

Załącznik 2



UNIwersYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM

**Aktywność psychotropowa nowych antagonistów
receptorów 5-HT₆ i/lub 5-HT₇ w zwierzęcych modelach
chorób afektywnych**

AUTOREFERAT

Anna Partyka

Zakład Farmacji Klinicznej

Wydział Farmaceutyczny

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

Kraków 2018

Spis treści

1. IMIĘ I NAZWISKO	3
2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE/ARTYSTYCZNE – Z PODANIEM NAZWY, MIEJSCA I ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ.....	3
3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH/ARTYSTYCZNYCH.....	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.):.....	3
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego	3
4.2. Wykaz publikacji będących podstawą rozprawy habilitacyjnej (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy)	3
4.3. Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.....	5
4.3.1. <i>Wprowadzenie</i>	5
4.3.2. <i>Cel badań</i>	6
4.3.3. <i>Wyniki i dyskusja</i>	7
4.3.4. <i>Podsumowanie</i>	19
4.3.5. <i>Piśmiennictwo</i>	21
5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH (ARTYSTYCZNYCH).....	23
5.1. Osiągnięcia naukowo-badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych oraz związane z realizacją pracy doktorskiej	23
5.2. Osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych....	24
5.3. Udział w projektach badawczych	29
5.4. Podsumowanie całego dorobku naukowego	31
5.5. Odbyte szkolenia i kursy.....	31
5.6. Recenzje prac naukowych	32
5.7. Członkostwo w towarzystwach i organizacjach naukowych	32
5.8. Staże naukowe.....	32
5.9. Współpraca naukowa	32
6. NAGRODY I WYRÓŻNIENIA	33
7. DZIAŁALNOŚĆ DYDAKTYCZNA.....	33
8. DZIAŁALNOŚĆ ORGANIZACYJNA	34

1. IMIĘ I NAZWISKO

Anna Partyka

2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE/ARTYSTYCZNE – Z PODANIEM NAZWY, MIEJSCA I ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ.

- 1999 r. dyplom magistra farmacji, Wydział Farmaceutyczny Collegium Medicum UJ
- 2001 r. prawo wykonywania zawodu aptekarza wydane przez Okręgową Izbę Aptekarską w Krakowie
- 2007 r. dyplom doktora nauk farmaceutycznych, Wydział Farmaceutyczny Collegium Medicum UJ, tytuł pracy doktorskiej „Badanie neuropsychotropowych właściwości wybranych nowych analogów kwasu γ -aminomasłowego (GABA)”, promotor: prof. dr hab. Gabriel Nowak

3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH/ ARTYSTYCZNYCH.

- 2010 r. do nadal – adiunkt w Zakładzie Farmacji Klinicznej Wydziału Farmaceutycznego UJ CM
- 2008–2010 r. – adiunkt w Katedrze i Zakładzie Farmakodynamiki Wydziału Farmaceutycznego UJ CM
- 1999–2008 r. – asystent w Katedrze i Zakładzie Farmakodynamiki Wydziału Farmaceutycznego UJ CM

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/artystycznego

Aktywność psychotropowa nowych antagonistów receptorów 5-HT₆ i/lub 5-HT₇ w zwierzęcych modelach chorób afektywnych

4.2. Wykaz publikacji będących podstawą rozprawy habilitacyjnej (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy)

P1. Grychowska K, Satała G, Kos T, **Partyka A**, Colacino E, Chaumont-Dubel S, Bantreil X, Wesołowska A, Pawłowski M, Martinez J, Marin P, Subra G, Bojarski AJ, Lamaty F, Popik P, Zajdel P.: Novel 1*H*-Pyrrolo[3,2-*c*]quinoline Based 5-HT₆ Receptor Antagonists with Potential Application for the Treatment of Cognitive Disorders Associated with Alzheimer's Disease. *ACS Chem Neurosci*; **2016**, 7(7), 972-983.

(ACS Publications, IF₂₀₁₆ = 3.883, MNiSW₂₀₁₆ = 40 pkt)

- P2.** Zajdel P, Marciniak K, Satała G, Canale V, Kos T, **Partyka A**, Jastrzębska-Więsek M, Wesołowska A, Basińska-Ziobron A, Wójcikowski J, Daniel WA, Bojarski AJ, Popik P.: N1-Azinylsulfonyl-1H-indoles: 5-HT₆ Receptor Antagonists with Procognitive and Antidepressant-Like Properties. *ACS Med Chem Lett*; **2016**, 7(6), 618-622.
(ACS Publications, IF₂₀₁₆ = 3.746, MNiSW₂₀₁₆ = 35 pkt)
- P3.** Zajdel P, Canale V, **Partyka A**, Marciniak K, Kurczab R, Satała G, Siwek A, Jastrzębska-Więsek M, Wesołowska A, Kos T, Popik P, Bojarski AJ. Arylsulfonamide derivatives of (aryloxy)ethylpiperidines as selective 5-HT₇ receptor antagonists and their psychotropic properties. *Med Chem Comm*; **2015**, 6(7), 1272-1277.
(Royal Society of Chemistry, IF₂₀₁₅ = 2.319; MNiSW₂₀₁₅ = 25 pkt)
- P4.** Canale V, Kurczab R, **Partyka A**, Satała G, Lenda T, Jastrzębska-Więsek M, Wesołowska A, Bojarski AJ, Zajdel P.: Towards new 5-HT₇ antagonists among arylsulfonamide derivatives of (aryloxy)ethyl-alkyl amines: Multiobjective based design, synthesis, and antidepressant and anxiolytic properties. *Eur J Med Chem*; **2016**, 108, 334-346.
(Elsevier, IF₂₀₁₆ = 4.519; MNiSW₂₀₁₆ = 40 pkt)
- P5.** Canale V, Kurczab R, **Partyka A**, Satała G, Słoczyńska K, Kos T, Jastrzębska-Więsek M, Siwek A, Pękała E, Bojarski AJ, Wesołowska A, Popik P, Zajdel P.: N-Alkylated arylsulfonamides of (aryloxy)ethyl piperidines: 5-HT₇ receptor selectivity versus multireceptor profile. *Bioorg Med Chem*; **2016**, 24(2), 130-139.
(Elsevier, IF₂₀₁₆ = 2.930; MNiSW₂₀₁₆ = 25 pkt)
- P6.** Canale V, **Partyka A**, Kurczab R, Krawczyk M, Kos T, Satała G, Kubica B, Jastrzębska-Więsek M, Wesołowska A, Bojarski AJ, Popik P, Zajdel P.: Novel 5-HT₇R antagonists, arylsulfonamide derivatives of (aryloxy)propyl piperidines: Add-on effect to the antidepressant activity of SSRI and DRI, and pro-cognitive profile. *Bioorg Med Chem*; **2017**, 25(10), 2789-2799.
(Elsevier, IF₂₀₁₇ = 2.881; MNiSW₂₀₁₇ = 25 pkt)
- P7.** **Partyka A**, Jastrzębska-Więsek M, Antkiewicz-Michaluk L, Michaluk J, Wąsik A, Canale V, Zajdel P, Kołaczowski M, Wesołowska A.: Novel antagonists of 5-HT₆ and/or 5-HT₇ receptors affect the brain monoamines metabolism and enhance the anti-immobility activity of different antidepressants in rats. *Behav Brain Res*; **2018**, w druku <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.10.004>
(Elsevier, IF₂₀₁₈ = 3.173; MNiSW₂₀₁₇ = 30 pkt)
- P8.** **Partyka A**, Jastrzębska-Więsek M, Canale V, Zajdel P, Wesołowska A.: Anxiolytic-like activity of PZ-1433, a novel arylsulfonamide derivative of aryloxy(propyl)piperidine, in rodents. *Med Int Rev*; **2018**, 28(1), 35-46.
(Universala Medicina Esperanto Asocio, MNiSW₂₀₁₈ = 8 pkt)

- P9. Partyka A, Wasik A, Jastrzębska-Więsek M, Mierzejewski P, Bieńkowski P, Kołaczkowski M, Wesołowska A.: ADN-1184, a monoaminergic ligand with 5-HT_{6/7} receptor antagonist action, exhibits activity in animal models of anxiety. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*; 2016, 389(6), 593-602. (Springer, IF₂₀₁₆ = 2.558, MNiSW₂₀₁₆ = 25 pkt).**

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl publikacji składający się z **9 prac oryginalnych** o łącznej punktacji **IF = 26.009 i MNiSW = 253 pkt**. Prace **P1-P6** mają charakter chemiczno-farmakologiczny i w tych pracach jestem pierwszym autorem-farmakologiem, którego udział w powstaniu publikacji polegał na współtworzeniu koncepcji przeprowadzonych badań chemiczno-farmakologicznych w porozumieniu i współpracy z chemikami, zaplanowaniu doświadczeń i wykonaniu badań aktywności przeciwdepresyjnej i/lub przeciwłękowej zsyntetyzowanych związków. Ponadto mój udział polegał na interpretacji wyników powyższych badań, ich opisanie i przeprowadzeniu dyskusji w pracach **P1-P6**, przygotowaniu tabel i rycin, a także opracowaniu odpowiedzi na recenzje w części dotyczącej tych badań farmakologicznych. W pracach **P7-P9**, które mają charakter farmakologiczny, jestem pierwszym autorem, a w pracach **P7 i P8** dodatkowo autorem korespondującym, odpowiedzialnym za opracowanie koncepcji badań, ich zaplanowanie i realizację, opis i interpretację wyników, ich przedyskutowanie oraz przygotowanie manuskryptów i odpowiedzi na recenzje.

4.3. Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

4.3.1. Wprowadzenie

Depresja jest schorzeniem psychicznym zaliczanym do niejednorodnej grupy zaburzeń afektywnych, objawiającym się przede wszystkim obniżeniem nastroju, zmniejszeniem napędu psychoruchowego i zaburzeniem mechanizmów snu [1]. Według Światowej Organizacji Zdrowia obecnie na depresję choruje ponad 300 mln ludzi na całym świecie i jest to jedna z głównych przyczyn niepełnosprawności oraz niezdolności do pracy [2].

W ciągu ponad 60 lat od zastosowania imipraminy, pierwszego trójpierścieniowego leku przeciwdepresyjnego (TLPD), który zrewolucjonizował terapię depresji, w Europie i USA zarejestrowano ponad 50 leków przeciwdepresyjnych (LPD), z czego obecnie na świecie stosowanych jest ponad 30 [3]. W Polsce zarejestrowane są 23 substancje lecznicze posiadające wskazania do stosowania w różnego rodzaju zaburzeniach depresyjnych [4]. Dostępne LPD wykazują skuteczność u większości pacjentów, jednak równocześnie nie są pozbawione, niejednokrotnie uciążliwych dla chorego, wad, wśród których należy wymienić: długi czas (2-4 tygodni, niektóre źródła podają nawet do 14 tygodni [5]) do uzyskania klinicznej poprawy, poważne kardiologiczne i metaboliczne działania niepożądane, wysoka toksyczność TLPD i ryzyko rozwoju zagrażającego życiu syndromu serotoninowego związanego ze stosowaniem selektywnych inhibitorów wychwyty zwrotnego serotoniny (SSRI). Kolejnym poważnym problemem terapii przeciwdepresyjnej jest brak lub niewystarczająca odpowiedź u około 30% chorych [5-7]. Terapię zaburzeń depresyjnych dodatkowo komplikuje współwystępowanie objawów lękowych, które jest związane z osłabieniem odpowiedzi na leczenie przeciwdepresyjne [8,9] oraz zwiększonym ryzykiem

samobójstw [10]. Literatura podaje, że dotyczy to 45-75% chorych z depresją [11]. Biorąc pod uwagę przytoczone fakty, zapotrzebowanie na nowe, skuteczniejsze i bezpieczniejsze leki przeciwdepresyjne nadal jest duże, tym bardziej, że wydaje się, iż od 2000 roku postęp w tej dziedzinie mocno zwolnił [12].

Ligandy receptorów serotoninergetycznych 5-HT₆ (5-HT6R) a także 5-HT₇ (5-HT7R) wydają się obiecującymi kandydatami na potencjalne LPD. Po pierwsze receptory te zlokalizowane są w korykolimbicznym obszarze mózgu odpowiadającym za kontrolę nastroju i emocji (prążkowiu, korze, opuszkach węchowych, jądrze półleżącym (tu przede wszystkim 5-HT6R), hipokampie, podwzgórze i ciele migdałowatym [13,14]). Po drugie, wyniki licznych badań przedklinicznych potwierdzają przeciwdepresyjne działanie ligandów 5-HT6R (zarówno agonistów, jak i antagonistów) [15] oraz antagonistów 5-HT7R [16]. I po trzecie, dla tych substancji wykazano inne korzystne działania, które mogą być dodatkową zaletą w terapii różnego rodzaju zaburzeń ośrodkowych wymagających leczenia przeciwdepresyjnego. Selektywni antagoniści 5-HT6R [17,18] i 5-HT7R [19,20] działali przeciwlękowo w zwierzęcych modelach lęku. Prokognitywne właściwości zarówno agonistów, jak i antagonistów 5-HT6R [21] oraz agonistów i antagonistów 5-HT7R [22], podobnie jak udział 5-HT7R w regulacji rytmu snu [16], mogą być korzystne przy towarzyszących depresji zaburzeniach snu oraz funkcji pamięciowych. Dodatkowo ligandy 5-HT6R hamują wzrost masy ciała, co przy niekorzystnych działaniach metabolicznych niektórych LPD [23], jest kolejnym atutem tych związków.

Opisane, w przedłożonym osiągnięciu habilitacyjnym, badania skupiają się na określeniu ośrodkowych właściwości wybranych związków w grupach zsyntetyzowanych *de novo* antagonistów 5-HT6R i/lub 5-HT7R, które w przyszłości mogłyby okazać się punktem wyjścia do znalezienia nowych kandydatów na leki o lepszej skuteczności i bezpieczeństwie oraz poszerzonym spektrum aktywności przeciwdepresyjnej.

4.3.2. Cel badań

Celem szczegółowym badań farmakologicznych, będących podstawą osiągnięcia habilitacyjnego, była ocena właściwości przeciwdepresyjnych i przeciwlękowych nowo zsyntetyzowanych związków, będących antagonistami 5-HT6R i/lub 5-HT7R, w zwierzęcych testach zaburzeń afektywnych. Ponadto podjęto próbę określenia podobieństw i różnic w mechanizmach działania przeciwdepresyjnego oraz potencjalnym wykorzystaniu związków o zróżnicowanym powinowactwie do 5-HT6R i/lub 5-HT7R w potęgowaniu działania LPD, należących do różnych grup terapeutycznych.

Badania przeprowadzono w dwóch etapach:

- w pierwszym wykonano wstępne badania skryningowe aktywności przeciwdepresyjnej i przeciwlękowej nowo zsyntetyzowanych antagonistów 5-HT6R (**P1-P2**) oraz 5-HT7R (**P3-P6**). Na podstawie uzyskanych wyników, do dalszych badań wybrano dwa związki o najwyższej aktywności przeciwdepresyjnej: PZ-668 (preferencyjny antagonist 5-HT6R) i PZ-1433 (preferencyjny antagonist 5-HT7R). Trzeci związek, ADN-1184, został dobrany z uwagi na jego wysokie powinowactwo i działanie antagonistyczne wobec obu podtypów receptorów serotoninowych (5-HT6R i 5-HT7R), a także ustalone wcześniej właściwości przeciwdepresyjne [24],

- w drugim etapie określono wpływ wyselekcjonowanych związków na aktywność przeciwdepresyjną LPD o różnych mechanizmach działania oraz na poziom i metabolizm neuroprzekazników: serotoniny (5-HT), noradrenaliny (NA) i dopaminy (DA) w korze czołowej szczurów (**P6** i **P7**). Dodatkowo przeprowadzono poszerzone badania właściwości anksjolitycznych wybranych antagonistów 5-HT_{6R} i/lub 5-HT_{7R} (**P8** i **P9**).

