, **MNiSW = 110**.

Ponadto w tym czasie pod opieką prof. dr hab. Barbary Filipek poszerzałam swoją wiedzę przygotowując publikacje przeglądowe (prace **C1-C4**). W ramach współpracy z pracownikami Zakładu Farmakodynamiki UJ CM oraz Zakładu Chemii Bioorganicznej Katedry Chemii Organicznej UJ CM powstały prace **A2** i **A4**.

Od początku pracy naukowej aktywnie uczestniczyłam w konferencjach naukowych prezentując wyniki swoich badań. Ponadto nadzorowałam trzy realizowane w tym czasie w Zakładzie Farmakodynamiki UJ CM prace magisterskie.

W latach 2010-2014, jako wykonawca, brałam udział w **projekcie unijnym pt. „Opracowanie innowacyjnej grupy związków o aktywności stabilizującej potencjał błony komórkowej”** (kierownik: prof. dr hab. Henryk Marona, koordynator merytoryczny projektu: dr hab. Anna Waszkielewicz z Zakładu Chemii Bioorganicznej, Katedry Chemii Organicznej UJ CM) finansowanym z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka,

którego celem było m.in. oznaczenie aktywności przeciwbólowej oraz miejscowo znieczulającej nowej grupy związków o przewidywanych właściwościach przeciwdrgawkowych i przeciwbólowych. W niniejszym projekcie brałam udział w szerokim panelu badań farmakologicznych oceniając aktywność badanych związków w testach bólu ostrego, zapalnego, tonicznego oraz neuropatycznego u myszy, a także działanie miejscowo znieczulające (myszy, świnki morski). Dodatkowo dla 2 związków oceniono toksyczność ostrą zarówno po podaniu dożylnym, jak i dożołądkowym (myszy, szczury). Struktury i zastosowanie najbardziej aktywnych związków stały się następnie przedmiotem zgłoszeń patentowych.

Podsumowanie dorobku naukowego przed otrzymaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych:

Liczba publikacji: **8**

Łączny Impact Factor: **3,18**

Łączna liczba punktów MNiSW: **52**

Liczba doniesień zjazdowych: **16**

5.2. Aktywność naukowo-badawcza po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych początkowo kontynuowałam badania farmakologiczne w grupie pochodnych ksantonu. Wyniki badań będących przedmiotem pracy doktorskiej zostały opublikowane w *European Journal of Pharmacology* (prace **B4** i **B5**) oraz w *Pharmacological Reports* (prace **B7** i **B8**). Moje dalsze badania w tej grupie związków dotyczyły oznaczenia aktywności krążeniowej kolejnych 9 nowych pochodnych (praca **B3**) oraz badań enancjomerów najbardziej aktywnych związków (praca **B9**). Badania farmakologiczne wykonałam w ramach projektu celowego pt. „**Aktywność przeciwarrytmiczna i hipotensyjna w grupie aminopropanolowych pochodnych ksantonu**” (2013) finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Kolejnym kierunkiem moich zainteresowań badawczych była ocena aktywności ośrodkowej pochodnych ksantonu. W 2012 r. uczestniczyłam w badaniu aktywności przeciwdepresyjnej pięciu nowych piperazynowych pochodnych ksantonu. Ponadto brałam udział w badaniach aktywności przeciwdepresyjnej i przeciwłękowej, a także ocenie bezpieczeństwa (badania neurotoksyczności) aroksyalkilowych pochodnych (2-metoksyfenylo)piperazyny. Powyższe badania zaowocowały

powstaniem kilku prac oryginalnych (prace **B10-B13**, **B19**, **B20**), a także pracy przeglądowej dotyczącej niniejszej tematyki (praca **C11**). Jestem również współautorem kilku prac poglądowych, w których omówione zostały aktualne tematy z dziedziny farmakologii i farmakoterapii (prace **C5-C10**). W tym czasie ze współpracownikami Zakładu Farmakodynamiki UJ CM przygotowałam również prace **B1** i **B2**.

W roku 2012 brałam udział w przygotowaniu opisu projektu pt. „**Badanie aktywności farmakologicznej nowych, nioselektywnych inhibitorów transportu zwrotnego kwasu gamma-aminomastowego (GABA) w wybranych modelach behawioralnych z wykorzystaniem sztucznej inteligencji jako metody analizy i klasyfikacji zachowań oraz predykcji efektywnych i toksycznych przedziałów dawkowania**” na konkurs OPUS 3 (NCN), którego następnie w latach 2013-2015 byłam wykonawcą (kierownik: dr hab. Kinga Sałat, prof. UJ; Zakład Farmakodynamiki UJ CM). W niniejszym projekcie brałam udział w wykonaniu badań farmakologicznych aktywności nowych związków chemicznych wpływających na transportery dla GABA (badania aktywności przeciwdrgawkowej, przeciwbólowej, przeciwdepresyjnej i przeciwłękowej). W ramach projektu powstała praca **B6**, w której przedstawiono wyniki poszerzonych badań farmakologicznych pod kątem aktywności przeciwdrgawkowej, przeciwbólowej oraz przeciwdepresyjnej dla dwóch nowych 2-podstawionych pochodnych kwasu 4-aminobutanowego, wyselekcjonowanych na podstawie wcześniejszych badań *in vitro* oceniających wpływ na błonowe transportery dla GABA (GAT1-4). Projekt ten realizowany był we współpracy z śp. dr hab. Katarzyną Kulig, prof. UJ z Zakładu Fizykochemicznej Analizy Leku Katedry Chemii Farmaceutycznej UJ CM oraz zespołem badawczym kierowanym przez prof. Klaus T. Wannera z Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Ludwika Maksymiliana w Monachium. Kontynuacją badań jest mój udział od 2016 roku w projekcie OPUS 8 (NCN) pt. „**Pochodne aminokwasów - inhibitory wychwyty zwrotnego GABA o aktywności przeciwbólowej**” (kierownik: śp. dr hab. Katarzyna Kulig, prof. UJ; obecnie dr Paula Zaręba). Co więcej, efektem ww. współpracy jest projekt „**Development of ligands of biogenic amine transporters for the treatment of CNS disorder**” zawarty pomiędzy Uniwersytetem Jagiellońskim, Uniwersytetem Ludwika Maksymiliana w Monachium oraz firmą farmaceutyczną Lead Discovery Center GmbH (Dortmund). Stąd wyniki badań, w tym badań farmakologicznych, w których brałam udział, objęte są obecnie klauzulą poufności w związku z planowanym zgłoszeniem patentowym.

Od 2013 roku moje zainteresowania naukowo-badawcze skupiły się przede wszystkim na badaniu aktywności przeciwdrgawkowej i przeciwbólowej nowych związków pochodnych piperolidyno-2,5-dionu. Było to możliwe dzięki nawiązaniu współpracy z prof. dr hab. Jolantą Obniską z Zakładu Chemii Leków, Katedry Chemii Farmaceutycznej UJ CM. W roku 2013 uczestniczyłam w przygotowaniu projektu pt. „**Synteza, badanie właściwości fizykochemicznych**”

i farmakologicznych nowych amidowych pochodnych 3,3-dipodstawionych kwasów pirolidyno-2,5-diono-alkilowych o potencjalnym wpływie na ośrodkowy układ nerwowy” na konkurs OPUS 6 (NCN), którego następnie w latach 2014-2017 byłam wykonawcą (kierownik: prof. dr hab. Jolanta Obniska). Pragnę nadmienić, iż jednym z celów naukowych niniejszego grantu był mój rozwój naukowy, co było zaznaczone we wniosku grantowym, a także pozytywnie ocenione przez recenzentów w uzasadnieniu oceny grantu. Efektem współpracy jest szereg publikacji, w tym prace stanowiące dorobek do habilitacji (prace **H3-H5**, **H10**, **H11**), jak również praca **B14**. Obecnie jestem współwykonawcą grantu OPUS 8 (NCN) pt. **„Nowe hybrydowe związki z układem pirolidyno-2,5-dionu lub imidazolidyno-2,4-dionu i ich wpływ na aktywność w ośrodkowym układzie nerwowym”** (kierownik: prof. dr hab. Jolanta Obniska), będącego dalszą kontynuacją współpracy naukowej. W ramach grantu planujemy rozszerzyć badania farmakologiczne, obok pochodnych pirolidyno-2,5-dionu, o nowe związki z ugrupowaniem imidazolidyno-2,4-dionu. Zaplanowane w tym projekcie połączenia to związki hybrydowe, zawierające fragmenty strukturalne charakterystyczne dla leków przeciwpadaczkowych pierwszej i drugiej generacji: etosuksymidu, fenytoiny oraz zonisamidu i tiagabiny.

Aby poszerzyć swój warsztat badawczy w grudniu 2013 roku odbyłam szkolenie naukowe w Zakładzie Fizjologii Zwierząt, Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, kierowanym przez prof. dr hab. Piotra Wlazia dotyczące metodyki testu drgawek psychomotorycznych indukowanych prądem o częstotliwości 6 Hz. Dzięki środkom z grantu możliwe było zakupienie odpowiedniej aparatury oraz wdrożenie testu na Wydziale Farmaceutycznym UJ CM. Test drgawek psychomotorycznych stanowi model napadów ogniskowych, jest także modelem padaczki lekoopornej. Co więcej, nawiązana współpraca naukowa zaowocowała powstaniem wspólnej pracy (praca **B24**).

W latach 2014-2017 wykonałam także badania farmakologiczne w ramach grantu PRELUDIUM 6 (NCN) pt. **„Synteza, badania fizyko-chemiczne i farmakologiczne nowych pochodnych 3-podstawionego pirolidyno-2,5-dionu o potencjalnej aktywności przeciwdrgawkowej”** (kierownik: mgr Sabina Rybka, opiekun naukowy: prof. dr hab. Jolanta Obniska). Wyniki przeprowadzonych badań chemiczno-farmakologicznych oraz poszerzonych badań farmakologicznych zostały opublikowane w pracach **B16**, **B18**, **B22** i **B25**, jak również w publikacjach wchodzących w cykl prac habilitacyjnych **H1** i **H2**.

Ponadto w 2014 r. rozpoczęłam współpracę dr hab. Krzysztofem Kamińskim z Zakładu Chemii Leków, Katedry Chemii Farmaceutycznej UJ CM. Brałam udział w badaniach farmakologicznych w ramach realizowanego grantu SONATA 3 (NCN) pt. **„Poszukiwanie nowych substancji**

o zróżnicowanych właściwościach protekcyjnych w zwierzęcych modelach drgawek padaczkowych wśród amidowych pochodnych kwasu 1-(2,5-diokspiroolidyn-1-yl)-octowego” wykonując badania aktywności przeciwdrgawkowej w teście drgawek chemicznych indukowanych podskórnym podaniem pentylenetetrazolu (test scPTZ) oraz aktywności przeciwbólowej w teście formalinowym nowych hybrydowych pochodnych pirolidyno-2,5-dionu. W roku 2015 uczestniczyłam w przygotowaniu projektu pt. „**Poszukiwanie nowych substancji o działaniu przeciwdrgawkowym i przeciwbólowym wśród związków hybrydowych pochodnych pirolidyno-2,5-dionu**” na konkurs SONATA BIS 5 (NCN), którego od 2016 roku jestem wykonawcą (kierownik: dr hab. Krzysztof Kamiński). Rezultaty badań powstałe w ramach powyższych projektów zostały opublikowane w pracach **B15** i **B17** oraz w publikacjach wchodzących w skład habilitacji (**H6-H9**).

Badania farmakologiczne prowadzone w grupie pochodnych pirolidyno-2,5-dionu poszerzałam także w ramach badań własnych. Od 2014 roku kierowałam/kieruję 1 projektem celowym i 2 projektami statutowymi dotyczącymi tej tematyki badawczej, pt.:

- „Badania aktywności przeciwdrgawkowej w grupie nowych pochodnych pirolidyno-2,5-dionu” (2014),
- „Badania farmakologiczne w kierunku aktywności przeciwdrgawkowej nowych *N*-zasad Mannicha pochodnych 3-podstawionego suksynimidu” (2015-2016),
- „Aktywność przeciwdrgawkowa i przeciwbólowa nowych amidowych pochodnych pirolidyno-2,5-dionu” (2017-nadal).

Wyniki badań chemiczno-farmakologicznych oraz poszerzone badania farmakologiczne dotyczące aktywności przeciwdrgawkowej oraz przeciwbólowej w grupie nowych pochodnych pirolidyno-2,5-dionu zaprezentowane w pracach **H1-H11** stały się podstawą postępowania awansowego o nadanie stopnia doktora habilitowanego nauk farmaceutycznych. Ponadto przygotowana przeze mnie praca przeglądowa omawia na podstawie najnowszego piśmiennictwa postępy, a także ograniczenia w farmakoterapii padaczki (praca **C12**).

Nadal kontynuowałam współpracę naukową z Zakładem Chemii Bioorganicznej, Katedry Chemii Organicznej UJ CM kierowanym przez prof. dr hab. Henryka Maronę, a od października 2017 roku przez dr hab. Annę Waszkielewicz. W latach 2014-2017 byłam wykonawcą badań farmakologicznych w projekcie OPUS 6 (NCN) pt. „**Poszukiwanie związków o działaniu ośrodkowym**” (kierownik: dr hab. Anna Waszkielewicz). W rezultacie przeprowadzonych badań w ramach grantu powstała publikacja **B23**, w której jestem pierwszym autorem. W pracy tej opisano syntezę oraz właściwości farmakologiczne nowych związków z grupy pochodnych *N*-fenoksyalkilo- lub *N*-(fenoksy)-etoksyetyloaminoalkanolii. Dla szeregu pochodnych z tej grupy związków wykazano aktywność przeciwdrgawkową w teście MES oraz analgetyczną w teście formalinowym. Ponadto

w 2017 r. praca pt. **„Synthesis and *in vivo* evaluation of the activity of some xanthone derivatives on the central nervous system”**, która powstała w ramach wyżej wspomnianego projektu, zdobyła nagrodę za najlepszą prezentację na **19th International Conference on Medicinal Chemistry and Drug Design w Londynie**. Również w ramach niniejszego grantu powstała praca **B21**, w której oceniono aktywność przeciwdrgawkową alkanoloamidowych pochodnych kwasu cynamonowego. Obecnie wykonuję badania aktywności przeciwdrgawkowej w ramach grantu PRELUDIUM 9 (NCN) pt. **„Synteza, ewaluacja aktywności przeciwdrgawkowej oraz analiza wpływu na ludzkie astrocyty w grupie pochodnych piperazyny i/lub aminoalkanoli w kontekście badania mechanizmów działania aktywnych przeciwdrgawkowo związków”**, którego kierownikiem jest mgr Katarzyna Pańczyk, a opiekunem naukowym dr hab. Anna Waszkielewicz. Wyniki badań realizowanych w ramach niniejszego grantu opublikowano w pracy **B26**.

Po uzyskaniu stopnia doktora sprawowałam opiekę nad 7 magistrantami, nadzorowałam także badania prowadzone w ramach kolejnych dwóch prac magisterskich (studenci kierunku farmacja), byłam również recenzentem 7 prac magisterskich. Od 2013 roku uczestniczę w pracach Koła Farmakologicznego Studentów Farmacji działającego przy Zakładzie Farmakodynamiki UJ CM zapoznając studentów z metodyką badań naukowych.