4.3.3. Wyniki i dyskusja

Związki do przesiewowych badań farmakologicznych *in vivo* zostały wyselekcjonowane na podstawie wyników powinowactwa receptorowego i aktywności wewnętrznej. Antagonistów 5-HT_{6R} wybrano spośród 19 pochodnych pyrolochinoliny (**P1**) i 21 pochodnych azinylosulfonyloindolu (**P2**), natomiast substancje o działaniu antagonistycznym wobec 5-HT_{7R} z grupy 81 arylosulfonamidowych pochodnych piperidyny (**P3–P6**).

ADN-1184 jest jednym z wiodących związków opracowanych w ramach projektu pt. „Opracowanie innowacyjnego leku stosowanego w terapii schorzeń Ośrodkowego Układu Nerwowego (OUN) schizofrenii, depresji i lęku, badania przedkliniczne”, który był realizowany przez konsorcjum naukowe (Wydział Farmaceutyczny UJ CM, Instytut Psychiatrii i Neurologii, Politechnika Krakowska) przy współpracy z firmą farmaceutyczną ADAMED, dofinansowany przez NCBiR w ramach programu Inicjatywa Technologiczna I (Załącznik 6; II.I.13 i III.E). ADN-1184 został wybrany z grupy pochodnych arylosulfonamidowych i charakteryzuje się wysokim i preferencyjnym powinowactwem do 5-HT_{6R} i 5-HT_{7R}, ale także istotnym powinowactwem do 5-HT_{2AR} i D_{2R}. Dodatkową zaletą tego związku jest brak powinowactwa do receptorów muskarynowych i kanałów potasowych hERG. W badaniach behawioralnych ADN-1184 wykazał aktywność przeciwpsychotyczną i przeciwdepresyjną oraz brak negatywnego wpływu na funkcje pamięciowe u szczurów [24].

4.3.3.1. Skryningowe badania ośrodkowej aktywności antagonistów 5-HT_{6R} w wybranych testach behawioralnych u szczurów

Poszukiwania aktywnych przeciwdepresyjnie i/lub przeciwłękowo struktur prowadzono w dwóch grupach chemicznych: pochodnych pyrolochinoliny (**P1**) oraz pochodnych azinylosulfonyloindolu (**P2**). Badania aktywności przeciwdepresyjnej i przeciwłękowej wybranych związków przeprowadzono na szczurach. Wybór gatunku zwierząt był podyktowany licznymi doniesieniami literaturowymi, które wskazują, że szczur jest dobrym gatunkiem zastępczym w badaniach roli 5-HT_{6R}, ze względu na dużą gęstość tych receptorów w jego ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) [25,26]. Działanie przeciwdepresyjne wyselekcjonowanych związków oceniono przy pomocy zmodyfikowanego testu wymuszonego pływania (*ang. forced swim test*, FST), a przeciwłękowe – testu konfliktu wg Vogla. Jako związku odniesienia użyto SB-742457, selektywnego antagonisty 5-HT_{6R}.

Z grupy 19 analogów pyrolochinoliny do wstępnych badań behawioralnych wybrano dwie substancje będące enancjomerami S i R: S-42 (nr 14 w publikacji **P1**), i S-41, (nr 15 w publikacji **P1**). W badaniach radioreceptorowych związki te wykazały najwyższe powinowactwo do 5-HT_{6R} (S-42 – $K_i = 3$ nM i S-41 – $K_i = 7$ nM) oraz bardzo niskie do 5-HT_{1AR} (odpowiednio: $K_i = 2351$ nM i $K_i = 2675$ nM), 5-HT_{2AR} (odpowiednio: $K_i = 1281$

nM i $K_i = 4192$ nM), 5-HT₇R (odpowiednio: $K_i = 4989$ nM i $K_i = 3943$ nM) i D₂R (odpowiednio: $K_i = 1012$ nM i $K_i = 754$ nM) i zostały sklasyfikowane jako antagoniści 5-HT₆R. Ponadto S-42 i S-41 w stężeniu 1 μ M nie wiązały się do adrenergicznych α 1AR, histaminowych H₁R, muskarynowych M₁R, serotonergicznych 5-HT₂BR i 5-HT₂CR oraz transportera 5-HT (SERT) (**P1**).

W FST zarówno związek S-42 (10 mg/kg), jak i S-41 (3 mg/kg), wykazały działanie przeciwdepresyjne skracając czas bezruchu o 30% i wydłużając czas wspinania odpowiednio o 80% i 70%. Związki te nie wpływały na czas pływania. Dla porównania, wzorcowy antagonist 5-HT₆R, SB-742457, podany w dawce 3 mg/kg, w podobnym stopniu (o 28%) skracał czas immobilizacji, natomiast w nieco mniejszym (o 57%) wydłużał czas wspinania (Ryc. 8 w **P1**). Obserwowane w teście działanie przeciwdepresyjne było specyficzne, ponieważ po podaniu związków w dawkach aktywnych przeciwdepresyjnie nie obserwowano nasilenia aktywności ruchowej szczurów, mierzonej w teście otwartego pola (OF).

Zmodyfikowany FST pozwala na wstępne rozróżnienie mechanizmów działania substancji aktywnych w tym teście. Nasilenie przekąźnictwa noradrenergicznego i/lub dopaminergicznego prowadzi do wydłużenia czasu wspinania, natomiast serotonergicznego – czasu pływania [27,28]. Stąd też można wnioskować, że w przeciwdepresyjnym działaniu związków S-42 i S-41 uczestniczy raczej układ noradrenergiczny i/lub dopaminergiczny, ale nie serotonergiczny. Uzyskane wyniki dobrze korespondują z danymi opublikowanymi przez zespół Lacroix, który pokazał, że dożołądkowe podanie selektywnego antagonisty 5-HT₆R (SB-271046) prowadzi do zwiększenia zewnątrzkomórkowych stężeń NA i DA, ale nie 5-HT, w przyśrodkowej korze przedczołowej u mikroodializowanych szczurów [29].

Pochodne pirolochinoliny były aktywne również w teście konfliktu wg Vogla. Związek S-42, podany w dawkach 3 i 10 mg/kg, zwiększał liczbę karanych prób picia wody odpowiednio o 140% i 630%, natomiast związek S-41 działał tylko w najwyższej badanej dawce 10 mg/kg, znamienne zwiększając niemal siedmiokrotnie liczbę zaakceptowanych przez zwierzęta szoków w porównaniu z grupą kontrolną. SB-742457 wykazał działanie przeciwkonfliktowe tylko w dawce 3 mg/kg, a efekt był około dwukrotnie niższy (78%) niż obserwowany po podaniu związku S-42 w tej samej dawce (Rycina 7 w **P1**).

Z grupy 21 pochodnych azinylosulfonyloindolu, do badań behawioralnych wyselekcjonowano dwa związki: PZ-568 (nr 23 w publikacji **P2**) i PZ-668 (nr 25 w publikacji **P2**) charakteryzujące się najwyższym powinowactwem do 5-HT₆R (odpowiednio: $K_i = 2$ nM i $K_i = 3$ nM). Podobnie jak pochodne pirolochinolinowe, związki te miały bardzo niskie powinowactwo do 5-HT₁AR (odpowiednio: $K_i = 5036$ nM i $K_i = 5009$ nM), 5-HT₂AR (odpowiednio: $K_i = 1003$ nM i $K_i = 3355$ nM), 5-HT₇R (odpowiednio: $K_i = 6248$ nM i $K_i = 7832$ nM) i D₂R (odpowiednio: $K_i = 240$ nM i $K_i = 3319$ nM) i działały antagonistycznie wobec 5-HT₆R. Brak lub bardzo niskie powinowactwo PZ-568 i PZ-668 do α 1R, α 2CR, H₁R, M₁R, M₅R, 5-HT₂BR, 5-HT₂CR, SERT i kanałów potasowych hERG może sugerować ich niski potencjał wywoływania metabolicznych, kardiologicznych i ośrodkowych działań niepożądanych (**P2**).

W zmodyfikowanym FST, zarówno badane pochodne PZ-568 i PZ-668, jak i wzorcowy antagonist 5-HT₆R, wykazały właściwości przeciwdepresyjne skracając czas bezruchu i wydłużając czas wspinania szczurów. Przy czym związek PZ-568 podany w dawce

0.3 mg/kg skracał bezruch o 39% i wydłużał czas wspinania o 100%, a związek PZ-668 był aktywny w dwóch niższych dawkach 0.1 i 0.3 mg/kg i odpowiednio zmieniał mierzone parametry o 28% i 59% oraz 79% i 114% w porównaniu z grupą kontrolną. Dla porównania, SB-742457 wykazał działanie przeciwdepresyjne w 10-30-krotnie wyższej dawce (3 mg/kg) skracał czas immobilizacji o 28% i wydłużając czas wspinania o 56% (Rycina 3 w pracy **P2**). Związki podane w dawkach aktywnych przeciwdepresyjnie nie zmieniały spontanicznej ruchliwości zwierząt mierzonej w OF co dowodzi, że obserwowany efekt przeciwdepresyjny nie jest wynikiem pobudzającego działania badanych związków. Wyniki uzyskane w zmodyfikowanym FST (skrócenie czasu bezruchu i wydłużenie czasu wspinania, bez wpływu na czas pływania), analogicznie jak w przypadku pirolochinolinowych pochodnych S-42 i S-41 (**P1**), sugerują, że w przeciwdepresyjny mechanizm analogów azinylosulfonyloindolu PZ-568 i PZ-668 zaangażowane są układy noradrenergiczny i/lub dopaminergiczny, ale nie serotonergiczny.

W przeciwieństwie do analogów pirolochinolinowych oraz referencyjnego antagonisty 5-HT_{6R}, SB-742457 (3 mg/kg), związki PZ-568 i PZ-668 nie działały anksjolitycznie w teście konfliktu wg Vogla, pozostając bez wpływu na mierzoną w teście liczbę karanych prób picia wody (Tabela 3 w materiałach uzupełniających do pracy **P2**).

Podsumowując skryningowe badania przeciwdepresyjnych i przeciwłękowych właściwości nowych antagonistów 5-HT_{6R} można wysunąć następujące wnioski:

- wszystkie badane związki wykazały aktywność przeciwdepresyjną w zmodyfikowanym FST u szczurów (**P1**, **P2**), przy czym silniej i w dziesięciokrotnie niższych dawkach działały pochodne azinylosulfonyloindolu – związki PZ-568 i PZ-668 (**P2**),
- skrócenie czasu bezruchu i wydłużenie czasu wspinania, bez wpływu na czas pływania sugeruje, że w przeciwdepresyjnym działaniu wszystkich badanych antagonistów 5-HT_{6R} uczestniczy raczej układ noradrenergiczny i/lub dopaminergiczny niż serotonergiczny, co pozostaje w zgodzie z dotychczasowymi doniesieniami literaturowymi dotyczącymi związków działających antagonistycznie w stosunku do 5-HT_{6R} [29],
- w teście konfliktu wg Vogla aktywne były tylko pochodne pirolochinoliny, enancjomery S-42 i S-41 (**P1**).

Z uwagi na wysoką aktywność przeciwdepresyjną ujawniającą się w niskich dawkach (0.1 i 0.3 mg/kg) do dalszych, poszerzonych badań wybrano związek PZ-668.

4.3.3.2. Skryningowe badania ośrodkowej aktywności antagonistów 5-HT_{7R} w wybranych testach behawioralnych u myszy

Farmakologiczne badania *in vivo* ośrodkowych właściwości nowych związków o aktywności antagonistycznej wobec 5-HT_{7R} stanowiły część projektu zatytułowanego „Biomimetyki LCAP – pochodne amin alicyklicznych jako nowa klasa ligandów dla receptorów monoaminergicznych” (Załącznik 6; II.1.8), finansowanego przez NCN, w którym byłam wykonawcą badań behawioralnych. Jednym z efektów tego przedsięwzięcia był cykl publikacji o charakterze chemiczno-farmakologicznym wchodzący w skład przedstawianego osiągnięcia habilitacyjnego (**P3-P6**). Autorzy syntezy, wprowadzając różnorodne modyfikacje

chemiczne do podstawowego szkieletu aryloksyetylopiperydynowego, otrzymali kilka serii nowych arylosulfonamidowych pochodnych o zróżnicowanym powinowactwie i selektywności wobec 5-HT7R. Następnie, z każdej grupy związków, do badań farmakologicznych na zwierzętach zostały wybrane najbardziej interesujące cząsteczki. Związki te były badane w wybranych zwierzęcych testach oceniających aktywność przeciwdepresyjną (FST, test zawieszenia za ogon (ang. *tail suspension test*, TST)) lub przeciwłękową (test czterech płytek (ang. *four-plate test*, FPT)). Eksperymenty przeprowadzono z użyciem myszy (Swiss albino – FST i C57BL/6J – TST) i/lub szczurów (Wistar). Jako związku odniesienia użyto selektywnego antagonisty 5-HT7R – SB-269970.

Pierwszą serię stanowiły alkilo- i arylosulfonamidowe pochodne 2-izopropylfenoksy- i 2-fenylfenoksyetylopiperydyny, dla których strukturą wiodącą był opisany wcześniej związek PZ-766 (nr 7 w publikacji **P3**) [30,31]. Poza PZ-766 ($K_i = 0.3$ nM do 5-HT7R, selektywność 5-HT1AR/5-HT7R = 1453) do badań *in vivo* wyselekcjonowano sześć związków charakteryzujących się najwyższym powinowactwem do 5-HT7R oraz wysoką selektywnością w stosunku do 5-HT1AR, wykazujących wysoki stopień homologii z 5-HT7R: PZ-1404 (nr 10 w publikacji **P3**, $K_i = 9$ nM do 5-HT7R, selektywność 5-HT1AR/5-HT7R = 40), PZ-1136 (nr 13 w publikacji **P3**, $K_i = 8$ nM do 5-HT7R, selektywność 5-HT1AR/5-HT7R = 26), PZ-1347 (nr 15 w publikacji **P3**, $K_i = 19$ nM do 5-HT7R, selektywność 5-HT1AR/5-HT7R = 32), PZ-1140 (nr 17 w publikacji **P3**, $K_i = 7$ nM do 5-HT7R, selektywność 5-HT1AR/5-HT7R = 33), PZ-1130 (nr 22 w publikacji **P3**, $K_i = 6$ nM do 5-HT7R, selektywność 5-HT1AR/5-HT7R = 33) i PZ-765 (nr 23 w publikacji **P3**, $K_i = 7$ nM do 5-HT7R, selektywność 5-HT1AR/5-HT7R = 45). Ponadto związki te wykazały umiarkowane lub niskie powinowactwo do 5-HT6R, D2R i $\alpha 1R$, i na tym etapie badań zostały sklasyfikowane jako antagoniści 5-HT7R (**P3**).

W FST u myszy związki PZ-766 (5 mg/kg), PZ-1404 (2.5 mg/kg), PZ-1347 (20 mg/kg), PZ-1140 (1.25 i 2.5 mg/kg), PZ-1130 (5 i 10 mg/kg) i PZ-765 (20 mg/kg) wykazały aktywność przeciwdepresyjną istotnie skracając czas bezruchu zwierząt odpowiednio o 22% (PZ-766), 29% (PZ-1404), 17% (PZ-1347), 23% i 19% (PZ-1140), 26% i 20% (PZ-1130) oraz 33% (PZ-765). Związek PZ-1136 nie był aktywny w teście. Siła przeciwdepresyjnego efektu związków PZ-1404 i PZ-765 była podobna do obserwowanej po podaniu SB-269970 w dawce 10 mg/kg (Rycina 3 w publikacji **P3**).