Aktualnie realizuję 5 projektów badawczych. Obok kierowania projektem statutowym pt. **„Aktywność przeciwdrgawkowa i przeciwbólowa nowych amidowych pochodnych pirolidyno-2,5-dionu”**, jestem współwykonawcą dwóch grantów OPUS (NCN) pt. **„Nowe hybrydowe związki z układem pirolidyno-2,5-dionu lub imidazolidyno-2,4-dionu i ich wpływ na aktywność w ośrodkowym układzie nerwowym”** oraz **„Pochodne aminokwasów - inhibitory wychwytu zwrotnego GABA o aktywności przeciwbólowej”**, 1 grantu SONATA BIS (NCN) pt. **„Poszukiwanie nowych substancji o działaniu przeciwdrgawkowym i przeciwbólowym wśród związków hybrydowych pochodnych pirolidyno-2,5-dionu”**. Biorę także udział w wykonaniu badań farmakologicznych w ramach grantu PRELUDIUM (NCN) pt. **„Synteza, ewaluacja aktywności przeciwdrgawkowej oraz analiza wpływu na ludzkie astrocyty w grupie pochodnych piperazyny i/lub aminoalkanoli w kontekście badania mechanizmów działania aktywnych przeciwdrgawkowo związków”**.

Wyniki prowadzonych obecnie badań chemiczno-farmakologicznych w grupie pochodnych pirolidyno-2,5-dionu zostały zaprezentowane na konferencji na temat nowych leków przeciwpadaczkowych i urządzeń (14th EILAT Conference on New Antiepileptic Drugs and Devices), która miała miejsce w Madrycie w dniach 13-16 maja 2018 r.

Moje osiągnięcia naukowe zostały **trzykrotnie wyróżnione nagrodą** dziekana Wydziału Farmaceutycznego UJ CM w latach 2015-2017.

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

Liczba publikacji: **34**

Łączny Impact Factor: **71,82**

Łączna liczba punktów MNiSW: **754**

Liczba doniesień zjazdowych: **40**

6. Podsumowanie całego dorobku naukowego

Łączna liczba publikacji: **53**, w tym:

- **37** pełnotekstowych publikacji oryginalnych w anglojęzycznych, recenzowanych czasopismach, posiadających Impact Factor
- **4** pełnotekstowe publikacje oryginalne w anglojęzycznych, recenzowanych czasopismach, nieposiadających Impact Factor
- **2** anglojęzyczne publikacje pogładowe
- **10** polskojęzycznych publikacji pogładowych

Łączny Impact Factor: **104,485**

Łączna liczba punktów MNiSW: **1101**

Indeks Hirscha wg *Web of Science*: **10**

Łączna liczba cytowań wg *Web of Science*: **301** (stan na dzień 12.06.2018 r.)

Liczba doniesień zjazdowych: **56**, w tym:

- międzynarodowych: **32**
- krajowych: **24**

7. Piśmiennictwo

- [1] Alles S, Smith P, 2018. Etiology and pharmacology of neuropathic pain. *Pharmacol Rev* 70, 315-47.
- [2] Ardid D, Lamberty Y, Alloui A, Coudore-Civiale MA, Klitgaard H, Eschalier A, 2003. Antihyperalgesic effect of levetiracetam in neuropathic pain models in rats. *Eur J Pharmacol* 473, 27-33.
- [3] Attal N, Bouhassira D, 2015. Pharmacotherapy of neuropathic pain: which drugs, which treatment algorithms? *Pain* 156, S104-14.
- [4] Barton ME, Klein BD, Wolf HH, White HS, 2001. Pharmacological characterization of the 6 Hz psychomotor seizure model of partial epilepsy. *Epilepsy Res* 47, 217-27.
- [5] Basso L, Altier C, 2017. Transient Receptor Potential Channels in neuropathic pain. *Curr Opin Pharmacol* 32, 9-15.
- [6] Bauer CS, Nieto-Rostro M, Rahman W, Tran-Van-Minh A, Ferron L i wsp., 2009. The increased trafficking of the calcium channel subunit $\alpha_2\delta$ -1 to presynaptic terminals in neuropathic pain is inhibited by the $\alpha_2\delta$ ligand pregabalin. *J Neurosci* 29, 4076-88.
- [7] Bennett GJ, Xie YK, 1988. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 33, 87-107.
- [8] Bernier LP, Ase AR, Séguéla P, 2018. P2X receptor channels in chronic pain pathways. *Br J Pharmacol* 175, 2219-30.
- [9] Beyreuther B, Callizot N, Stöhr T, 2006. Antinociceptive efficacy of lacosamide in a rat model for painful diabetic neuropathy. *Eur J Pharmacol* 539, 64-70.
- [10] Bialer M, White HS, 2010. Key factors in the discovery and development of new antiepileptic drugs. *Nat Rev Drug Discov* 9, 68-82.
- [11] Borden LA, Murali Dhar TG, Smith KE, Weinschenk RL, Branchek TA i wsp., 1994. Tiagabine, SK&F 89976-A, CI-966, and NNC-711 are selective for the cloned GABA transporter GAT-1. *Eur J Pharmacol* 269, 219-24.
- [12] Bouhassira D, Attal N, 2018. Emerging therapies for neuropathic pain: new molecules or new indications for old treatments? *Pain* 159, 576-82.
- [13] Brodie MJ, 2017. Sodium Channel Blockers in the Treatment of Epilepsy. *CNS Drugs* 31, 527-34.
- [14] Brodie MJ, Zuberi SM, Scheffer IE, Fisher RS, 2018. The 2017 ILAE classification of seizure types and the epilepsies: what do people with epilepsy and their caregivers need to know? *Epileptic Disord* 20, 77-87.
- [15] Brophy GM, Bell R, Claassen J, Alldredge B, Bleck TP i wsp., 2012. Guidelines for the evaluation and management of status epilepticus. *Neurocrit Care* 17, 3-23.
- [16] Calvo M, Dawes JM, Bennett DL, 2012. The role of the immune system in the generation of neuropathic pain. *Lancet Neurol* 11, 629-42.
- [17] Colloca L, Ludman T, Bouhassira D, Baron R, Dickenson AH i wsp., 2017. Neuropathic pain. *Nat Rev Dis Primers* 3:17002.
- [18] Coulter DA, 2003. H-channels as a therapeutic target in epilepsy. *Epilepsy Curr* 3, 164-5.
- [19] Coulter DA, Steinhäuser C, 2015. Role of astrocytes in epilepsy. *Cold Spring Harb Perspect Med* 5(3):a022434.
- [20] Crèvecoeur J, Foerch P, Doupagne M, Thielen C, Vandenplas C i wsp., 2013. Expression of SV2 isoforms during rodent brain development. *BMC Neurosci* 14:87.
- [21] Cruccu G, Finnerup NB, Jensen TS, Scholz J, Sindou M i wsp., 2016. Trigeminal neuralgia: New classification and diagnostic grading for practice and research. *Neurology* 87, 220-8.
- [22] Dibué-Adjei M, Kamp MA, Alpdogan S, Tevoufouet EE, Neiss WF i wsp., 2017. Cav2.3 (R-type) calcium channels are critical for mediating anticonvulsive and neuroprotective properties of lamotrigine *in vivo*. *Cell Physiol Biochem* 44, 935-47.
- [23] Dolphin AC, 2016. Voltage-gated calcium channels and their auxiliary subunits: physiology and pathophysiology and pharmacology. *J Physiol* 594, 5369-90.
- [24] Dray A, 2008. Neuropathic pain: emerging treatments. *Br J Anaesth* 101, 48-58.
- [25] Dunin-Wąsowicz D, Mazurkiewicz-Bęldzińska M, Steinborn B, Wheless J, Jóźwiak S, 2015. Treatment of pediatric epilepsy in Poland. *Eur J Paediatr Neurol* 19, 320-6.
- [26] Dworkin RH, O'Connor AB, Audette J, Baron R, Gourlay GK i wsp., 2010. Recommendations for the pharmacological management of neuropathic pain: an overview and literature update. *Mayo Clin Proc* 85(3 Suppl):S3-14.
- [27] Ermolyuk YS, Alder FG, Surges R, Pavlov IY, Timofeeva Y i wsp., 2013. Differential triggering of spontaneous glutamate release by P/Q-, N- and R-type Ca^{2+} channels. *Nat Neurosci* 16, 1754-63.

- [28] Field MJ, Cox PJ, Stott E, Melrose H, Offord J i wsp., 2006. Identification of the alpha2-delta-1 subunit of voltage dependent calcium channels as a novel molecular target for pain mediating the analgesic actions of pregabalin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 17537–42.
- [29] Finnerup NB, Attal N, Haroutounian S, McNicol E, Baron R i wsp., 2015. Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* 14, 162-73.
- [30] Finnerup NB, Haroutounian S, Kamerman P, Baron R, Bennett DL i wsp., 2016. Neuropathic pain: an updated grading system for research and clinical practice. *Pain* 157, 1599-606.
- [31] Fischer M, Carli G, Raboisson P, Reeh P, 2014. The interphase of the formalin test. *Pain* 155, 511-21.
- [32] Flatters SJ, Bennett GJ, 2004. Ethosuximide reverses paclitaxel- and vincristine-induced painful peripheral neuropathy. *Pain* 109, 150-61.
- [33] French JA, White HS, Klitgaard H, Holmes GL, Privitera MD i wsp., 2013. Development of new treatment approaches for epilepsy: unmet needs and opportunities. *Epilepsia* 54 Suppl 4, 3-12.
- [34] Galanopoulou AS, Buckmaster PS, Staley KJ, Moshé SL, Perucca E i wsp., 2012. Identification of new epilepsy treatments: issues in preclinical methodology. *Epilepsia* 53, 571-82.
- [35] Gauchan P, Andoh T, Kato A, Kuraishi Y, 2009. Involvement of increased expression of transient receptor potential melastatin 8 in oxaliplatin-induced cold allodynia in mice. *Neurosci Lett* 458, 93-5.
- [36] Giordano C, Costa AM, Lucchi C, Leo G, Brunel L i wsp., 2016. Progressive seizure aggravation in the repeated 6-hz corneal stimulation model is accompanied by marked increase in hippocampal p-ERK1/2 immunoreactivity in neurons. *Front Cell Neurosci* 10, 281.
- [37] Golyala A, Kwan P, 2017. Drug development for refractory epilepsy: The past 25 years and beyond. *Seizure* 44, 147-56.
- [38] Gryder DS, Rogawski MA, 2003. Selective antagonism of GluR5 kainate-receptor-mediated synaptic currents by topiramate in rat basolateral amygdala neurons. *J Neurosci* 23, 7069-74.
- [39] Gunthorpe MJ, Large CH, Sankar R, 2012. The mechanism of action of retigabine (ezogabine), a first-in-class K⁺ channel opener for the treatment of epilepsy. *Epilepsia* 53, 412-24.
- [40] Hamidi GA, Ramezani MH, Arani MN, Talaei SA, Mesdaghinia A, Banafshe HR, 2012. Ethosuximide reduces allodynia and hyperalgesia and potentiates morphine effects in the chronic constriction injury model of neuropathic pain. *Eur J Pharmacol* 674, 260-4.
- [41] Hearn L, Derry S, Moore RA, 2012. Lacosamide for neuropathic pain and fibromyalgia in adults. *Cochrane Database Syst Rev* (2):CD009318.
- [42] van Hecke O, Austin SK, Khan RA, Smith BH, Torrance N, 2014. Neuropathic pain in the general population: a systematic review of epidemiological studies. *Pain* 155, 654-62.
- [43] Helton TD, Xu W, and Lipscombe D, 2005. Neuronal L-type calcium channels open quickly and are inhibited slowly. *J Neurosci* 25, 10247–51.
- [44] Heuser K, Szokol K, Taubøll E, 2014. The role of glial cells in epilepsy. *Tidsskr Nor Laegeforen* 134, 37-41.
- [45] Jaggi AS, Jain V, Singh N, 2011. Animal models of neuropathic pain. *Fundam Clin Pharmacol* 25, 1-28.
- [46] Jaggi AS, Singh N, 2012. Mechanisms in cancer-chemotherapeutic drugs-induced peripheral neuropathy. *Toxicology* 291, 1-9.
- [47] Jensen TS, Finnerup NB, 2014. Allodynia and hyperalgesia in neuropathic pain: clinical manifestations and mechanisms. *Lancet Neurol* 13, 924-35.
- [48] Jędrzejczak J, 2012. Padaczka stare i nowe wyzwania. *Postępy Nauk Medycznych* 1, 45-50.
- [49] Jędrzejczak J, Bomba-Opoń D, Jakiel G, Kwaśniewska A, Mirowska-Guze D, 2017. Postępowanie z kobietą z padaczką w okresie rozrodczym Rekomendacje Polskiego Towarzystwa Epileptologii i Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego. *Ginekologia i Perinatologia Praktyczna* 3, 108-19.
- [50] Jozwiak S, Becker A, Cepeda C, Engel J Jr, Gnatkovsky V i wsp., 2017. WONOEP appraisal: Development of epilepsy biomarkers-What we can learn from our patients? *Epilepsia* 58, 951-61.
- [51] Kambli L, Bhatt LK, Oza M, Prabhavalkar K, 2017. Novel therapeutic targets for epilepsy intervention. *Seizure* 51, 27-34.
- [52] Kaminski RM, Rogawski MA, Klitgaard H, 2014. The potential of antiseizure drugs and agents that act on novel molecular targets as antiepileptogenic treatments. *Neurotherapeutics* 11, 385-400.
- [53] Kearney J, Plummer N, Smith M, Kapur J, Cummins T i wsp., 2001. A gain-of-function mutation in the sodium channel gene *Scn2a* results in seizures and behavioral abnormalities. *Neuroscience* 102, 307-17.
- [54] Kerckhove N, Pereira B, Soriot-Thomas S, Alchaar H, Deleens R i wsp., 2018. Efficacy and safety of a T-type calcium channel blocker in patients with neuropathic pain: A proof-of-concept, randomized, double-blind and controlled trial. *Eur J Pain* [Epub ahead of print]
- [55] Khan N, Smith MT, 2015. Neurotrophins and Neuropathic Pain: Role in Pathobiology. *Molecules* 20, 10657-88.