W przebiegu depresji często występują objawy lękowe, które niejednokrotnie pogarszają przebieg choroby podstawowej, a także mogą odpowiadać za niepowodzenie leczenia farmakologicznego [32]. Z tego powodu, w dalszym etapie badań, związek PZ-766, który był strukturą wyjściową dla badanej serii pochodnych, oraz związek PZ-1404, który w FST wykazał najsilniejsze działanie przeciwdepresyjne, zostały zbadane w FPT w celu określenia ich właściwości przeciwłękowych. Wyniki przeprowadzonych eksperymentów ujawniły anksjolityczną aktywność PZ-1404 (1.25 mg/kg), który, w podobnym stopniu jak SB-269970 (1 mg/kg), zwiększał liczbę przejść karanych prądem (Rycina 4 w publikacji **P3**). Badane struktury, w aktywnych dawkach, nie zwiększały spontanicznej aktywności ruchowej myszy, w związku z tym ich efekty, przeciwdepresyjny i przeciwłękowy, były specyficzne i nie wynikały z działania pobudzającego.

Podsumowując, spośród badanych pochodnych najwyższą ośrodkową aktywność wykazał związek PZ-1404. Związek ten, pomimo wielokrotnie niższej selektywności

5HT1AR/5HT7R, działał znacząco silniej przeciwdepresyjnie i przeciwłękowo niż wyjściowa substancja PZ-766.

PZ-766 i PZ-1404 posłużyły jako struktury wiodące do otrzymania kolejnej grupy antagonistów 5HT7R. Tym razem wprowadzone przez autorów syntezy modyfikacje strukturalne objęły zarówno centralną aminę alicykliczną, jak i ugrupowania aryloksy oraz aminosulfonamidowe. Otrzymano bibliotekę 39 aryloksyetyloalkiloaminowych pochodnych, z których do badań farmakologicznych *in vivo* wybrano cztery cząsteczki charakteryzujące się najwyższą selektywnością i powinowactwem do 5HT7R: PZ-1417, (nr 27 w publikacji **P4**, $K_i = 19$ nM do 5HT7R, selektywność 5HT1AR/5HT7R = 31), PZ-1410 (nr 34 w publikacji **P4**, $K_i = 2$ nM do 5HT7R, selektywność 5HT1AR/5HT7R = 71), PZ-1150 (nr 35 w publikacji **P4**, $K_i = 1$ nM do 5HT7R, selektywność 5HT1AR/5HT7R = 98) i (PZ-1143 (nr 39 w publikacji **P4**, $K_i = 14$ nM do 5HT7R, selektywność 5HT1AR/5HT7R = 18). Wyselekcjonowane związki w niskim lub umiarkowanym stopniu wiązały się z receptorami 5-HT2AR, 5-HT6R, D2R i α 1R (**P4**).

Działanie przeciwdepresyjne nowych antagonistów 5-HT7R PZ-1417, PZ-1410, PZ-1150 i PZ-1143 zbadano w FST u myszy. Wszystkie testowane pochodne w sposób istotny statystycznie redukowały bezruch zwierząt. Związek PZ-1417 był aktywny w szerokim zakresie dawek 0.625-5 mg/kg, skracając czas immobilizacji o 30-38%, pozostałe badane substancje wykazały działanie przeciwdepresyjne w jednej, środkowej dawce skracając bezruch myszy o 18% (PZ-1410 w dawce 2.5 mg/kg), 33% (PZ-1150 w dawce 0.625 mg/kg) i 26% (PZ-1143 w dawce 10 mg/kg). Należy podkreślić, że związki PZ-1417 i PZ-1150 podane w dawkach 4-16-krotnie niższych niż referencyjny antagonist SB-269970 (10 mg/kg) wykazały taki sam efekt przeciwdepresyjny (Rycina 4 w publikacji **P4**).

Przeciwdepresyjne właściwości najbardziej aktywnych w FST pochodnych PZ-1417 i PZ-1150 potwierdzono następnie na innym szczepie myszy (C57BL/6J) w TST. Obydwie badane substancje, podobnie jak SB-269970, wykazały działanie przeciwdepresyjne w dawce 2.5 mg/kg skracając czas bezruchu oraz zwiększając siłę z jaką zwierzęta podejmowały próby wydostania się z niewygodnej dla nich pozycji. Podobnie jak w FST, związek PZ-1417 działał najsilniej, prowadząc do skrócenia czasu bezruchu o 38% i zwiększenia siły nacisku na hak o 112% w porównaniu z grupą kontrolną. Związek PZ-1150 nie wpływał znacząco na czas immobilizacji, ale zwiększał siłę podejmowanych przez zwierzęta epizodów walki o 65%. Natomiast SB-269970 skracał czas bezruchu o 20% i zwiększał siłę oddziaływania na hak o 58% (Tabela 2, materiały uzupełniające do publikacji **P4**). Dodatkowo, związek PZ-1417 podany w dawce 1.25 mg/kg wykazał słabe, ale statystycznie istotne, działanie przeciwdepresyjne w FST u szczurów, skracając immobilizację o 18% (Tabela 8 w publikacji **P4**).

Kolejnym krokiem była ocena właściwości przeciwłękowych najaktywniejszych w FST u myszy pochodnych PZ-1417 i PZ-1150. W FPT zwiększenie liczby karanych przejść zaobserwowano po podaniu PZ-1417 w dawkach 1.25 i 2.5 mg/kg (o 42% w porównaniu z grupą kontrolną), PZ-1150 w dawce 0.625 mg/kg (o 43%) oraz SB-269970 w dawce 1 mg/kg (o 70%) (Tabela 8 w publikacji **P4** i Rycina 1 w materiałach uzupełniających do publikacji **P4**). Co istotne z klinicznego punktu widzenia, w tych samych dawkach związki PZ-1417 i PZ-1150 działały przeciwdepresyjnie w FST u myszy.

Mając na względzie fakt, że związki o działaniu pobudzającym są aktywne w FST i FPT zbadano wpływ aktywnych przeciwdepresyjnie lub przeciwłękowo dawek na zachowania ruchowe zwierząt. Otrzymane wyniki wskazują na specyficzność obserwowanego działania przeciwdepresyjnego i anksjolitycznego związków, ponieważ nie zmieniały one spontanicznej aktywności ruchowej gryzoni w czasie analogicznym do czasu trwania FST i FPT.

Przeprowadzone badania pozwoliły na zidentyfikowanie dwóch nowych związków PZ-1417 i PZ-1150, charakteryzujących się wysoką aktywnością przeciwdepresyjną i przeciwłękową w testach behawioralnych u gryzoni. Na szczególną uwagę zasługuje związek PZ-1417, który w FST u myszy działał przeciwdepresyjnie w szerokim zakresie dawek (0.625-5 mg/kg) wywołując taki sam efekt jak SB-269970 podany w dawce 10 mg/kg, a ponadto był aktywny również w TST, FPT oraz FST u szczurów. Dodatkową zaletą wyselekcjonowanych związków może być ich niskie powinowactwo do receptorów $\alpha 1R$, $\beta 1R$, H1R i M1R, sugerujące małe prawdopodobieństwo wywoływania ośrodkowych i kardiologicznych efektów ubocznych (**P4**).

W kolejnej publikacji cyklu przedmiotem zainteresowania była seria arylosulfonamidowych pochodnych aryloksyetylopiperydyny, w której modyfikacje chemiczne dotyczyły podstawnika alkilowego w pozycji N ugrupowania sulfonamidowego (**P5**). W wyniku wprowadzonych zmian autorzy związków otrzymali grupę pochodnych zróżnicowaną pod względem powinowactwa receptorowego i selektywności: struktury z podstawnikiem *tert*-butylowym przy N ugrupowania sulfonamidowego zostały sklasyfikowane jako selektywne ligandy 5-HT7R, cząsteczki zawierające fragment N-izopropylowy jako dualne ligandy 5-HT7R/D2R, a związki, które zawierały pierścień fenyłowy jako ligandy wieloreceptorowe wykazujące powinowactwo do 5-HT7R/5-HT2AR/D2R (**P5**).

Wybrane do badań farmakologicznych związki: PZ-1371, (nr 17 w publikacji **P5**), PZ-1298 (nr 20 w publikacji **P5**), PZ-1437 (nr 31 w publikacji **P5**) i PZ-1301 (nr 33 w publikacji **P5**) w testach aktywności funkcjonalnej *in vitro* wykazały działanie antagonistyczne wobec 5-HT7R, a pochodne PZ-1298 i PZ-1301 o profilu wieloreceptorowym także wobec 5-HT2AR i D2R (**P5**).

Przeciwdepresyjną aktywność związków zbadano w teście FST u myszy. Wszystkie pochodne skracały czas immobilizacji w sposób znamieny statystycznie, działając w jednej, środkowej dawce, podobnie jak SB-269970. Struktury o charakterze preferencyjnych antagonistów 5-HT7R, PZ-1371 i PZ-1437 podane w dawce 1.25 mg/kg skracały bezruch odpowiednio o 25% i 30%, natomiast związki o profilu wieloreceptorowym, PZ-1298 w dawce 2.5 mg/kg i PZ-1301 w dawce 1.25 mg/kg, o 23% i 30%. Dla porównania selektywny antagonist 5-HT7R, SB-269970 podany w dawce 10 mg/kg skracał czas bezruchu o 31% (Rycina 4 w publikacji **P5**). W przypadku tych związków podstawienie N w ugrupowaniu sulfonamidowym ugrupowaniem cyklopropylometylowym skutkowało ich wyższą stabilnością metaboliczną w porównaniu z ich metylowymi odpowiednikami (PZ-1371 i PZ-1298), co przełożyło się również na zauważalnie silniejszy efekt przeciwdepresyjny mierzony w FST (**P5**).

W oparciu o wyniki badań opisanych w publikacjach **P3**, **P4** i **P5** powstała kolejna seria arylosulfonamidowych pochodnych aryloksyalkilopiperidyny, w której łącznik etylowy został zastąpiony ugrupowaniem propylenowym. Spośród dwunastu nowych struktur do badań farmakologicznych *in vivo* wybrano dwie charakteryzujące się najwyższym powinowactwem do 5-HT7R oraz selektywnością 5-HT1AR/5-HT7R: PZ-1433 (nr 20 w publikacji **P6**, $K_i = 32$ nM do 5-HT7R, selektywność 5-HT1AR/5-HT7R = 65) i PZ-1361 (nr 25 w publikacji **P6**, $K_i = 33$ nM do 5-HT7R, selektywność 5-HT1AR/5-HT7R = 40). Związki te wykazały niskie lub umiarkowane powinowactwo do 5-HT2AR, 5-HT6R, D2R i α 1R oraz właściwości antagonistyczne w stosunku do 5-HT7R. Dodatkowo, związek PZ-1433, w umiarkowanym stopniu, wiązał się do transportera SERT (**P6**).

Zarówno PZ-1433, jak i PZ-1361, wykazały silne działanie przeciwdepresyjne w FST u myszy. PZ-1433 podany w dawkach 0.625, 1.25 i 2.5 mg/kg powodował statystycznie znaczne skrócenie czasu immobilizacji odpowiednio o 53%, 52% i 19%, natomiast PZ-1361 w tych samych dawkach o 46%, 28% i 28%. SB-269970 był aktywny w jednej, wielokrotnie wyższej dawce (10 mg/kg) redukując bezruch o 31% (Rycina 5 w publikacji **P6**).

Przeciwdepresyjne właściwości badanych związków potwierdzono następnie w TST u myszy C57BL/6J. Obydwa badane związki zwiększały średnią siłę podejmowanych prób ucieczki (o 106% w porównaniu z grupą kontrolną w przypadku związku PZ-1433 i o 86% – PZ-1361) oraz skracały czas immobilizacji myszy (odpowiednio o 41% i 30%) w dawce 2.5 mg/kg. Dodatkowo, związek PZ-1361 znacząco skracał czas bezruchu także w dawce 1.25 mg/kg o 31%. Dla porównania, selektywny antagonistą 5-HT7R, związek SB-269970, podany w dawce 2.5 mg/kg, wykazał działanie przeciwdepresyjne zwiększając siłę podejmowanych przez zwierzęta epizodów walki oraz skracał czas immobilizacji odpowiednio o 27% i 20% (Rycina 6 w publikacji **P6**).

W związku z tym, że obserwowany w FST i TST efekt przeciwdepresyjny może być wynikiem nasilenia przez podane związki aktywności lokomotorycznej zwierząt, konieczne było oznaczenie ich wpływu na ruchliwość spontaniczną myszy. Uzyskane wyniki pokazały, że żaden ze związków, podany w dawkach aktywnych, nie nasilał ruchliwości spontanicznej mierzonej w czasie analogicznym do czasu trwania testów FST i TST, co pozwala stwierdzić, że efekty przeciwdepresyjne PZ-1433, PZ-1361, a także SB-269970 były specyficzne (**P6**).

Jedną z metod poprawy skuteczności działania LPD jest dodanie do terapii leku potęgującego efekty przeciwdepresyjne. Obecnie klinicznie stosowane w tym celu są m. in.: węglan litu, trójjodotyronina (T3), buspiron, leki przeciwpadaczkowe czy atypowe neuroleptyki (np. aripiprazol, kwetiapina) [33,34]. Badania ostatnich lat pokazały, że podobne, korzystne efekty mogą powodować również antagoniści 5-HT7R. Związki takie jak SB-269970 czy JNJ-18038683 wykazały działanie przeciwdepresyjne w badaniach przedklinicznych [19,35,36], a także nasilały aktywność citalopramu w FST i TST u zwierząt [37–39]. Aby sprawdzić wpływ PZ-1433 i PZ-1361 na efekty przeciwdepresyjnego działania LPD w FST u myszy, subaktywne dawki tych związków podano równocześnie z nieaktywnymi dawkami LPD o różnych mechanizmach działania: escitalopramu (SSRI), reboksetyny (SNRI, selektywny inhibitor wychwyty zwrotnego NA) i bupropionu (SDNRI, selektywny inhibitor wychwyty zwrotnego DA i NA) (**P6**).

Związki PZ-1433 i PZ-1361 podane łącznie z escitalopramem lub bupropionem (w mniejszym stopniu) prowadziły do ujawnienia efektu przeciwdepresyjnego LPD w FST

(Rycina 7 w publikacji **P6**). Takiego efektu nie zaobserwowano podczas skojarzenia tych związków z reboksetyną. Należy zaznaczyć, że działanie przeciwdepresyjne po łącznym podaniu było specyficzne i nie wynikało z nasilenia aktywności lokomotorycznej myszy. Ponadto stwierdzono, że efekt przeciwdepresyjny po łącznym podaniu związku PZ-1433 i escitalopramu jest nieco większy niż w przypadku związku PZ-1361 i escitalopramu (32.6% vs 25.4%). Może to być skutkiem umiarkowanego powinowactwa PZ-1433 do SERT. Na podstawie wyników interakcji badanych związków i LPD można wstępnie wnioskować, że w działaniu przeciwdepresyjnym nowych antagonistów 5-HT_{7R}, PZ-1433 i PZ-1361, w FST uczestniczą raczej układy serotonergiczny i dopaminergiczny, niż układ noradrenergiczny (**P6**).