- [56] Kiguchi S, Imamura T, Ichikawa K, Kojima M, 2004. Oxcarbazepine antinociception in animals with inflammatory pain or painful diabetic neuropathy. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 31, 57-64.
- [57] Klitgaard H, Matagne A, Nicolas JM, Gillard M, Lamberty Y i wsp., 2016. Brivaracetam: Rationale for discovery and preclinical profile of a selective SV2A ligand for epilepsy treatment. *Epilepsia* 57, 538-48.
- [58] Kobow K, Auvin S, Jensen F, Löscher W, Mody I i wsp., 2012. Finding a better drug for epilepsy: Antiepileptogenesis targets. *Epilepsia* 53, 1868-76.
- [59] Kułak W, Sobaniec W, Wojtal K, Czuczwar SJ, 2004. Calcium modulation in epilepsy. *Pol J Pharmacol* 56, 29-41.
- [60] Kuo CC, Lin BJ, Chang HR, Hsieh CP, 2004. Use-dependent inhibition of the N-methyl-D-aspartate currents by felbamate: a gating modifier with selective binding to the desensitized channels. *Mol Pharmacol* 65, 370-80.
- [61] Kupferberg H, 2001. Animal models used in the screening of antiepileptic drugs. *Epilepsia Suppl* 4, 7-12.
- [62] Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, Brodie MJ, Allen Hauser W i wsp., 2010. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia* 51, 1069-77.
- [63] Laughlin TM, Tram KV, Wilcox GL, Birnbaum AK, 2002. Comparison of antiepileptic drugs tiagabine, lamotrigine, and gabapentin in mouse models of acute, prolonged, and chronic nociception. *J Pharmacol Exp Ther* 302, 1168-75.
- [64] Leite JP, Garcia-Cairasco N, Cavalheiro EA, 2002. New insights from the use of pilocarpine and kainate models. *Epilepsy Res* 50, 93-103.
- [65] Li CY, Zhang XL, Matthews EA, Li KW, Kurwa A i wsp., 2006. Calcium channel $\alpha 2\delta 1$ subunit mediates spinal hyperexcitability in pain modulation. *Pain* 125, 20-34.
- [66] Li WG, Xu TL, 2015. Acid-sensing ion channels: a novel therapeutic target for pain and anxiety. *Curr Pharm Des* 21, 885-94.
- [67] Li Z, Taylor CP, Weber M, Piechan J, Prior F i wsp., 2011. Pregabalin is a potent and selective ligand for $\alpha(2)\delta-1$ and $\alpha(2)\delta-2$ calcium channel subunits. *Eur J Pharmacol* 667, 80-90.
- [68] Lotarski S, Hain H, Peterson J, Galvin S, Strenkowski B i wsp., 2014. Anticonvulsant activity of pregabalin in the maximal electroshock-induced seizure assay in $\alpha\delta$ (R217A) and $\alpha\delta$ (R279A) mouse mutants. *Epilepsy Res* 108, 833-42.
- [69] Löscher W, Gillard M, Sands ZA, Kaminski RM, Klitgaard H, 2016. Synaptic vesicle glycoprotein 2A ligands in the treatment of epilepsy and beyond. *CNS Drugs* 30, 1055-77.
- [70] Löscher W, Schmidt D, 2011. Modern antiepileptic drug development has failed to deliver: ways out of the current dilemma. *Epilepsia* 52, 657-78.
- [71] Lukyanetz EA, Shkryl VM, Kostyuk PG, 2002. Selective blockade of N-type calcium channels by levetiracetam. *Epilepsia* 43, 9-18.
- [72] Łukawski K, Andres-Mach M, Czuczwar M, Łuszczki JJ, Kruszyński K, Czuczwar SJ, 2018. Mechanisms of epileptogenesis and preclinical approach to antiepileptogenic therapies. *Pharmacol Rep* 70, 284-93.
- [73] Malec-Milewska M, Wordliczek J, Zajączkowska R, Woroń J, Dobrogowski J, 2017. Obwodowy ból neuropatyczny – definicja, epidemiologia, patomechanizm, objawy, diagnostyka i zasady leczenia. W: Malec-Milewska M, Woroń J (red.) *Kompendium leczenia bólu*. Medical Education 397-408.
- [74] Malek N, Pajak A, Kolosowska N, Kucharczyk M, Starowicz K, 2015. The importance of TRPV1-sensitisation factors for the development of neuropathic pain. *Mol Cell Neurosci* 65, 1-10.
- [75] Manji H, 2013. Drug-induced neuropathies. *Handb Clin Neurol* 115, 729-42.
- [76] Mantegazza M, Curia G, Biagini G, Ragsdale DS, Avoli M, 2010. Voltage-gated sodium channels as therapeutic targets in epilepsy and other neurological disorders. *Lancet Neurol* 9, 413-24.
- [77] Marinho MM, de Bruin VM, de Sousa FC, Aguiar LM, de Pinho RS, Viana GS, 1997. Inhibitory action of a calcium channel blocker (nimodipine) on seizures and brain damage induced by pilocarpine and lithium-pilocarpine in rats. *Neurosci Lett* 235, 13-6.
- [78] Marson AG, Al-Kharusi AM, Alwaidh M, Appleton R, Baker GA i wsp., 2007a. The SANAD study of effectiveness of carbamazepine, gabapentin, lamotrigine, oxcarbazepine, or topiramate for treatment of partial epilepsy: an unblinded randomised controlled trial. *Lancet* 369, 1000-15.
- [79] Marson AG, Al-Kharusi AM, Alwaidh M, Appleton R, Baker GA i wsp., 2007b. The SANAD study of effectiveness of valproate, lamotrigine, or topiramate for generalised and unclassifiable epilepsy: an unblinded randomised controlled trial. *Lancet* 369, 1016-26.
- [80] Metcalfe CS, West PJ, Thomson KE, Edwards SF, Smith MD i wsp., 2017. Development and pharmacologic characterization of the rat 6 Hz model of partial seizures. *Epilepsia* 58, 1073-84.

- [81] Meyer FB, Anderson RE, Sundt TM Jr, Yaksh TL, Sharbrough FW, 1987. Suppression of pentylentetrazole seizures by oral administration of a dihydropyridine Ca^{2+} antagonist. *Epilepsia* 28, 409-14.
- [82] Meyer FB, Tally PW, Anderson RE, Sundt TM Jr, Yaksh TL i wsp., 1986. Inhibition of electrically induced seizures by a dihydropyridine calcium channel blocker. *Brain Res* 384, 180-3.
- [83] Mika J, Zychowska M, Popiolek-Barczyk K, Rojewska E, Przewlocka B, 2013. Importance of glial activation in neuropathic pain. *Eur J Pharmacol* 716, 106-19.
- [84] Moshé SL, Perucca E, Ryvlin P, Tomson T, 2015. Epilepsy: new advances. *Lancet* 385, 884-98.
- [85] Nevitt SJ, Sudell M, Weston J, Tudur Smith C, Marson AG, 2017. Antiepileptic drug monotherapy for epilepsy: a network meta-analysis of individual participant data. *Cochrane Database Syst Rev* 12:CD011412.
- [86] Ngomba RT, van Luijckelaar G, 2018. Metabotropic glutamate receptors as drug targets for the treatment of absence epilepsy. *Curr Opin Pharmacol* 38, 43-50.
- [87] Obniska J, Chlebek I, Kamiński K, Karolak-Wojciechowska J, 2013. Synthesis and anticonvulsant properties of new N-Mannich bases derived from 3,3-diphenyl- and 3-ethyl-3-methyl-pyrrolidine-2,5-diones. Part III. *Arch Pharm (Weinheim)* 346, 71-82.
- [88] Obniska J, Jurczyk S, Zejc A, Kamiński K, Tatarczyńska E i wsp., 2005. Anticonvulsant properties of N-(4-methylpiperazin-1-yl)- and N-[3-(4-methylpiperazin-1-yl)propyl] derivatives of 3-aryl- and 3-spirocycloalkylpyrrolidine-2,5-dione. *Pharmacol Rep* 57, 170-5.
- [89] Obniska J, Kaminski K, Skrzyszka D, Pichor J, 2009. Synthesis and anticonvulsant activity of new N-[(4-arylpiperazin-1-yl)-alkyl] derivatives of 3-phenyl-pyrrolidine-2,5-dione. *Eur J Med Chem* 44, 2224-33.
- [90] Obniska J, Kopytko M, Zagórska A, Chlebek I, Kamiński K, 2010. Synthesis and anticonvulsant properties of new Mannich bases derived from 3-aryl-pyrrolidine-2,5-diones. Part 1. *Arch Pharm (Weinheim)* 343, 333-41.
- [91] Obniska J, Rzepka S, Kamiński K, 2012. Synthesis and anticonvulsant activity of new N-Mannich bases derived from 3-(2-fluorophenyl)- and 3-(2-bromophenyl)-pyrrolidine-2,5-diones. Part II. *Bioorg Med Chem* 20, 4872-80.
- [92] Obniska J, Zeic A, Zagórska A, 2002. Synthesis and anticonvulsant properties of new 1-phenyl and 1-phenylamino-3-phenylpyrrolidine-2,5-dione derivatives. *Acta Pol Pharm* 59, 209-13.
- [93] Obrosova IG, 2009. Diabetic painful and insensate neuropathy: pathogenesis and potential treatments. *Neurotherapeutics* 6, 638-47.
- [94] Ohsawa M, Otake S, Murakami T, Yamamoto S, Makino T i wsp., 2014. Gabapentin prevents oxaliplatin-induced mechanical hyperalgesia in mice. *J Pharmacol Sci* 125, 292-9.
- [95] Okine BN, Gaspar JC, Finn DP, 2018. PPARs and Pain. *Br J Pharmacol* [Epub ahead of print]
- [96] Patel DC, Wilcox KS, Metcalf CS, 2017. Novel Targets for Developing Antiseizure and, Potentially, Antiepileptogenic Drugs. *Epilepsy Curr* 17, 293-8.
- [97] Patel SI, Pennell PB, 2016. Management of epilepsy during pregnancy: an update. *Ther Adv Neurol Disord* 9, 118-29.
- [98] Perucca E, French J, Bialer M, 2007. Development of new antiepileptic drugs: challenges, incentives, and recent advances. *Lancet Neurol* 6, 793-804.
- [99] Perucca P, Scheffer IE, Kiley M, 2018. The management of epilepsy in children and adults. *Med J Aust* 208, 226-33.
- [100] Postma T, Krupp E, Li XL, Post RM, Weiss SR, 2000. Lamotrigine treatment during amygdala-kindled seizure development fails to inhibit seizures and diminishes subsequent anticonvulsant efficacy. *Epilepsia* 41, 1514-21.
- [101] Rejdak K, Rola R, Mazurkiewicz-Bełdzińska M, Halczuk I, Błaszczuk B i wsp., 2016. Diagnostyka i leczenie padaczki u osób dorosłych — rekomendacje Polskiego Towarzystwa Neurologicznego. *Pol Prz Neurol* 12, 15-27.
- [102] Rogawski MA, Löscher W, 2004. The neurobiology of antiepileptic drugs for the treatment of nonepileptic conditions. *Nat Med* 10, 685-92.
- [103] Rogawski MA, Tofighy A, White HS, Matagne A, Wolff C, 2015. Current understanding of the mechanism of action of the antiepileptic drug lacosamide. *Epilepsy Res* 110, 189-205.
- [104] Rowley NM, Madsen KK, Schousboe A, White SH, 2012. Glutamate and GABA synthesis, release, transport and metabolism as targets for seizure control. *Neurochem Int* 61, 546-58.
- [105] Sadowski K, Kotulska-Jóźwiak K, Jóźwiak S, 2015. Role of mTOR inhibitors in epilepsy treatment. *Pharmacol Rep* 67, 636-46.
- [106] Salinas-Abarca AB, Avila-Rojas SH, Barragán-Iglesias P, Pineda-Farias JB, Granados-Soto V, 2017. Formalin injection produces long-lasting hypersensitivity with characteristics of neuropathic pain. *Eur J Pharmacol* 797, 83-93.

- [107] Sałat K, Cios A, Wyska E, Sałat R, Mogiński S i wsp., 2014. Antiallodynic and antihyperalgesic activity of 3-[4-(3-trifluoromethyl-phenyl)-piperazin-1-yl]-dihydrofuran-2-one compared to pregabalin in chemotherapy-induced neuropathic pain in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 122, 173-81.
- [108] Sałat K, Witalis J, Zadrożna M, Sołtys Z, Nowak B i wsp., 2015. 3-[4-(3-Trifluoromethyl-phenyl)-piperazin-1-yl]-dihydrofuran-2-one and pregabalin attenuate tactile allodynia in the mouse model of chronic constriction injury. *Toxicol Mech Methods* 25, 514-23.
- [109] Sankar R, Auvin S, Kwon YS, Pineda E, Shin D i wsp., 2010. Evaluation of development-specific targets for antiepileptogenic therapy using rapid kindling. *Epilepsia* 51, 39-42.
- [110] Schmidt D, Schachter SC, 2014. Drug treatment of epilepsy in adults. *BMJ* 348:g254.
- [111] Schou WS, Ashina S, Amin FM, Goadsby PJ, Ashina M, 2017. Calcitonin gene-related peptide and pain: a systematic review. *J Headache Pain* 18, 34.
- [112] Simonato M, Brooks-Kayal AR, Engel J Jr, Galanopoulou AS, Jensen FE i wsp., 2014. The challenge and promise of anti-epileptic therapy development in animal models. *Lancet Neurol* 13, 949-60.
- [113] Smith MD, Woodhead JH, Handy LJ, Pruess TH, Vanegas F i wsp., 2017. Preclinical Comparison of Mechanistically Different Antiseizure, Antinociceptive, and/or Antidepressant Drugs in a Battery of Rodent Models of Nociceptive and Neuropathic Pain. *Neurochem Res* 42, 1995-2010.
- [114] Smith MT, Moore BJ, 2012. Pregabalin for the treatment of fibromyalgia. *Expert Opin Pharmacother* 13, 1527-33.
- [115] Suter MR, 2016. Microglial role in the development of chronic pain. *Curr Opin Anaesthesiol* 29, 584-9.
- [116] Szczudlik A, Dobrogowski J, Wordliczek J, Stępień A, Krajnik M i wsp., 2014. Diagnosis and management of neuropathic pain: review of literature and recommendations of the Polish Association for the Study of Pain and the Polish Neurological Society - Part Two. *Neurol Neurochir Pol* 48, 423-35.
- [117] Tesfaye S, Boulton AJ, Dickenson AH, 2013. Mechanisms and management of diabetic painful distal symmetrical polyneuropathy. *Diabetes Care* 36, 2456-65.
- [118] Tibbs GR, Posson DJ, Goldstein PA, 2016. Voltage-Gated Ion Channels in the PNS: Novel Therapies for Neuropathic Pain? *Trends Pharmacol Sci* 37, 522-42.
- [119] Tjølsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K, 1992. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain* 51, 5-17.
- [120] Tsuda M, 2018. Modulation of Pain and Itch by Spinal Glia. *Neurosci Bull* 34, 178-85.
- [121] Tsuda M, 2016. Microglia in the spinal cord and neuropathic pain. *J Diabetes Investig* 7, 17-26.
- [122] Wilcox KS, Dixon-Salazar T, Sills GJ, Ben-Menachem E, White HS i wsp., 2013. Issues related to development of new antiseizure treatments. *Epilepsia* 54, 24-34.
- [123] Wilmshurst JM, Ibekwe RC, O'Callaghan FJK, 2017. Epileptic spasms - 175 years on: Trying to teach an old dog new tricks. *Seizure* 44, 81-6.
- [124] Wirrell EC, 2016. Treatment of Dravet Syndrome. *Can J Neurol Sci* 43, S13-8.
- [125] Wurlpel JN, Iyer SN, 1994. Calcium channel blockers verapamil and nimodipine inhibit kindling in adult and immature rats. *Epilepsia* 35, 443-9.
- [126] Zaccara G, Schmidt D, 2016. Do traditional anti-seizure drugs have a future? A review of potential anti-seizure drugs in clinical development. *Pharmacol Res* 104, 38-48.
- [127] Zamponi GW, Striessnig J, Koschak A, Dolphin AC, 2015. The Physiology, Pathology, and Pharmacology of Voltage-Gated Calcium Channels and Their Future Therapeutic Potential. *Pharmacol Rev* 67, 821-70.
- [128] Zychowska M, Rojewska E, Przewlocka B, Mika J, 2013. Mechanisms and pharmacology of diabetic neuropathy - experimental and clinical studies. *Pharmacol Rep* 65, 1601-10.
- [H1] Rybka S, Obniska J, Rapacz A, Filipek B, Kamiński K, 2014. Synthesis, physicochemical and anticonvulsant properties of new *N*-Mannich bases derived from pyrrolidine-2,5-dione and its 3-methyl analog. *Arch Pharm (Weinh.)* 347, 768-76.
- [H2] Rapacz A, Rybka S, Obniska J, Sałat K, Powroźnik B, Pękala E, Filipek B, 2016. Evaluation of anticonvulsant and antinociceptive properties of new *N*-Mannich bases derived from pyrrolidine-2,5-dione and 3-methyl-pyrrolidine-2,5-dione. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 389, 339-48.
- [H3] Obniska J, Rapacz A, Rybka S, Powroźnik B, Pękala E, Filipek B, Żmudzki P, Kamiński K, 2015. Design, synthesis and biological activity of new amides derived from 3-methyl-3-phenyl-2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yl-acetic acid. *Eur J Med Chem* 102, 14-25.
- [H4] Obniska J, Rapacz A, Rybka S, Góra M, Kamiński K, Sałat K, Żmudzki P, 2016. Synthesis, and anticonvulsant activity of new amides derived from 3-methyl- or 3-ethyl-3-methyl-2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yl-acetic acids. *Bioorg Med Chem* 24, 1598-607.