Na podstawie wstępnych badań skryningowych ośrodkowej aktywności nowych preferencyjnych antagonistów 5-HT_{7R} o strukturze arylosulfonamidowych pochodnych aryloksyalkilopiperidyny można wysnuć następujące wnioski:

- wszystkie badane pochodne, z wyjątkiem PZ-1347, wykazały działanie przeciwdepresyjne w FST u myszy,
- siła działania przeciwdepresyjnego aktywnych związków nie zależała wprost od ich powinowactwa do 5-HT_{7R} i selektywności względem 5-HT_{1AR}; najaktywniejsze pochodne (PZ-1417, PZ-1433, PZ-1361), które skracały czas bezruchu w szerokim zakresie dawek (0.625-2.5/5 mg/kg), charakteryzowały się niższym powinowactwem do 5-HT_{7R} i pośrednią selektywnością 5-HT_{1AR}/5-HT_{7R}.

Do dalszych, poszerzonych badań aktywności ośrodkowej wytypowano związek PZ-1433 z uwagi na ujawniający się w niskich dawkach najsilniejszy efekt przeciwdepresyjny w FST i TST u myszy.

4.3.3.3. Badanie wpływu wybranych związków PZ-668, PZ-1433 i ADN-1184 na aktywność LPD w FST oraz poziom i metabolizm neuroprzebieżników w korze przedczołowej szczurów

Jak wspomniano we wstępie, pomimo ogromnego postępu farmakoterapii zaburzeń depresyjnych, jaki dokonał się w przeciągu ostatniego półwiecza, nadal około 1/3 pacjentów nie reaguje w sposób zadowalający na zastosowane leczenie. Uznana metodą postępowania w przypadkach depresji lekoopornej jest terapia adjuwantowa. Zarówno rozmieszczenie 5-HT_{6R} i 5-HT_{7R} w OUN, jak i doniesienia literaturowe dotyczące ośrodkowej aktywności farmakologicznej ligandów tych receptorów wskazują, że związki te mogą być dobrymi kandydatami na leki we wspomagającej terapii zaburzeń depresyjnych [13–16,40]. Dlatego też kolejnym etapem projektu było porównanie wpływu wyselekcjonowanych we wstępnych badaniach ligandów 5-HT_{6R} i/lub 5-HT_{7R}: preferencyjnego antagonisty 5-HT_{6R} – PZ-668, preferencyjnego antagonisty 5-HT_{7R} – PZ-1433 oraz związku monoaminergicznego o preferencyjnym powinowactwie do 5-HT_{6R} i 5-HT_{7R} – ADN-1184 na aktywność przeciwdepresyjną klinicznie stosowanych LPD należących do różnych grup terapeutycznych. Dodatkowo, w celu uzyskania wstępnych informacji dotyczących mechanizmów działania przeciwdepresyjnego nowych związków zbadano wpływ nieaktywnych i najniższych aktywnych dawek tych substancji na poziom monoamin (5-HT, NA, DA) i ich metabolizm w korze przedczołowej szczurów (**P7**).

Na wstępie, efekty przeciwdepresyjne testowanych ligandów receptorów 5-HT_{6R} i/lub 5-HT_{7R} zbadano w ujednoliconych warunkach laboratoryjnych w klasycznej wersji FST u

szczurów Wistar, aby ułatwić porównanie wyników. Uzyskane dane potwierdziły, wykazane we wcześniejszych eksperymentach [P2, P6, 24], właściwości przeciwdepresyjne związków PZ-668, PZ-1433 i ADN-1184, a ponadto pozwoliły na wyznaczenie subaktywnych i najniższych aktywnych dawek testowanych ligandów w FST (Rycina 1 w publikacji P7). W eksperymentach analizujących wpływ badanych związków na aktywność przeciwdepresyjną LPD reprezentujących różne mechanizmy działania (SSRI – escitalopram, SNRI – reboksetyna, SDNRI – bupropion) zastosowano subaktywne dawki zarówno ligandów 5-HT6R i/lub 5-HT7R, jak i LPD. Wyniki badań ujawniły wyraźne różnice pomiędzy testowanymi związkami, co sugeruje, że mechanizmy ich działania przeciwdepresyjnego również są odmienne. Preferencyjny antagonist 5-HT6R, PZ-668, nasilał aktywność reboksetyny i bupropionu, ale nie escitalopramu (Rycina 1 w publikacji P7); PZ-1433 będący preferencyjnym antagonistą 5-HT7R prowadził do ujawnienia działania przeciwdepresyjnego escitalopramu i bupropionu, pozostając bez wpływu na aktywność reboksetyny (Rycina 2 w publikacji P7); natomiast monoaminergiczny ligand o wysokim i preferencyjnym powinowactwie do 5-HT6R i 5-HT7R, ADN-1184, potęgował aktywność wszystkich LPD użytych w FST (Rycina 3 w publikacji P7). Zatem wydaje się, że w obserwowane w FST u szczurów przeciwdepresyjne efekty PZ-668 zaangażowany jest przede wszystkim układ dopaminergiczny i (w mniejszym stopniu) noradrenergiczny, PZ-1433 – układy serotonergiczny i dopaminergiczny (słabiej), a w aktywności ADN-1184 w różnym stopniu odgrywają rolę wszystkie trzy wymienione układy neuroprzekaźnikowe.

Przypuszczenia te znalazły potwierdzenie w badaniach neurochemicznych *ex vivo* pokazujących wpływ testowanych pochodnych na poziom 5-HT, NA i DA w korze przedczołowej szczurów. Związek PZ-668, który w badaniach *in vivo* wpływał przede wszystkim na aktywność bupropionu oraz słabiej nasilał efekt reboksetyny, zwiększał przekąźnictwo dopaminergiczne poprzez podniesienie poziomów DA i jej wewnątrzkomórkowego metabolitu DOPAC (kwas 3,4-dihydroksyfenylooctowy) i równoczesne zmniejszenie szybkości metabolizmu DA wyrażonej jako [HVA]/[DA] ([HVA] – stężenie końcowego metabolitu DA, kwasu homowanilinowego, [DA] – stężenie DA) (Tabela 1 w publikacji P7). PZ-668 zwiększał również, chociaż w mniejszym stopniu, korowy poziomy NA i NM (zewnątrzkomórkowy metabolit NA, normetanefryna) (Tabela 2 w publikacji P7) i nie miał wpływu na metabolizm 5-HT (Tabela 3 w publikacji P7).

PZ-1433, najsilniej z badanych ligandów, wpływał na układ serotonergiczny aktywując syntezę i utlenianie 5-HT, o czym świadczą podniesione stężenia 5-HT i jej metabolitu 5-HIAA (kwasu hydroksyindolooctowego) w korze przedczołowej (Tabela 1 w publikacji P7). Należy podkreślić, że pewien udział w tym efekcie może mieć powinowactwo PZ-1433 do SERT (P6). Związek podwyższał także stężenia DA i DOPAC oraz zmniejszał szybkość metabolizmu DA, a ponadto, szczególnie w nieaktywnej dawce 0.03 mg/kg, nasilał aktywność korowego układu noradrenergicznego prowadząc do wzrostu poziomu NA i spowolnienia jej metabolizmu. Rzeczywiście, w testach behawioralnych najsilniejszy synergizm działania obserwowano przy łącznym podaniu PZ-1433 z escitalopramem, natomiast słabszy z bupropionem. Z drugiej strony, biorąc pod uwagę wyniki testów *ex vivo*, trudno wytłumaczyć brak pozytywnej interakcji PZ-1433 z reboksetyną. Niemniej wyniki badań na zwierzętach są spójne – PZ-1433 nie wpływał na aktywność reboksetyny w FST, zarówno u myszy (P6) jak i u szczurów (P7).

ADN-1184, który wykazał najsilniejszą interakcję z bupropionem, nieco słabszą z escitalopramem i najsłabszą z reboksetyną, w badaniach neurochemicznych przede wszystkim zwiększał aktywność układu dopaminergicznego. W korze przedczołowej szczurów obserwowano podwyższenie poziomu DA oraz jej wewnątrzkomórkowego metabolitu DOPAC, przy jednoczesnym zmniejszeniu stężenia końcowego metabolitu HVA i obniżeniu stosunku [HVA]/[DA], który odzwierciedla szybkość metabolizmu DA. Nie można wykluczyć, że za te zmiany, poza antagonizmem do 5-HT₆R i/lub 5-HT₇R, odpowiada również blokada innych receptorów, głównie 5-HT_{2A}R i α ₂R [42]. Ponadto, ADN-1184 w umiarkowany i nieznamienisty statystycznie sposób wpływał na obrót i metabolizm 5-HT (Tabela 3 w publikacji **P7**) i praktycznie nie zmieniał stężenia i szybkości rozkładu NA (Tabela 2 w publikacji **P7**), co tłumaczy słabszy przeciwdepresyjny efekt łącznego podania tego związku z LPD należącym do grupy SSRI lub SNRI.

Wydaje się, że uzyskane wyniki badań behawioralnych *in vivo* oraz neurochemicznych *ex vivo* (pokazujące po raz pierwszy w literaturze zmiany neurochemiczne w mózgu powstające po podaniu preferencyjnych antagonistów 5-HT₆R i 5-HT₇R) pozwalają wysnuć wstępne wnioski o potencjalnym zastosowaniu związków będących ligandami 5-HT₆R i/lub 5-HT₇R w adjuwantowej terapii zaburzeń przeciwdepresyjnych. Selektywni antagoniści 5-HT₆R mogą przynieść korzystne efekty przy równoczesnym zastosowaniu z LPD, których mechanizm działania opiera się na aktywacji układu dopaminergicznego i/lub adrenergicznego. Związki, które w sposób preferencyjny blokują 5-HT₇R będą prawdopodobnie potęgować efekty głównie SSRI oraz SDNRI. Natomiast ligandy blokujące równocześnie 5-HT₆R i 5-HT₇R jawią się jako uniwersalne związki o właściwościach nasilających działanie LPD należących do różnych klas: SDNRI, SSRI i SNRI.

4.3.3.4. Poszerzone badania właściwości przeciwlękowych związków PZ-1433 i ADN-1184

Jak wspomniano wcześniej, współwystępowanie depresji i lęku jest powszechnym zjawiskiem, dlatego kolejnym krokiem była ocena aktywności przeciwlękowej związków PZ-1433 i ADN-1184 w celu pełniejszego scharakteryzowania ich potencjału anksjolitycznego. Dla PZ-668 nie przeprowadzono dalszych badań w tym kierunku, ponieważ nie wykazał on aktywności przeciwlękowej w teście konfliktu wg Vogla (**P2**).

Do określenia profilu anksjolitycznego PZ-1433 i ADN-1184 zastosowano kilka mysich i szczurzych testów behawioralnych wykorzystujących zróżnicowane bodźce lękowe. Na wstępie wykonano FPT, w którym słaby bodziec elektryczny aplikowany przy przechodzeniu pomiędzy płytkami ma wywołać u zwierzęcia lęk powodujący zahamowanie naturalnej dla gryzoni potrzeby eksploracji nowych przestrzeni. Test wykazał, że PZ-1433 podany w dawkach 0.625 i 1.25 mg/kg znamienne zwiększał liczbę akceptowanych przez myszy szoków odpowiednio o 52% i 81% (Rycina 1 w publikacji **P8**), a zatem jego efekt przeciwlękowy był taki jak wzorcowego antagonisty 5-HT₇R, SB-269970, podanego w dawce 10 mg/kg (**P3**, **P4**). Ponadto wzrostowi liczby przejść nie towarzyszyło zwiększenie spontanicznej aktywności ruchowej zwierząt, co świadczy o specyficzności działania przeciwlękowego PZ-1433 w FPT u myszy.

ADN-1184, będący wieloreceptorowym związkiem o wysokim i preferencyjnym powinowactwie do 5-HT₆R i 5-HT₇R, podany w dawkach 0.312, 0.625 i 1.25 mg/kg zwiększał liczbę przejść karanych prądem odpowiednio o 58%, 58% i 67% (Rycina 3a w

publikacji **P9**). Podobnie jak w przypadku PZ-1433, ADN-1184 nie nasilał ruchliwości spontanicznej myszy, a zatem obserwowany w FPT efekt przeciwlękowy był specyficzny.

Działanie przeciwkonfliktowe związku PZ-1433 obserwowane w FPT u myszy zostało potwierdzone u szczurów w teście konfliktu wg Vogla, ale nie w teście uniesionego labiryntu krzyżowego (ang. *elevated plus-maze*, EPM). Pomimo, że obydwa testy zaliczane są do grupy procedur wykorzystujących sytuację konfliktu (chęć zaspokojenia potrzeby/otrzymania nagrody *versus* lęk przed karą), różnią się mechanizmem wywoływania lęku. W teście konfliktu wg Vogla naturalna potrzeba zaspokojenia pragnienia jest hamowana lękiem indukowanym bodźcem awersyjnym (słaby impuls elektryczny) dostarczanym przy próbie picia wody [43]. Natomiast w EPM zwierzę musi „wybierać” pomiędzy naturalną niechęcią (lękiem) przed uniesioną, otwartą przestrzenią a potrzebą eksploracji nowego środowiska [44]. W teście konfliktu wg Vogla związek PZ-1433 podany w dawce 1 mg/kg istotnie zwiększał liczbę karanych prądem prób picia wody o 157% w porównaniu z grupą kontrolną (Rycina 3 w publikacji **P8**), pozostając bez wpływu na próg bólowy mierzony w teście gorącej płytki oraz pragnienie wyrażone ilością wypitej wody (Tabela 3 w publikacji **P8**), co świadczy o specyficzności obserwowanego efektu przeciwlękowego. W EPM badany antagonistą 5-HT₇R okazał się nieaktywny. Jedynie w dawce 0.3 mg/kg nieznacznie i w nieznamiennej statystycznie sposób zwiększał mierzone w teście parametry: czas i procent czasu przebywania w ramionach otwartych, a także liczbę i procent wejść do otwartych ramion labiryntu (Tabela 4 w publikacji **P8**).

W przeciwieństwie do PZ-1433, ADN-1184 wykazał istotną aktywność przeciwlękową zarówno w teście konfliktu wg Vogla, jak i w EPM. Związek podany w dawce 3 mg/kg czterokrotnie zwiększał liczbę karanych prądem prób picia wody w porównaniu z grupą kontrolną (Rycina 1a i 2a w publikacji **P9**). Obserwowane w teście Vogla działanie anksjolityczne było specyficzne, ponieważ związek nie miał wpływu na próg bólowy i pragnienie u deprivowanych od wody szczurów (Tabela 3 w publikacji **P9**). W EPM ADN-1184 podany w dawce 0.3 mg/kg zwiększał wszystkie mierzone parametry, ale tylko w przypadku procentowej liczby wejść do ramion otwartych labiryntu różnica była istotna statystycznie w porównaniu z grupą kontrolną (Tabela 1 w publikacji **P9**). Równocześnie związek w aktywnej przeciwlękowo dawce nasilał aktywność eksploracyjną szczurów zwiększając całkowitą liczbę wejść do ramion oraz wydłużał przebyty przez zwierzęta dystans (Tabela 2 w publikacji **P9**), co prawdopodobnie było przyczyną obserwowanego w EPM wzrostu liczby wejść do otwartych ramion labiryntu. Dlatego działania przeciwlękowego ADN-1184 w EPM nie można uznać za swoiste.