- [H5] Rapacz A, Obniska J, Wiklik-Poudel B, Rybka S, Sałat K, Filipek B, 2016. Anticonvulsant and antinociceptive activity of new amides derived from 3-phenyl-2,5-dioxopyrrolidine-1-yl-acetic acid in mice. *Eur J Pharmacol* 781, 239-49.
- [H6] Kamiński K, Rapacz A, Łuszczki J, Latacz G, Obniska J, Kieć-Kononowicz K, Filipek B, 2015. Design, synthesis and biological evaluation of new hybrid anticonvulsants derived from *N*-benzyl-2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)propanamide and 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)butanamide derivatives. *Bioorg Med Chem* 23, 2548-61.
- [H7] Rapacz A, Kamiński K, Obniska J, Koczurkiewicz P, Pękała E, Filipek B, 2017. Analgesic, antiallodynic, and anticonvulsant activity of novel hybrid molecules derived from *N*-benzyl-2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)propanamide and 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)butanamide in animal models of pain and epilepsy. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 390, 567-79.
- [H8] Kamiński K, Rapacz A, Filipek B, Obniska J, 2016. Design, synthesis and anticonvulsant activity of new hybrid compounds derived from *N*-phenyl-2-(2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yl) propanamides and butanamides. *Bioorg Med Chem* 24, 2938-46.
- [H9] Rapacz A, Głuch-Lutwin M, Mordyl B, Filipek B, Abram M, Kamiński K, 2018. Evaluation of anticonvulsant and analgesic activity of new hybrid compounds derived from *N*-phenyl-2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)-propanamides and –butanamides. *Epilepsy Res* 143, 11-9.
- [H10] Obniska J, Rapacz A, Rybka S, Góra M, Żmudzki P, Kamiński K, 2017. Synthesis and anticonvulsant properties of new 3,3-diphenyl-2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yl-acetamides and 3,3-diphenyl-propionamides. *Arch Pharm (Weinh.)* 350, e1600368.
- [H11] Rapacz A, Obniska J, Koczurkiewicz P, Wójcik-Pszczoła K, Siwek A, Gryboś A, Rybka S, Karcz A, Pękała E, Filipek B, 2018. Antiallodynic and antihyperalgesic activity of new 3,3-diphenyl-propionamides with anticonvulsant activity in models of pain in mice. *Eur J Pharm* 821, 39-48.
- [A1] Marona H, Szkaradek N, Rapacz A, Filipek B, Dybała M i wsp., 2009. Preliminary evaluation of pharmacological properties of some xanthone derivatives. *Bioorg Med Chem* 17, 1345-52.
- [A2] Marona H, Gunia A, Słoczyńska K, Rapacz A, Filipek B i wsp., 2009. Preliminary evaluation of anticonvulsant activity and neurotoxicity of some 1,4-substituted piperazine derivatives. *Acta Pol Pharm* 66, 571-8.
- [A3] Rapacz A, Pytka K, Dudek M, Librowski T, Sałat K i wsp., 2011. Effect of new xanthone derivatives on the level of endogenous nitric oxide in some tissue homogenates in rats. *Acta Biol Crac, Ser. Zool* 53, 63-7.
- [A4] Librowski T, Pytka K, Sałat K, Rapacz A, 2011. Analgesic, antiedematous and wound healing properties of AX/09 in the treatment of swelling and poorly healing skin defects. *Acta Biol Crac, Ser. Zool* 53, 47-61.
- [B1] Sałat K, Librowski T, Gdula-Argasińska J, Tyszka-Czochara M, Jastrzębska-Więsek M i wsp., 2012. Influence of gamma-butyrolactone derivatives with analgesic properties on the prostaglandin E2 level and gastric mucosa in rodents. *Acta Biol Crac, Ser. Zool* 54, 45-52.
- [B2] Librowski T, Pytka K, Sałat K, Rapacz A, Moniczewski A i wsp., 2012. Antihistaminic activity of lidocaine derivatives in the isolated guinea pig ileum. *Acta Biol Crac, Ser. Zool* 54, 25-8.
- [B3] Szkaradek N, Rapacz A, Pytka K, Filipek B, Siwek A i wsp., 2013. Synthesis and preliminary evaluation of pharmacological properties of some piperazine derivatives of xanthone. *Bioorg Med Chem* 21, 514-22.
- [B4] Rapacz A, Pytka K, Sapa J, Kubacka M, Filipek B i wsp., 2014. Antiarrhythmic, hypotensive and α 1-adrenolytic properties of new 2-methoxyphenylpiperazine derivatives of xanthone. *Eur J Pharmacol* 735, 10-6.
- [B5] Rapacz A, Sapa J, Bednarski M, Filipek B, Szkaradek N, Marona H, 2014. Antiarrhythmic activity of some xanthone derivatives with β ₁-adrenoceptor affinities in rats. *Eur J Pharmacol* 736, 14-21.
- [B6] Kowalczyk P, Sałat K, Höfner GC, Mucha M, Rapacz A, i wsp., 2014. Synthesis, biological evaluation and structure-activity relationship of new GABA uptake inhibitors, derivatives of 4-aminobutanamides. *Eur J Med Chem* 83, 256-73.
- [B7] Rapacz A, Sapa J, Nowiński L, Mogilski S, Pytka K i wsp., 2015. Biofunctional studies of new 2-methoxyphenylpiperazine xanthone derivatives with α ₁-adrenolytic properties. *Pharmacol Rep* 67, 267-74.
- [B8] Rapacz A, Sapa J, Pytka K, Dudek M, Filipek B i wsp., 2015. Antiarrhythmic activity of new 2-methoxyphenylpiperazine xanthone derivatives after ischemia/reperfusion in rats. *Pharmacol Rep* 67, 1163-67.
- [B9] Szkaradek N, Rapacz A, Pytka K, Filipek B, Żelaszczyk D i wsp., 2015. Cardiovascular activity of the chiral xanthone derivatives. *Bioorg Med Chem* 23, 6714-24.
- [B10] Waszkielewicz AM, Pytka K, Rapacz A, Wełna E, Jarzyna M i wsp., 2015. Synthesis and evaluation of antidepressant-like activity of some 4-substituted 1-(2-methoxyphenyl)piperazine derivatives. *Chem Biol Drug Des* 85, 326-35.