Test zagrzebywania marmurkowych kulek (ang. *marble burying test*, MBT) wykorzystuje typową skłonność gryzoni do kopania zarówno w środowisku naturalnym (korytarze, nory), jak i w warunkach laboratoryjnych (ściółka). MBT został zwalidowany i zatwierdzony jako prosty model ludzkich zaburzeń obsesyjno-kompulsyjnych, których objawem są m.in. powtarzalne, niepożądane zachowania [45]. PZ-1433 podany w dawce 0.312 mg/kg w sposób statystycznie istotny zmniejszał liczbę zagrzebanych przez myszy kulek o około 35%, co świadczy o działaniu hamującym stereotypowe zachowania (Rycina 2 w publikacji **P8**). ADN-1184 wykazał takie działanie w dawce 0.625 mg/kg, ale było ono znacznie słabsze – związek zmniejszał liczbę zagrzebanych przez myszy kulek o 21% (Rycina 4 w publikacji **P9**).

Podsumowując, na podstawie otrzymanych wyników można wnioskować, że preferencyjny antagonist 5-HT₇R, PZ-1433, wykazuje aktywność przeciwłękową w testach wykorzystujących bodźce awersyjne, a także kompulsyjne zachowania zwierząt, co sugeruje potencjalne zastosowanie tego typu związków w zaburzeniach psychicznych szczególnie o charakterze lęku uogólnionego [46,47] i/lub obsesyjno-kompulsyjnego [45]. Natomiast związek ADN-1184 będący wieloreceptorowym ligandem z preferencyjnym powinowactwem do 5-HT₆R i 5-HT₇R swoją aktywność anksjolityczną ujawnił przede wszystkim w testach, w których używane są bodźce awersyjne (FTP u myszy i test konfliktu wg Vogla u szczurów), ale nie działał, lub działał znacznie słabiej, w modelach wykorzystujących naturalne zachowania gryzoni (EPM czy MBT). A zatem wydaje się, że ADN-1184 może okazać się pomocny w terapii lęku uogólnionego.

Przeprowadzone badania nie pozwalają jednoznacznie określić mechanizmów przeciwłękowego działania badanych związków, ale biorąc pod uwagę profil receptorowy oraz funkcjonalny PZ-1433 (**P6**) wydaje się, że w jego aktywność anksjolityczną bezpośrednio zaangażowana jest blokada 5-HT₇R. Potwierdzają to dane literaturowe pokazujące, że selektywny antagonist 5-HT₇R, SB-269970, działał przeciwłękowo w zwierzęcych modelach lęku takich jak test konfliktu wg Vogla, EPM u szczurów, FPT [19] i MBT u myszy [20]. Umiarkowane powinowactwo związku PZ-1433 do SERT (**P6**) również może mieć znaczenie dla anksjolitycznej aktywności związku, tym bardziej, że SSRI są powszechnie stosowane w leczeniu różnego rodzaju zaburzeń lękowych, m.in. lęku uogólnionego czy zaburzeń obsesyjno-kompulsyjnych [48], a PZ-1433 wykazał aktywność w teście konfliktu wg Vogla, traktowanego jako zwierzęcy model lęku uogólnionego [46], oraz w MBT – modelu zaburzeń obsesyjno-kompulsyjnych [45]. W przypadku związku ADN-1184, ze względu na jego złożony, wieloreceptorowy profil [24] trudno jednoznacznie stwierdzić, który z receptorów odgrywa decydującą rolę w jego mechanizmie działania przeciwłękowego. Najbardziej prawdopodobne wydaje się, że za aktywnością przeciwłękową ADN-1184 stoją jego właściwości antagonistyczne wobec 5-HT₆R i 5-HT₇R. Jak już wspomniano powyżej, taką aktywność udowodniono dla antagonistów 5-HT₇R [19,20]. Podobnie, działanie anksjolityczne w zwierzęcych modelach lęku wykazano także dla selektywnych antagonistów 5-HT₆R, związków SB-258585 [49] i SB-399885 [18]. Dodatkowo, opublikowane wcześniej badania dowiodły, że zablokowanie 5-HT₆R, w pośredni sposób aktywuje kompleks receptorowy GABA_A/benzodiazepinowy [18]. Bezpośrednio pobudzające ten receptor benzodiazepiny są zarejestrowane m.in. do krótkotrwałego leczenia zespołu lęku uogólnionego, w którym, jak wskazują zaprezentowane powyżej wyniki wstępnych badań na zwierzętach, związek ADN-1184 potencjalnie mógłby znaleźć zastosowanie terapeutyczne. Nie należy jednak zapominać, że ADN-1184 ma znaczące powinowactwo także do 5-HT_{2A}R, i że związkowi o działaniu antagonistycznym wobec tych receptorów również przypisuje się działanie anksjolityczne [50].

W podsumowaniu wyników badań aktywności przeciwłękowej związków PZ-1433 i ADN-1184 można stwierdzić, że:

- zarówno preferencyjny antagonist 5-HT₇R – PZ-1433, jak i monoaminergiczny ligand charakteryzujący się preferencyjnym powinowactwem do 5-HT₆R i 5-HT₇R – ADN-1184 działają przeciwłękowo w zwierzęcych modelach lęku,

- aktywność przeciwłękowa tych związków różni się; PZ-1433 ujawnił swoje działanie anksjolityczne w FPT u myszy i teście konfliktu wg Vogla u szczurów, czyli testach opartych na indukowaniu reakcji lękowej bodźcem awersyjnym, a także w MBT, który wykorzystuje stereotypowe zachowania gryzoni. ADN-1184, podobnie jak PZ-1433, był aktywny w FPT u myszy i teście konfliktu wg Vogla u szczurów, ale wykazał tylko słabe działanie w MBT u myszy. Żaden z badanych związków nie ujawnił specyficznego efektu przeciwłękowego w EPM u szczurów,
- wykazane w poszczególnych testach działanie anksjolityczne wstępnie sugeruje potencjalną skuteczność badanych substancji w terapii różnych zaburzeń lękowych; dla PZ-1433 i ADN-1184 są to zaburzenia lękowe uogólnione, i dodatkowo dla PZ-1433 zaburzenia o charakterze kompulsji,
- na tym etapie badań wnioskowanie o mechanizmach przeciwłękowego działania badanych związków ma charakter jedynie spekulatywny i opiera się na wynikach badań *in vitro* określających ich profil receptorowy i funkcjonalny oraz badań behawioralnych *in vivo*. Dane z tych eksperymentów sugerują, że za aktywność przeciwłękową PZ-1433 odpowiadają przede wszystkim jego właściwości antagonistyczne wobec 5-HT₇R, a także powinowactwo do SERT, natomiast w przypadku ADN-1184 – antagonizm wobec 5-HT₆R, 5-HT₇R oraz 5-HT_{2A}R.

4.3.4. Podsumowanie

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań będących podstawą osiągnięcia habilitacyjnego można wysnuć następujące wnioski:

- A. Nowe związki o właściwościach antagonistycznych wobec 5-HT₆R lub 5-HT₇R wykazały przeciwdepresyjne działanie skracając czas immobilizacji w FST u gryzoni:
 - a. W grupie antagonistów 5-HT₆R:
 - i. wszystkie badane związki były aktywne w FST u szczurów,
 - ii. pochodne azinosulfonyloindolu, PZ-568 (0.3 mg/kg) i PZ-668 (0.1 i 0.3 mg/kg) (**P2**) działały silniej i w dziesięciokrotnie niższych dawkach w porównaniu z pochodnymi pirolochinoliny, S-41 (3 mg/kg) i S-42 (10 mg/kg) (**P1**),
 - iii. wśród badanych związków najwyższą aktywność przeciwdepresyjną w FST u szczurów wykazał PZ-668 (**P1, P2**).
 - b. Wśród związków o wysokim powinowactwie oraz działaniu antagonistycznym wobec 5-HT₇R:
 - i. aktywność przeciwdepresyjną wykazało 18 na 19 badanych długołańcuchowych pochodnych arylopiperazyny (**P3-P6**),
 - ii. efekt przeciwdepresyjny 8 pochodnych: PZ-1404 (2.5 mg/kg), PZ-765 (20 mg/kg), PZ-1417 (0.625-5 mg/kg), PZ-1150 (0.625 mg/kg), PZ-1437 (1.25 mg/kg), PZ-1301 (1.25 mg/kg), PZ-1433 (0.625-2.5 mg/kg) i PZ-1361 (0.625-2.5 mg/kg) był podobny lub większy od efektu obserwowanego dla selektywnego antagonisty 5-HT₇R, SB-269970 (10 mg/kg), a 7 spośród tych związków ujawniło swoją aktywność w dawkach kilkukrotnie niższych niż związek referencyjny (**P3-P6**),
 - iii. związki PZ-1417, PZ-1433 i PZ-1361, które w FST u myszy działały w szerokim zakresie dawek, wykazały aktywność przeciwdepresyjną również w TST u myszy,

- a efekt obserwowany dla dawki 2.5 mg/kg był około dwukrotnie większy niż SB-269970 podanego w tej samej dawce (**P4 i P6**),
- iv. wśród badanych związków najsilniejsze działanie przeciwdepresyjne w FST oraz TST u myszy wykazał PZ-1433 (**P3-P6**).
- c. Obserwowane w FST efekty przeciwdepresyjne antagonistów 5-HT6R lub 5-HT7R były specyficzne i nie wynikały z działania nasilającego ruchliwość spontaniczną gryzoni (**P1-P6**).
- B. W przesiewowych badaniach właściwości przeciwlękowych wśród antagonistów 5-HT6R tylko pochodne pirolochinoliny wykazały działanie anksjolityczne, podczas gdy w grupie antagonistów 5-HT7R aktywne były wszystkie testowane w tym kierunku związki (**P1-P4**).
- C. Działanie przeciwdepresyjne:
- a. preferencyjnego antagonisty 5-HT6R, PZ-668, związane jest przede wszystkim z aktywacją przekąźnictwa dopaminergicznego i w mniejszym stopniu noradrenergicznego (**P2 i P7**),
- b. preferencyjnego antagonisty 5-HT7R, PZ-1433, wynika głównie z nasilenia aktywności układów serotonergicznego i dopaminergicznego, a także umiarkowanego wpływu na układ noradrenergiczny (**P6 i P7**),
- c. monoaminergicznego liganda o preferencyjnym powinowactwie do 5-HT6R i 5-HT7R, ADN-1184, opiera się w głównej mierze na aktywacji przekąźnictwa dopaminergicznego, a także, w pewnym stopniu, serotonergicznego (**P7**).
- D. Badane ligandy 5-HT6R i/lub 5-HT7R w zróżnicowany sposób wpływały na aktywność LPD z różnych grup:
- a. preferencyjny antagonist 5-HT6R (PZ-668) potęgował działanie bupropionu (SDNRI) i słabiej reboksetyny (SNRI) (**P7**),
- b. preferencyjny antagonist 5-HT7R (PZ-1433) nasilał aktywność escitalopramu (SSRI) i w mniejszym stopniu bupropionu (SNRI) (**P6 i P7**),
- c. monoaminergiczny ligand o preferencyjnym powinowactwie do 5-HT6R i 5-HT7R, ADN-1184, najsilniej zwiększał przeciwdepresyjne działanie bupropionu (SDNRI), następnie escitalopramu (SSRI) i najsłabiej reboksetyny (SNRI) (**P7**).
- E. Wyniki poszerzonych badań wskazują, że aktywność anksjolityczna wyselekcjonowanych związków jest zróżnicowana:
- a. preferencyjny antagonist 5-HT6R, PZ-668 nie wykazał aktywności przeciwlękowej w teście opartym na bodźcu awersyjnym (**P2**),
- b. preferencyjny antagonist 5-HT7R, PZ-1433, działał w testach opartych na bodźcach awersyjnych oraz zachowaniach stereotypowych, co wstępnie sugeruje jego potencjalną skuteczność w zaburzeniach lękowych uogólnionych oraz o charakterze obsesyjno-kompulsyjnym (**P8**),
- c. ADN-1184 o preferencyjnym powinowactwie zarówno do 5-HT6R, jak i 5-HT7R był aktywny tylko w testach wykorzystujących bodźce awersyjne, co wskazuje na jego potencjalną skuteczność w leczeniu lęku uogólnionego (**P9**).

Przeprowadzone badania farmakologiczne ukierunkowane na poszukiwanie nowych, aktywnych ośrodkowo ligandów 5-HT6R i/lub 5-HT7R, nie tylko *doprowadziły do*

wyselekcjonowania substancji o znaczącym działaniu przeciwdepresyjnym, ale także przyczyniły się do poszerzenia wiedzy w zakresie mechanizmów przeciwdepresyjnego działania nowych antagonistów 5-HT₆R i/lub 5-HT₇R oraz ich wpływu na aktywność LPD, co w przyszłości może zaowocować stworzeniem zasad komponowania optymalnej terapii skojarzonej zaburzeń depresyjnych. Wykazane tu działanie przeciwlękowe, ujawnione przez innych badaczy dodatkowe korzystne właściwości badanych związków, takie jak: aktywność prokognitywna PZ-668 i PZ-1433 (**P2**, **P6**), przeciwpsychotyczna ADN-1184 [24], a także brak znaczącego powinowactwa do tzw. receptorów *off-target*, tj. α_1 , H₁, M₁, 5-HT_{2C} oraz kanałów potasowych hERG, sugerujący niskie prawdopodobieństwo wywołania metabolicznych, kardiologicznych czy ośrodkowych działań niepożądanych, czynią antagonistów 5-HT₆R i/lub 5-HT₇R wyjątkowo interesującym celem dalszych badań nad ich potencjalnym wykorzystaniem w szerokim spektrum zaburzeń ośrodkowych.

4.3.5. Piśmiennictwo

- [1] Rybakowski J, Pużyński S, Wciórka J, Bilikiewicz A. Psychiatria. T. 2, Psychiatria kliniczna. 2nd ed. Wrocław: Elsevier Urban & Partner; 2018.
- [2] World Health Organisation. Depression 2018. <http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/depression> (accessed September 25, 2018).
- [3] Pużyński S. Psychiatria – postępy 2006 - 50 lat stosowania leków przeciwdepresyjnych - Postępy w medycynie - Artykuły - Medycyna Praktyczna 2007. <https://www.mp.pl/artykuly/31688,psychiatria-postepy-2006-50-lat-stosowania-lekow-przeciwdepresyjnych> (accessed September 25, 2018).
- [4] Indeks Leków MP n.d. <https://indeks.mp.pl/leki/find.php?kind=pg&id=26> (accessed September 25, 2018).
- [5] Hillhouse TM, Porter JH. A brief history of the development of antidepressant drugs: From monoamines to glutamate. *Exp Clin Psychopharmacol* 2015;23:1–21. doi:10.1037/a0038550.
- [6] Wang S-M, Han C, Pae C-U. Criticisms of drugs in early development for the treatment of depression: what can be improved? *Expert Opin Investig Drugs* 2015;24:445–53. doi:10.1517/13543784.2014.985784.
- [7] Millan MJ. Multi-target strategies for the improved treatment of depressive states: Conceptual foundations and neuronal substrates, drug discovery and therapeutic application. *Pharmacol Ther* 2006;110:135–370. doi:10.1016/j.pharmthera.2005.11.006.
- [8] Ramasubbu R, Taylor VH, Samaan Z, Sockalingham S, Li M, Patten S, et al. The Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) task force recommendations for the management of patients with mood disorders and select comorbid medical conditions. *Ann Clin Psychiatry* 2012;24:91–109. doi:acp_2401i [pii].
- [9] Coplan JD. Treating comorbid anxiety and depression: Psychosocial and pharmacological approaches. *World J Psychiatry* 2015;5:366. doi:10.5498/wjp.v5.i4.366.
- [10] Nepon J, Belik S-L, Bolton J, Sareen J. The relationship between anxiety disorders and suicide attempts: findings from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. *Depress Anxiety* 2010;27:791–8. doi:10.1002/da.20674.
- [11] Baldwin DS, Florea I, Jacobsen PL, Zhong W, Nomikos GG. A meta-analysis of the efficacy of vortioxetine in patients with major depressive disorder (MDD) and high levels of anxiety symptoms. *J Affect Disord* 2016;206:140–50. doi:10.1016/j.jad.2016.07.015.
- [12] Hanrahan C, New JP. Antidepressant medications: The FDA-approval process and the need for updates. *Ment Heal Clin* 2014;4:11–6. doi:10.9740/mhc.n186950.
- [13] Mnie-Filali O, Faure C, Lambás-Señas L, El Mansari M, Belblidia H, Gondard E, et al. Pharmacological blockade of 5-HT₇ receptors as a putative fast acting antidepressant strategy. *Neuropsychopharmacology* 2011;36:1275–88. doi:10.1038/npp.2011.13.
- [14] Fukuo Y, Kishi T, Yoshimura R, Kitajima T, Okochi T, Yamanouchi Y, et al. Serotonin 6 receptor gene and mood disorders: Case-control study and meta-analysis. *Neurosci Res* 2010;67:250–5. doi:10.1016/j.neures.2010.04.003.
- [15] Wesołowska A, Jastrzębska-Więsek M. Behavioral pharmacology: potential antidepressant and anxiolytic properties. *Int Rev Neurobiol* 2011;96:49–71. doi:10.1016/B978-0-12-385902-0.00003-6.
- [16] Hedlund PB. The 5-HT₇ receptor and disorders of the nervous system: an overview. *Psychopharmacology (Berl)* 2009;206:345–54. doi:10.1007/s00213-009-1626-0.
- [17] Wesołowska A, Nikiforuk A. Effects of the brain-penetrant and selective 5-HT₆ receptor antagonist SB-

- 399885 in animal models of anxiety and depression. *Neuropharmacology* 2007;52:1274–83. doi:10.1016/j.neuropharm.2007.01.007.
- [18] Wesołowska A. The anxiolytic-like effect of the selective 5-HT₆ receptor antagonist SB-399885: the impact of benzodiazepine receptors. *Eur J Pharmacol* 2008;580:355–60. doi:10.1016/j.ejphar.2007.11.022.
- [19] Wesołowska A, Nikiforuk A, Stachowicz K, Tatarczyńska E. Effect of the selective 5-HT₇ receptor antagonist SB 269970 in animal models of anxiety and depression. *Neuropharmacology* 2006;51:578–86. doi:10.1016/J.NEUROPHARM.2006.04.017.
- [20] Hedlund PB, Sutcliffe JG. The 5-HT₇ receptor influences stereotypic behavior in a model of obsessive-compulsive disorder. *Neurosci Lett* 2007;414:247–51. doi:10.1016/j.neulet.2006.12.054.
- [21] Nikiforuk A. The procognitive effects of 5-HT₆ receptor ligands in animal models of schizophrenia. *Rev Neurosci* 2014;25:367–82. doi:10.1515/revneuro-2014-0005.
- [22] Meneses A. 5-HT₇ receptor stimulation and blockade: a therapeutic paradox about memory formation and amnesia. *Front Behav Neurosci* 2014;8:207. doi:10.3389/fnbeh.2014.00207.
- [23] Serretti A, Mandelli L. Antidepressants and body weight: A comprehensive review and meta-analysis. *J Clin Psychiatry* 2010;71:1259–72. doi:10.4088/JCP.09r05346blu.
- [24] Kołaczkowski M, Mierzejewski P, Bieńkowski P, Wesołowska a, Newman-Tancredi a. ADN-1184 a monoaminergic ligand with 5-HT_{6/7} receptor antagonist activity: pharmacological profile and potential therapeutic utility. *Br J Pharmacol* 2014;171:973–84. doi:10.1111/bph.12509.
- [25] Heal D, Smith S, Fisas A, Codony X, Buschmann H. Selective 5-HT₆ receptor ligands: progress in the development of a novel pharmacological approach to the treatment of obesity and related metabolic disorders. *Pharmacol Ther* 2008;117:207–31.
- [26] Hirst WD, Abrahamsen B, Blaney FE, Calver AR, Aloj L, Price GW, et al. Differences in the central nervous system distribution and pharmacology of the mouse 5-hydroxytryptamine-6 receptor compared with rat and human receptors investigated by radioligand binding, site-directed mutagenesis, and molecular modeling. *Mol Pharmacol* 2003;64:1295–308. doi:10.1124/mol.64.6.1295.
- [27] Detke MJ, Rickels M, Lucki I. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology (Berl)* 1995;121:66–72.
- [28] Rénérac JP, Lucki I. Antidepressant behavioral effects by dual inhibition of monoamine reuptake in the rat forced swimming test. *Psychopharmacology (Berl)* 1998;136:190–7.
- [29] Lacroix LP, Dawson L a, Hagan JJ, Heidbreder C a. 5-HT₆ receptor antagonist SB-271046 enhances extracellular levels of monoamines in the rat medial prefrontal cortex. *Synapse* 2004;51:158–64. doi:10.1002/syn.10288.
- [30] Zajdel P, Kurczab R, Grychowska K, Satała G, Pawłowski M, Bojarski AJ. The multiobjective based design, synthesis and evaluation of the arylsulfonamide/amide derivatives of aryloxyethyl- and arylthioethyl- piperidines and pyrrolidines as a novel class of potent 5-HT₇ receptor antagonists. *Eur J Med Chem* 2012;56:348–60. doi:10.1016/j.ejmech.2012.07.043.
- [31] Grychowska K, Marciniak K, Canale V, Szymiec M, Glanowski G, Satała G, et al. Quinolinesulfonamides of aryloxy-/arylthio-ethyl piperidines: influence of an aryloxy fragment on 5-HT_{1A}/5-HT₇ receptor selectivity. *Arch Pharm (Weinheim)* 2013;346:180–8. doi:10.1002/ardp.201200322.
- [32] Smith KS, Rudolph U. Anxiety and depression: mouse genetics and pharmacological approaches to the role of GABA(A) receptor subtypes. *Neuropharmacology* 2012;62:54–62. doi:10.1016/j.neuropharm.2011.07.026.
- [33] Mathys M, Mitchell BG. Targeting treatment-resistant depression. *J Pharm Pract* 2011;24:520–33. doi:10.1177/0897190011426972.
- [34] Artigas F. Developments in the field of antidepressants, where do we go now? *Eur Neuropsychopharmacol* 2015;25:657–70. doi:10.1016/j.euroneuro.2013.04.013.
- [35] Guscott M, Bristow LJ, Hadingham K, Rosahl TW, Beer MS, Stanton JA, et al. Genetic knockout and pharmacological blockade studies of the 5-HT₇ receptor suggest therapeutic potential in depression. *Neuropharmacology* 2005;48:492–502. doi:10.1016/j.neuropharm.2004.11.015.
- [36] Bonaventure P, Dugovic C, Kramer M, De Boer P, Singh J, Wilson S, et al. Translational Evaluation of JNJ-18038683, a 5-Hydroxytryptamine Type 7 Receptor Antagonist, on Rapid Eye Movement Sleep and in Major Depressive Disorder. *J Pharmacol Exp Ther* 2012;342:429–40. doi:10.1124/jpet.112.193995.
- [37] Wesołowska A, Tatarczyńska E, Nikiforuk A, Chojnacka-Wójcik E. Enhancement of the anti-immobility action of antidepressants by a selective 5-HT₇ receptor antagonist in the forced swimming test in mice. vol. 555. 2007. doi:10.1016/j.ejphar.2006.10.001.
- [38] Bonaventure P, Kelly L, Aluisio L, Shelton J, Lord B, Galici R, et al. Selective blockade of 5-hydroxytryptamine (5-HT)₇ receptors enhances 5-HT transmission, antidepressant-like behavior, and rapid eye movement sleep suppression induced by citalopram in rodents. *J Pharmacol Exp Ther*

- 2007;321:690–8. doi:10.1124/jpet.107.119404.
- [39] Westrich L, Sprouse J, Sánchez C. The effects of combining serotonin reuptake inhibition and 5-HT₇ receptor blockade on circadian rhythm regulation in rodents. *Physiol Behav* 2013;110–111:42–50. doi:10.1016/j.physbeh.2012.12.009.
- [40] Sarkisyan G, Roberts AJ, Hedlund PB. The 5-HT₇ receptor as a mediator and modulator of antidepressant-like behavior. *Behav Brain Res* 2010;209:99–108. doi:10.1016/j.bbr.2010.01.022.
- [41] Kołaczkowski M, Mierzejewski P, Bienkowski P, Wesołowska A, Newman-Tancredi A. Antipsychotic, antidepressant, and cognitive-impairment properties of antipsychotics: rat profile and implications for behavioral and psychological symptoms of dementia. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2014;387:545–57. doi:10.1007/s00210-014-0966-4.
- [42] Frånberg O, Marcus MM, Svensson TH. Involvement of 5-HT_{2A} receptor and α -2-adrenoceptor blockade in the asenapine-induced elevation of prefrontal cortical monoamine outflow. *Synapse* 2012;66:650–60. doi:10.1002/syn.21551.
- [43] Vogel JR, Beer B, Clody DE. A simple and reliable conflict procedure for testing anti-anxiety agents. *Psychopharmacologia* 1971;21:1–7.
- [44] Pellow S, File SE. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: A novel test of anxiety in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 1986;24:525–9. doi:10.1016/0091-3057(86)90552-6.
- [45] Angoa-Pérez M, Kane MJ, Briggs DI, Francescutti DM, Kuhn DM. Marble Burying and Nestlet Shredding as Tests of Repetitive, Compulsive-like Behaviors in Mice. *J Vis Exp* 2013:50978. doi:10.3791/50978.
- [46] Millan MJ, Brocco M. The Vogel conflict test: Procedural aspects, γ -aminobutyric acid, glutamate and monoamines. *Eur J Pharmacol* 2003;463:67–96. doi:10.1016/S0014-2999(03)01275-5.
- [47] Griebel G, Holmes A. 50 years of hurdles and hope in anxiolytic drug discovery. *Nat Rev Drug Discov* 2013;12:667–87. doi:10.1038/nrd4075.
- [48] Vaswani M, Linda FK, Ramesh S. Role of selective serotonin reuptake inhibitors in psychiatric disorders: A comprehensive review. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry* 2003;27:85–102. doi:10.1016/S0278-5846(02)00338-X.
- [49] Wesołowska A, Nikiforuk A, Stachowicz K. Anxiolytic-like and antidepressant-like effects produced by the selective 5-HT₆ receptor antagonist SB-258585 after intrahippocampal administration to rats. *Behav Pharmacol* 2007;18:439–46. doi:10.1097/FBP.0b013e3282d28f9c.
- [50] Kent JM, Mathew SJ, Gorman JM. Molecular targets in the treatment of anxiety. *Biol Psychiatry* 2002;52:1008–30. doi:10.1016/S0006-3223(02)01672-4.

5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH (ARTYSTYCZNYCH).

5.1. Osiągnięcia naukowo-badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych oraz związane z realizacją pracy doktorskiej

W trakcie studiów na Wydziale Farmaceutycznym UJ CM szczególnie interesowała mnie farmakologia doświadczalna i kliniczna oraz zagadnienia farmakoterapii. Od czwartego roku studiów czynnie uczestniczyłam w zajęciach Studenckiego Farmakologicznego Koła Naukowego, które działało przy Katedrze Farmakodynamiki UJ CM. Również w tej Katedrze, w 1999 roku, obroniłam pracę magisterską pt.: „Niektóre ośrodkowe własności farmakologiczne nowych monoterpenowych analogów GABA”, której promotorem był dr Tadeusz Librowski. W czerwcu 1999 roku otrzymałam dyplom ukończenia studiów farmaceutycznych, a we wrześniu tego roku rozpoczęłam pracę w Katedrze Farmakodynamiki Wydziału Farmaceutycznego UJ CM na stanowisku asystenta (etat naukowo-dydaktyczny). Moja praca badawcza koncentrowała się wówczas wokół poszukiwania aktywnych struktur w grupie nowych monoterpenowych analogów kwasu γ -aminomasłowego (GABA) oraz amidowych pochodnych kwasu γ -hydroksymasłowego o spodziewanym profilu przeciwdrgawkowym. W latach 2001–2006 byłam kierownikiem dwóch projektów własnych

(WŁ/198/P/F, WŁ/294/P/F, Załącznik 6; II.I.17-18) finansowanych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Owocem tych badań były trzy prace opublikowane w czasopiśmie Polish Journal of Pharmacology (Załącznik 6; II.A.42-44), liczne doniesienia zjazdowe (Załącznik 6; III.B) oraz dwa patenty polskie (Załącznik 6; II.B.2-3). Dodatkowo uczestniczyłam również w pracach zespołu prof. dr hab. Gabriela Nowaka nad rolą cynku w zaburzeniach depresyjnych (Załącznik 6; II.A.36 i II.A.41).

Badania farmakologiczne, które wykonywałam w ramach pracy doktorskiej dotyczyły porównania aktywności przeciwdrgawkowej, przeciwdepresyjnej i przeciwłękowej dwóch, różnych pod względem strukturalnym, grup pochodnych GABA: amidowych analogów GABA zsyntetyzowanych w Katedrze Chemii Farmaceutycznej UJ CM przez dr hab. Barbarę Malawską oraz pochodnych fosfinowych będących ligandami GABA_BR, otrzymanych od firmy Novartis. Głównym osiągnięciem pracy było wykazanie właściwości przeciwdepresyjnych antagonistów GABA_BR oraz udowodnienie, że za to działanie odpowiada blokada GABA_BR. Wyniki badań zostały opublikowane w pracach: Załącznik 6; II.A.39-40.

Pracę doktorską zatytułowaną „Badanie neuropsychotropowych właściwości wybranych nowych analogów kwasu γ -aminomasłowego (GABA)” i wykonaną pod kierunkiem prof. dr hab. Gabriela Nowaka obroniłam w 2007 r.

Ponadto w trakcie mojej pracy w Katedrze Farmakodynamiki zapoznałam się z metodyką pobierania i izolacji struktur mózgowych od gryzoni, a także badań radioreceptorowych pozwalających na ocenę powinowactwa oraz zmian adaptacyjnych receptorów GABA-ergicznym.

Podsumowanie dorobku naukowego przed otrzymaniem stopnia doktora:

Liczba publikacji: **5**

Łączny *impact factor*: **6.440**

Łączna liczba punktów MNiSW: **57**

5.2. Osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych, we współpracy z zespołem prof. dr hab. Gabriela Nowaka, kontynuowałam badania nad aktywnością ligandów GABA_BR oraz cynku w zaburzeniach lękowych. W latach 2009-2011 kierowałam projektem statutowym zatytułowanym „Badanie roli receptora AMPA w mechanizmie przeciwłękowym” (K/ZBS/000400) (Załącznik 6; II.I.16).

W latach 2008-2013 wykonywałam badania behawioralne w ramach projektu: „Opracowanie polskiego leku stosowanego w terapii schorzeń Ośrodkowego Układu Nerwowego: schizofrenii, depresji i lęku – badania przedkliniczne” realizowanego przez konsorcjum naukowo-badawcze utworzone przez firmę farmaceutyczną Adamed, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, Instytut Psychiatrii i Neurologii w Warszawie i Politechnikę Krakowską. Prace były współfinansowane przez Naukowe Centrum do spraw Badań i Rozwoju w ramach programu MSWiN „Inicjatywa technologiczna I” (KB/88/12655/IT1-C/U/08) (Załącznik 6; II.I.13). Efektem tego projektu są prace: Załącznik 6; I.B.P7, I.B.P9, II.A.12, II.A.24, II.A.38, II.D.3. Ponadto, jeden z wyselekcjonowanych w

tym przedsięwzięciu związków, ADN-1184, został włączony do moich badań stanowiących podstawę osiągnięcia habilitacyjnego (**P7, P9**).