- [B11] Pytka K, Rapacz A, Zygmunt M, Olczyk A, Waszkielewicz A i wsp., 2015. Antidepressant-like activity of new xanthone derivatives with piperazine moiety in mice. *Pharmacol Rep* 67, 160-5.
- [B12] Pytka K, Walczak M, Kij A, Rapacz A, Siwek A i wsp., 2015. The antidepressant-like activity of 6-methoxy-2-[4-(2-methoxyphenyl)piperazin-1-yl]-9H-xanthen-9-one involves serotonergic 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A/C} receptors activation. *Eur J Pharmacol* 764, 537-46.
- [B13] Pytka K, Partyka A, Jastrzębska-Więsek M, Siwek A, Głuch-Lutwin M i wsp., 2015. Antidepressant- and anxiolytic-like effects of new dual 5-HT_{1A} and 5-HT₇ antagonists in animal models. *PLoS One* 10, e0142499.
- [B14] Obniska J, Sałat K, Librowski T, Kamiński K, Lipkowska A i wsp., 2015. Antinociceptive properties of *N*-Mannich bases derived from 3-substituted pyrrolidine-2,5-dione in the formalin model of persistent pain in mice. *Pharmacol Rep* 67, 63-8.
- [B15] Kamiński K, Zagaja M, Łuszczki J, Rapacz A, Andres-Mach M i wsp., 2015. Design, synthesis, and anticonvulsant activity of new hybrid compounds derived from 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)propanamides and 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)butanamides. *J Med Chem* 58, 5274-86.
- [B16] Rybka S, Obniska J, Rapacz A, Filipek B, Żmudzki P, 2016. Synthesis and anticonvulsant activity of new *N*-Mannich bases derived from benzhydryl- and isopropyl-pyrrolidine-2,5-dione. *J Enz Inhib Med Chem* 31, 1038-47.
- [B17] Kamiński K, Zagaja M, Rapacz A, Łuszczki JJ, Andres-Mach M i wsp., 2016. New hybrid molecules with anticonvulsant and antinociceptive activity derived from 3-methyl- or 3,3-dimethyl-1-[1-oxo-1-(4-phenylpiperazin-1-yl)propan-2-yl]pyrrolidine-2,5-diones. *Bioorg Med Chem* 24, 606-18.
- [B18] Rybka S, Obniska J, Rapacz A, Furgała A, Filipek B, Żmudzki P, 2016. Synthesis and evaluation of anticonvulsant properties of new *N*-Mannich bases derived from 1,3-substituted pyrrolidine-2,5-dione. *Bioorg Med Chem Lett* 26, 2147-51.
- [B19] Pytka K, Kazek G, Siwek A, Mordyl B, Głuch-Lutwin M, Rapacz A i wsp., 2016. HBK-7 - A new xanthone derivative and a 5-HT_{1A} receptor antagonist with antidepressant-like properties. *Pharmacol Biochem Behav* 146-147, 35-43.
- [B20] Pytka K, Żmudzka E, Lustyk K, Rapacz A, Olczyk A i wsp., 2016. The antidepressant- and anxiolytic-like activities of new xanthone derivative with piperazine moiety in behavioral tests in mice. *Indian J Pharmacol* 48, 286-91.
- [B21] Gunia-Krzyżak A, Żelaszczyk D, Rapacz A, Żesławska E, Waszkielewicz AM i wsp., 2017. Structure-anticonvulsant activity studies in the group of (E)-*N*-cinnamoyl aminoalkanols derivatives monosubstituted in phenyl ring with 4-Cl, 4-CH₃ or 2-CH₃. *Bioorg Med Chem* 25, 471-82.
- [B22] Rybka S, Obniska J, Rapacz A, Filipek B, Żmudzki P, 2017. Synthesis and evaluation of anticonvulsant properties of new *N*-Mannich bases derived from pyrrolidine-2,5-dione and its 3-methyl-, 3-isopropyl, and 3-benzhydryl analogs. *Bioorg Med Chem Lett* 27, 1412-5.
- [B23] Rapacz A, Waszkielewicz A, Pańczyk K, Pytka K, Koczurkiewicz P i wsp., 2017. Design, synthesis and anticonvulsant-analgesic activity of new *N*-[(phenoxy)alkyl]- and *N*-[(phenoxy)ethoxyethyl] aminoalkanols. *MedChemComm* 8, 220-38.
- [B24] Pytka K, Socała K, Rapacz A, Nieoczym D, Pieróg M i wsp., 2017. HBK-14 and HBK-15, triple 5-HT_{1A}, 5-HT₇ and 5-HT₃ antagonists with potent antidepressant- and anxiolytic-like properties, increase seizure threshold in various seizure tests in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 79(Pt B), 378-85.
- [B25] Rybka S, Obniska J, Żmudzki P, Koczurkiewicz P, Wójcik-Pszczółka K i wsp., 2017. Synthesis and Determination of Lipophilicity, Anticonvulsant activity, and preliminary safety of 3-substituted and 3-unsubstituted *N*-[(4-arylpiperazin-1-yl)alkyl]pyrrolidine-2,5-dione derivatives. *ChemMedChem* 12, 1848-56.
- [B26] Pańczyk K, Pytka K, Jakubczyk M, Rapacz A, Sałat K i wsp., 2018. Synthesis and activity of di- or trisubstituted *N*-(phenoxyalkyl)- or *N*-{2-[2-(phenoxy)ethoxy]ethyl}piperazine derivatives on the central nervous system. *Bioorg Med Chem Lett* 28, 2039-49.
- [C1] Rapacz A, Filipek B, 2009. Nadciśnienie tętnicze w ciąży. *Farm Pol* 65, 581-5.
- [C2] Pytka K, Rapacz A, Filipek B, 2011. Miejsce rosuwastatyny w leczeniu zaburzeń lipidowych. *Czas Aptek* 8-9, 36-41.
- [C3] Rapacz A, Pytka K, Filipek B, 2011. Statyny – skuteczność i bezpieczeństwo. *Czas Aptek* 10, 35-44.
- [C4] Pytka K, Rapacz A, Filipek B, 2011. Skuteczność i bezpieczeństwo iwabradyny w leczeniu choroby niedokrwiennej oraz niewydolności serca w świetle badań klinicznych. *Czas Aptek* 12, 47-56.
- [C5] Rapacz A, Pytka K, Filipek B, 2012. Nowe doustne leki przeciwzakrzepowe w terapii migotania przedsionków. *Farmacja Szpitalna w Polsce i na Świecie* 4, 5-11.
- [C6] Rapacz A, Pytka K, Filipek B, 2012. Postępy w farmakoterapii migotania przedsionków. *Czas Aptek* 6-7, 46-54.

- [C7] Pytka K, Rapacz A, Filipek B, 2012. Postępy w leczeniu nadciśnienia płucnego. Czas Aptek 3, 47-55.
- [C8] Pytka K, Rapacz A, Filipek B, 2014. Iwabradyna – nowe miejsce w terapii chorób sercowo-naczyniowych. Czas Aptek 4, 25-34.
- [C9] Rapacz A, Pytka K, Filipek B, 2014. Inhibitory kotransportera glukozy-sodowego 2 w leczeniu cukrzycy typu 2. Czas Aptek 6-7, 22-30.
- [C10] Pytka K, Rapacz A, Filipek B, 2014. Nawilżenie – podstawa pielęgnacji suchej i wrażliwej skóry. Czas Aptek 8-9, 31-43.
- [C11] Pytka K, Podkowa K, Rapacz A, Podkowa A, Żmudzka E i wsp., 2016. The role of serotonergic, adrenergic and dopaminergic receptors in antidepressant-like effect. Pharmacol Rep 68, 263-74.
- [C12] Rapacz A, 2018. Advances and limitations in pharmacotherapy of epilepsy. Acta Pol Pharm (praca przyjęta do druku).

Anna Rapacz