W październiku 2010 roku rozpoczęłam pracę w Zakładzie Farmacji Klinicznej UJ CM. Od tego czasu moje zainteresowania naukowe skupiają się przede wszystkim na poszukiwaniu nowych związków biologicznie czynnych o aktywności ośrodkowej. Badania te były, i nadal są, przedmiotem kierowanych przeze mnie dwóch projektów finansowanych ze środków na działalność statutową. Projekt realizowany w latach 2014-2016 pt. „Badania przeciwdepresyjnej i/lub przeciwłękowej aktywności selektywnych antagonistów receptorów serotoninowych 5-HT₆ w testach behawioralnych u szczurów” (K/ZDS/004704) (Załącznik 6; II.I.15) pozwolił na wyselekcjonowanie dwóch najbardziej aktywnych przeciwdepresyjnie związków z grupy arylosulfonamidowych pochodnych amin alifatycznych (PZ-568 i PZ-668). PZ-668 stał się przedmiotem dalszych badań będących częścią mojego osiągnięcia habilitacyjnego (**P2 i P7**). Drugi projekt statutowy pt. „Oznaczenie aktywności ośrodkowej nowych inhibitorów fosfodiesterazy typu 10A z dodatkową komponentą antagonistyczną wobec receptorów 5-HT_{1A}/5-HT₇” (K/ZDS/007135) (Załącznik 6; II.I.14) jest realizowany w latach 2017-2019. Jego celem jest poszukiwanie nowych struktur o działaniu przeciwdepresyjnym, przeciwłękowym, przeciwpsychotycznym i/lub poprawiającym pamięć o mechanizmie działania związanym z aktywnością hamującą PDE10A i/lub dodatkową komponentą antagonistyczną wobec 5-HT_{1A} i 5-HT₇. Badania prowadzone są w dwóch grupach związków: pochodnych imidazo[2,1-f]teofiliny będących antagonistami 5-HT_{1A} i 5-HT₇, o słabym powinowactwie do D2R i słabszej aktywności hamującej PDE10A; oraz zróżnicowanych strukturalnie analogów związku PQ-10 (selektywny inhibitor PDE10A), charakteryzujących się istotną, porównywalną z papaweryną, zdolnością hamowania PDE10A oraz antagonizmem względem 5-HT_{1A} i 5-HT₇. Punktem wyjściowym dla tych badań był grant NCN (UMO-2012/07/B/NZ7/01173) pt. „Synteza i właściwości farmakologiczne mono-, di- i tri-heterocyklicznych pochodnych azolowych, jako kombinowanych ligandów receptorowych i inhibitorów fosfodiesteraz, o potencjalnym działaniu psychotropowym” (kierownik prof. dr hab. Maciej Pawłowski) (Załącznik 6; II.I.9), w którym wykonywałam badania behawioralne aktywności przeciwdepresyjnej, przeciwłękowej i przeciwpsychotycznej nowo zsyntetyzowanych związków z różnych grup chemicznych (Załącznik 6; II.A.16, II.A.18, II.A.23, II.A.25-26). Inhibitory PDE10A są również przedmiotem moich badań farmakologicznych prowadzonych w ramach projektu SONATA (UMO-2016/21/D/NZ7/01573) pt. „Synteza i właściwości farmakologiczne zróżnicowanych strukturalnie analogów PQ-10 jako wielofunkcyjnych ligandów o możliwości poprawy funkcji poznawczych w zwierzęcych modelach depresji, lęku i schizofrenii”, kierowanego przed dr hab. Agnieszką Zagórką z Zakładu Chemii Leków Katedry Chemii Farmaceutycznej UJ CM (Załącznik 6; II.I.2). Efektem naszego zainteresowania ośrodkową aktywnością inhibitorów PDE10A jest praca pogładowa (Załącznik 6; II.A.10).

Zasadniczy nurt moich badań stanowiących podstawę habilitacji (**P1-P6**) został zrealizowany dzięki współpracy z dr hab. Pawłem Zajdlem z Zakładu Chemii Leków Katedry Chemii Farmaceutycznej UJ CM, który od wielu lat prowadzi badania zarówno nad modyfikacjami chemicznymi znanych, aktywnych ośrodkowo leków, jak i zupełnie nowymi strukturami w grupie długołańcuchowych arylopipezyn. Badania te doprowadziły do uzyskania szeregu czynnych biologicznie związków o profilu wieloreceptorowym (5-

HT1A/5-HT2A/5-HT6/5-HT7/D2/D3/D4), a także selektywnych ligandów receptorów serotonergicznych (głównie 5-HT₆ i 5-HT₇). Podczas wieloletniej współpracy byłam wykonawcą badań aktywności przeciwpyschotycznej, przeciwdepresyjnej i przeciwłkowej z użyciem zwierzęcych modeli zaburzeń psychicznych w następujących projektach kierowanych przez dr hab. Pawła Zajdla: MNiSW (N N405 671540) pt. „Poszukiwanie nowych ligandów receptorów 5-HT₆ i 5-HT₇ o potencjalnym działaniu ośrodkowym” (Załącznik 6; II.I.11), NCN (UMO-2012/05/B/NZ7/03076) pt. „Biomimetyki LCAP – pochodne amin alicyklicznych jako nowa klasa ligandów dla receptorów monoaminergicznych” (Załącznik 6; II.I.8) oraz NCBiR (PBS3/B7/20/2015) pt. „Nowa nieamyloidowa terapia zaburzeń poznawczych” realizowanego wraz z Instytutem Farmakologii PAN w Krakowie, w którym byłam kierownikiem zadania 9 „Poszerzone nadania farmakologiczne *in vivo* II” (Załącznik 6; II.I.7 i III.A.1). Celem tych projektów było znalezienie i wyselekcjonowanie związków aktywnych ośrodkowo w testach przedklinicznych, które w perspektywie mogą stać się punktem wyjściowym do odkrycia nowych leków dla bardziej efektywnej terapii chorób psychicznych, a także znalezienie nowych ligandów o interesującym profilu aktywności i/lub selektywnych narzędzi, które przyczynią się do zwiększenia możliwości badawczych w zakresie neuropsychofarmakologii doświadczalnej i klinicznej. Prowadzone w ramach projektów badania koncentrowały się na możliwie wszechstronnym poznawaniu mechanizmów związanych z regulacyjną rolą 5-HT w OUN. Wyniki wspólnie prowadzonych badań zostały opisane w następujących pracach oryginalnych: Załącznik 6; I.B.P1-P6, II.A.27. Ponadto dużym osiągnięciem tej współpracy jest uzyskany w 2017 roku patent międzynarodowy (US 9676772 B2, „Pyroloquinoline derivatives as 5-HT₆ antagonists, preparation method and use thereof”), którego jestem współtwórcą (Załącznik 6; II.B.1). Wynalazek został objęty umową licencyjną podpisaną w 2015 roku, dającą firmie Spherium Biomed z Hiszpanii wyłączne i nieograniczone terytorialnie prawo do jego dalszego rozwoju i komercyjnego wykorzystania.

Podsumowaniem prac badawczych prowadzonych we współpracy z grupą dr hab. Pawła Zajdla jest praca przeglądowa oceniająca czy chinolino- i izochinolino-sulfonamidowe analogi arypiprazolu mogą nadać kierunek poszukiwaniom nowych leków przeciwpyschotycznych (Załącznik 6; II.A.30).

Kontynuacją badań nad rolą ligandów 5-HT_{6R} w zaburzeniach psychicznych i kognitywnych jest projekt OPUS (UMO-2015/19/B/NZ/00227, kierownik prof. dr hab. Anna Wesołowska) pt. „Ligandy receptorów 5-HT₆ jako dodatek do przeciwpyschotycznej terapii schizofrenii – wpływ na masę ciała, parametry metaboliczne, zaburzenia kognitywne, zaburzenia nastroju” (Załącznik 6; II.I.3), w którym byłam redaktorem pomocniczym wniosku, a obecnie koordynuję i wykonuję badania farmakologiczne *in vivo*. Prowadzone w ramach tego przedsięwzięcia badania dotyczące wpływu agonisty i antagonisty 5-HT_{6R} na afektywne i kognitywne efekty działania haloperidolu, olanzapiny i risperidonu są przedmiotem rozprawy doktorskiej mgr Joanny Rychtyk zatytułowanej "Wpływ selektywnych ligandów receptora serotoninowego 5-HT₆ na aktywność leków przeciwpyschotycznych u szczurów", której jestem promotorem pomocniczym (Załącznik 6; III.K.1).

Ponadto wykonywałam badania farmakologiczne w ramach zakończonych już projektów:

- „Poszukiwanie nowych związków biologicznie aktywnych o potencjalnym działaniu psychotropowym w grupie ligandów receptorów monoaminergicznych” (MNiSW Nr N N405 378437, kierownik prof. dr hab. Maciej Pawłowski) (Załącznik 6; II.I.12), w którym m.in. wyselekcjonowano serię sulfonamidowych pochodnych długołańcuchowych arylopiperazyn (LCAPs) charakteryzujących profilem wieloreceptorowym i aktywnością przeciwdepresyjną w FST u myszy i przeciwłękową w EPM u szczurów, a w przypadku struktury wiodącej również działaniem przeciwpsychotycznym w teście ruchliwości indukowanej MK-801 u myszy. Wyniki tych badań opublikowano w pracach: Załącznik 6; II.A.31-32, II.A.35, II.A.37.
- „Poszukiwanie związków biologicznie aktywnych wśród ligandów receptorów serotoninowych, szczególnie 5-HT₇, i dopaminowych o potencjalnym działaniu psychotropowym” (OPUS NCN Nr UMO-2011/01/B/NZ4/00695, kierownik prof. dr hab. Anna Wesołowska) (Załącznik 6; II.I.10), w którym otrzymano szereg związków z różnych grup chemicznych (arylopiperazynyloalkilowych pochodnych puryno-2,6-dionu, arylopiperazynyloalkilowych pochodnych imidazo[2,1-f]-puryno-2,4-dionu, pochodnych spirohydantoiny) o zróżnicowanym powinowactwie i aktywności wewnętrznej wobec 5-HT_{1A}R, 5-HT_{2A}R, 5-HT₇R i D₂R. Wyselekcjonowane do badań farmakologicznych związki wykazały się niejednorodną aktywnością przeciwdepresyjną, przeciwłękową i/lub przeciwpsychotyczną. Wyniki tych badań opublikowano w pracach: Załącznik 6; II.A.15, II.A.20, II.A.23, II.A.25-26, II.A.28, II.A.34.

Obecnie jestem wykonawcą badań farmakologicznych *in vivo* w kilku kolejnych projektach badawczych:

- „Synteza i badania farmakologiczne nowych pochodnych benzizoksazolopropylpirolidyny jako wielofunkcyjnych ligandów o potencjalnych właściwościach prokognitywnych i przeciwpsychotycznych” (SONATA NCN nr UMO-2014/15/D/NZ7/01789, kierownik dr Monika Marcinkowska) (Załącznik 6; II.I.6),
- „Triazynowe ligandy receptora 5-HT₆ – nowa perspektywa w terapii współczesnych chorób cywilizacyjnych OUN” (OPUS NCN nr UMO-2015/17/B/NZ7/02973, kierownik dr hab. Jadwiga Handzlik, prof. UJ) (Załącznik 6; II.I.5),
- „Poszukiwanie selektywnych funkcjonalnie agonistów receptora 5-HT_{1A} jako nowych narzędzi farmakologicznych w opracowaniu terapii schorzeń psychiatrycznych i neurodegeneracyjnych” (OPUS NCN nr UMO-2015/19/B/NZ7/03543, kierownik dr hab. Marcin Kołaczkowski, prof. UJ) (Załącznik 6; II.I.4),
- „Anilidowe pochodne długołańcuchowych amin cyklicznych jako wielofunkcyjne ligandy receptorów serotoninowych i inhibitory fosfodiesterazy 7 o potencjalnym zastosowaniu w terapii zaburzeń poznawczych i depresyjnych w chorobie Alzheimera” (PRELUDIUM NCN nr UMO-2017/25/N/NZ7/00544, kierownik mgr Agnieszka Jankowska) (Załącznik 6; II.I.1).

Wyniki tych projektów zostały już częściowo opublikowane w następujących pracach: Załącznik 6; II.A.7-8; II.A.11; II.A.13.

Od czerwca 2018 r. kieruję pracą zleconą przez Instytut Chemii i Technologii Organicznej Wydziału Inżynierii i Technologii Chemicznej Politechniki Krakowskiej pt.: „Synteza i ocena aktywności nowych ligandów działających na ośrodkowy układ nerwowy (OUN)” realizowanej w ramach projektu badawczego LIDER/015/L-6/14/NCBR/2015 kierowanego przez dr Jolantę Jaśkowską (Załącznik 6; III.F). Przedmiotem zlecenia jest wykonanie i interpretacja wyników badań behawioralnych właściwości przeciwdepresyjnych 15 związków oraz wpływu aktywnych substancji na ruchliwość spontaniczną zwierząt.

Podczas mojej dotychczasowej pracy naukowej w Zakładzie Farmacji Klinicznej UJ CM współpracowałam również z:

- dr Magdaleną Jastrzębską-Więsek z Zakładu Farmacji Klinicznej UJ CM – efektem wspólnych badań jest cykl publikacji dotyczących właściwości funkcjonalnych, farmakokinetycznych i farmakologicznych częściowego agonisty receptorów 5-HT₆, związku EMD386088 (Załącznik 6; II.A.5-6, II.A.17, II.A.22, II.A.29, II.A.33), praca na temat przeciwlękowego działania pochodnych morfolinylopuryno-2,6-dionu (Załącznik 6; II.D.11), a także artykuł opracowany we współpracy z firmą Neurolixis opisujący właściwości przeciwlękowe nowych funkcjonalnie selektywnych agonistów 5-HT_{1A}R (Załącznik 6; II.A.9),
- dr hab. Karoliną Pytką z Katedry Farmakodynamiki UJ CM – rezultatem współpracy jest publikacja dotycząca przeciwdepresyjnej i przeciwlękowej aktywności dwóch nowych związków będących pochodnymi fenylopiiperazyny o silnym działaniu antagonistycznym wobec 5-HT_{1A}R i 5-HT_{7R} (Załącznik 6; II.A.21),
- dr hab. Jackiem Stefanowiczem z Katedry Technologii Leków i Biotechnologii Farmaceutycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego – wyniki badań funkcjonalnych grupy aryamidowych pochodnych 3-aminotropanu o potencjalnych właściwościach przeciwpsychotycznych zostały opublikowane w dwóch pracach (Załącznik 6; II.A.2; II.A.19),
- dr Rafałem Kurczabem z Zakładu Chemii Leków Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie – owocem tej współpracy jest publikacja dotycząca wpływu wiązania halogenowego na powinowactwo do D₂R, 5-HT_{1A}R i 5-HT_{7R} azynosulfonamidowych pochodnych fenylopiiperazyny o działaniu przeciwpsychotycznym i przeciwdepresyjnym (Załącznik 6; II.A.1, II.A.14),
- zespołem dr hab. Jadwigi Handzlik, prof. UJ (dr Gniewomirem Lataczem i mgr Katarzyną Kucwaj-Brysz) z Zakładu Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych UJ CM – wynikiem wspólnie prowadzonych badań są prace, w których byłam współwykonawcą badań farmakologicznych *in vivo* ośrodkowej aktywności antagonistów 5-HT_{7R} o strukturze arylopiiperazynohydantoiny (Załącznik 6; II.A.7-8, II.A.11).

Jestem współautorem pracy przeglądowej, która została napisana na zaproszenie edytora czasopisma Expert Opinion on Drug Discovery, a dotyczy przedklinicznych badań i rozwoju nowego leku przeciwpsychotycznego kariprazyny (Załącznik 6; II.A.4).

Jestem również współautorem kilku prac poglądowych dotyczących aktualnych zagadnień farmakoterapii powszechnie występujących schorzeń, takich jak: cukrzyca ciężarnych (Załącznik 6; II.D.10), jadłowstręt psychiczny (Załącznik 6; II.D.9), otyłość (Załącznik 6; II.D.8), trądzik pospolity (Załącznik 6; II.D.7), łuszczyca zwyczajna (Załącznik 6; II.A.3, II.D.6), bakteryjne zakażenia skóry (Załącznik 6; II.D.5), cellulit (Załącznik 6; II.D.4) i rozstępy (Załącznik 6; II.D.2), a także problemu teratogenności leków stosowanych w schorzeniach dermatologicznych (Załącznik 6; II.D.1).

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

Liczba publikacji: **59**

Łączny *impact factor*: **142.784**

Łączna liczba punktów MNiSW: **1429**

5.3. Udział w projektach badawczych

1. 2018-2020 **Wykonawca** – Grant NCN Nr UMO-2017/25/N/NZ7/00544 „Anilidowe pochodne długołańcuchowych amin cyklicznych jako wielofunkcyjne ligandy receptorów serotoninowych i inhibitory fosfodiesterazy 7 o potencjalnym zastosowaniu w terapii zaburzeń poznawczych i depresyjnych w chorobie Alzheimera”.
2. 2017-2020 **Wykonawca** – Grant NCN Nr UMO-2016/21/D/NZ7/01573 "Synteza i właściwości farmakologiczne zróżnicowanych strukturalnie analogów PQ-10 jako wielofunkcyjnych ligandów o możliwości poprawy funkcji poznawczych w zwierzęcych modelach depresji, lęku i schizofrenii."
3. 2016-2019 **Wykonawca** – Grant NCN Nr UMO-2015/19/B/NZ7/00227 „Ligandy receptorów 5-HT₆ jako dodatek do przeciwpsychotycznej terapii schizofrenii - wpływ na masę ciała, parametry metaboliczne, zaburzenia kognitywne, zaburzenia nastroju”
4. 2016-2019 **Wykonawca** – Grant NCN Nr 2015/19/B/NZ7/03543 „Poszukiwanie selektywnych funkcjonalnie agonistów receptora 5-HT_{1A} jako nowych narzędzi farmakologicznych w opracowaniu terapii schorzeń psychiatrycznych i neurodegeneracyjnych"
5. 2016-2019 **Wykonawca** Grant NCN Nr UMO-2015/17/B/NZ7/02973 „Triazynowe ligandy receptora serotoninowego 5-HT₆ - nowa perspektywa w terapii współczesnych chorób cywilizacyjnych OUN”
6. 2015-2018 **Wykonawca** – Grant NCN Nr UMO-2014/15/D/NZ7/01789 „Synteza i badania farmakologiczne nowych pochodnych benzizoksazolopropylpirolidyny jako wielofunkcyjnych ligandów o potencjalnych właściwościach prokognitywnych i przeciwpsychotycznych”
7. 2013-2016 **Wykonawca** – Grant NCN Nr UMO-2012/05/B/NZ7/03076 – „Biomimetyki LCAP – pochodne amin alicyklicznych jako nowa klasa ligandów dla receptorów monoaminergicznych”
8. 2013-2016 **Wykonawca** – Grant NCN Nr UMO-2012/07/B/NZ7/01173 - „Synteza i właściwości farmakologiczne mono-, di- i triheterocyklicznych pochodnych

- azolowych, jako kombinowanych ligandów receptorowych inhibitorów fosfodiesteraz o potencjalnym działaniu psychotropowym”
9. 2011-2014 **Wykonawca** – Grant NCN Nr UMO-2011/01/B/NZ4/00695 – „Poszukiwanie związków biologicznie aktywnych wśród ligandów receptorów serotoninowych, szczególnie 5-HT₇, i dopaminowych o potencjalnym działaniu psychotropowym”
 10. 2011-2013 **Wykonawca** – Grant MNiSzW Nr NN 405 671540 „Poszukiwanie nowych ligandów receptorów 5-HT₆ i 5-HT₇ o potencjalnym działaniu ośrodkowym”
 11. 2009-2012 **Wykonawca** – Grant rozwojowy MNiSzW Nr NN 405 378437 “Poszukiwanie nowych związków biologicznie aktywnych o potencjalnym działaniu psychotropowym w grupie ligandów receptorów monoaminergicznych”
 12. 2008-2012 **Wykonawca** – Projekt KB/88/12655/IT1-C/U/08 realizowany przy współpracy z firmą ADAMED, dofinansowany przez NCBiR w ramach programu Inicjatywa Technologiczna I. „Opracowanie innowacyjnego leku stosowanego w terapii schorzeń Ośrodkowego Układu Nerwowego (OUN) schizofrenii, depresji i lęku, badania przedkliniczne.”
 13. 2018-2019 **Kierownik pracy zleconej** przez Instytut Chemii i technologii Organicznej Wydziału Inżynierii i Technologii Chemicznej Politechniki Krakowskiej pt.: „Synteza i ocena aktywności nowych ligandów działających na ośrodkowy układ nerwowy (OUN)” realizowanej w ramach projektu badawczego LIDER/015/L-6/14/NCBR/2015
 14. 2017-2019 **Kierownik projektu** finansowanego ze środków na działalność statutową nr K/ZDS/007135 – „Oznaczenie aktywności ośrodkowej nowych inhibitorów fosfodiesterazy typu 10A z dodatkową komponentą antagonistyczną wobec receptorów 5HT_{1A}/5HT₇”
 15. 2016-2017 **Kierownik zadania** pt. "Poszerzone badania farmakologiczne in vivo II" w ramach – Grant NCBiR Nr PBS3/B7/20/2015 "Nowa nieamyloidowa terapia zaburzeń poznawczych”
 16. 2014-2016 **Kierownik projektu** finansowanego ze środków na działalność statutową nr K/ZDS/004704 – „Badania przeciwdepresyjnej i/lub przeciwłękowej aktywności selektywnych antagonistów receptorów serotoninowych 5-HT₆ w testach behawioralnych u szczurów”
 17. 2009-2011 **Kierownik projektu** finansowanego ze środków na działalność statutową nr K/ZBW/0004000 – „Badanie roli receptora AMPA w mechanizmie przeciwłękowym”
 18. 2004-2006 **Kierownik programu własnego** nr Wł/294/P/F finansowanego ze środków UJ CM – „Poszukiwania przeciwłękowych i przeciwdepresyjnych własności analogów kwasu α -aminomasłowego”
 19. 2001-2003 **Kierownik programu własnego** nr Wł/198/P/F finansowanego ze środków UJ CM – „Badania ośrodkowych własności farmakologicznych amidowych analogów GABA”

5.4. Podsumowanie całego dorobku naukowego

Sumaryczny Impact Factor dla całego dorobku naukowego: 149.224

Łączna liczba punktów MNiSW dla całego dorobku naukowego: 1486

Łączna liczba cytowań = 499 (*Web of Science Core Collection 1945-2018 z dnia 23.10.2018 r.*).

Współczynnik Hirscha = 13 (*Web of Science Core Collection 1945-2018 z dnia 23.10.2018 r.*).

Łączna liczba publikacji: 64, w tym:

- Publikacje znajdujące się w bazie Journal Citation Reports: 51
- Pozostałe publikacje: 12
- Publikacje pełnotekstowe w suplementach czasopism posiadających Impact Factor: 1

Liczba projektów badawczych: 18, w tym:

- Kierownik projektu: 5
- Wykonawca projektu: 13

Łączna liczba streszczeń ze zjazdów: 90, w tym:

- międzynarodowych: 66
- krajowych: 24

5.5. Odbyte szkolenia i kursy

Uczestniczyłam w następujących szkoleniach naukowych, kursach szkoleniowych i dydaktycznych:

- Kurs tworzenia sylabusów w ramach programu „Ars Docendi – rozwój kompetencji dydaktycznych kadry Uniwersytetu Jagiellońskiego”, Kraków, 20.06-11.07.2018 r.
- Kurs pt.: „Poszukiwanie informacji i ocena wiarygodności danych” w ramach programu „Ars Docendi – rozwój kompetencji dydaktycznych kadry Uniwersytetu Jagiellońskiego; Kraków, 8 i 15 marca 2018 r.
- Szkolenie dla osób odpowiedzialnych za planowanie procedur i doświadczeń; dla osób wykonujących procedury na zwierzętach oraz osób uśmiercających zwierzęta wykorzystywane w procedurach. Polskie Towarzystwo Nauk o Zwierzętach Laboratoryjnych PolLASA, Kraków, 28.09-01.10.2015r.
- Konferencja szkoleniowa w ramach projektu „Harmonizacja zarządzania dydaktyką na Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie”. Ochrona prawna i ocena publikacji naukowych.. Kraków, 24 września 2013 r.
- Kurs pt.: "Zaawansowane techniki edukacyjne w naukach medycznych. Kurs zaawansowany - Ocena efektów kształcenia" - edycja I, w ramach projektu "Pro bono Collegii Medici Universitatis Jagiellonicae", Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków, 31.01.-27.02.2013 r.
- Konferencja naukowo-szkoleniowa „Farmaceuta na oddziale szpitalnym – korzyści i wyzwania”, Wrocław 22.04.2017 r.

- VIII Ogólnopolska Konferencja Lekarsko-Farmaceutyczna BEZPIECZNA FARMAKOTERAPIA „Aktualne możliwości terapii niektórych chorób układu nerwowego”, Kraków 18-19.11.2016 r.
- Cykl prezentacji firmy AnimaLab we współpracy z Instytutem Zoologii Uniwersytetu Jagiellońskiego „Wyposażenie, obsługa i zarządzanie zwierzętarnią. Behavior, metabolizm, fizjologia – nowe możliwości badawcze”, Kraków, 29-30 października 2013 r.
- VI Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Szkoleniowa Farmaceutów „Aktualne możliwości terapii chorób o podłożu miażdżycowym”, Ożarów Mazowiecki k/Warszawy, 25-27 listopada 2010 r.
- Symposium „Neuropsychofarmakologia 2000 – dziś i jutro”; Kraków 20-21 październik 2000 r
- W latach 2000-2018 uczestniczyłam w Szkołach Zimowych organizowanych przez Instytut Farmakologii PAN w Krakowie.

5.6. Recenzje prac naukowych

Byłam recenzentem prac w następujących czasopismach naukowych o światowym zasięgu: Behavioural Brain Research (2 manuskrypty), Neuroscience and Biobehavioral Reviews (2 manuskrypty), Heliyon (Elsevier) (1 manuskrypt), Pharmacological Reports (3 manuskrypty), Expert Opinion on Therapeutic Patents (1 manuskrypt), Journal of Pharmacy and Pharmacology (1 manuskrypt), Heterocyclic Communications (1 manuskrypt)

5.7. Członkostwo w towarzystwach i organizacjach naukowych

Jestem członkiem następujących towarzystw naukowych:

Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne od 2000 roku

Polskie Towarzystwo Farmakologiczne od 2004 roku

Polskie Towarzystwo Toksykologiczne od 2004 roku

5.8. Staże naukowe

W okresie od lutego do kwietnia 2002 r. odbywałam staż w Zakładzie Neurobiologii Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie, w czasie którego zapoznałam się z metodyką oznaczania powinowactwa do receptorów z wykorzystaniem technik radioreceptorowych *in vitro*.

5.9. Współpraca naukowa

Poniżej przedstawiłam listę ośrodków naukowych w kraju i za granicą oraz firm, z którymi współpracowałam i nadal współpracuję w trakcie swojej działalności naukowej:

- Instytut Farmakologii PAN w Krakowie, Zakład Neurobiologii, Zakład Neurochemii, Zakład Chemii Leków
- Instytut Psychiatrii i Neurologii w Warszawie, Zakład Farmakologii i Fizjologii Układu Nerwowego
- Warszawski Uniwersytet Medyczny, Katedra Technologii Leków i Biotechnologii Farmaceutycznej

- Wydział Farmaceutyczny we Wrocławiu, Katedra i Zakład Chemii Leków
- Wydział Farmaceutyczny UJ CM, Katedra Chemii Farmaceutycznej, Katedra Farmakobiologii, Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych, Katedra Farmakodynamiki
- Politechnika Krakowska, Instytut Chemii i Technologii Organicznej Wydziału Inżynierii i Technologii Chemicznej
- Neurolix Inc., Dana Point, USA
- Adamed Pharma S.A., Czosnów k. Warszawy
- CELON Pharma S.A., Łomianki/Kiełpin

6. NAGRODY I WYRÓŻNIENIA

- Nagroda Dziekana Wydziału Farmaceutycznego za osiągnięcia naukowe w roku 2017, 2016, 2015, 2014, 2013
- Nagroda Prorektora UJ ds. Collegium Medicum za zaangażowanie i rzetelność w wypełnianiu obowiązków służbowych z okazji święta Uniwersytetu Jagiellońskiego w 2018 r.
- Brązowy Medal za Długoletnią Służbę (III stopień) przyznany przez Prezydenta Rzeczypospolitej Polskiej w 2016 r.
- Odznaka Honorowa przyznana przez Zarząd Główny Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego w 2013 r.

7. DZIAŁALNOŚĆ DYDAKTYCZNA

Do 2010 roku, w okresie zatrudnienia w Katedrze Farmakodynamiki UJ CM na stanowisku asystenta, a następnie adiunkta, prowadziłam zajęcia seminaryjne i ćwiczeniowe z przedmiotu Farmakologia z Farmakodynamiką dla studentów III i IV roku Farmacji. Po przejściu do Zakładu Farmacji Klinicznej UJ CM, czyli od października 2010 r. prowadzę zajęcia seminaryjno-ćwiczeniowe z przedmiotu Farmakoterapia ze studentami V roku Farmacji oraz z przedmiotu Substancje lecznicze w kosmetologii na I roku studiów stacjonarnych i niestacjonarnych II-go stopnia na kierunku Kosmetologia. W roku akademickim 2016/2017 prowadziłam zajęcia z przedmiotu Farmakologia kliniczna dla studentów I roku studiów niestacjonarnych II-go stopnia na kierunku Pielęgniarstwo (Wydział Nauk o Zdrowiu UJ CM).

W latach 2015-2018 sprawowałam opiekę dydaktyczną nad 32 studentami VI roku Farmacji odbywającymi 6-miesięczną praktykę zawodową w aptece otwartej/szpitalnej.

W mojej dotychczasowej pracy naukowo-dydaktycznej byłam opiekunem 33 prac magisterskich: 21 na kierunku Farmacja i 12 na kierunku Kosmetologia.

W latach 2013-2017 opiekowałam się czterema studentami zagranicznymi odbywającymi praktyki w ramach programu Erasmus+: Dominika Simon, Uniwersytet Fryderyka Wilhelma w Bonn, Niemcy (10.2013-06.2014 r.), Timothy Scicluna, Uniwersytet Maltański, Malta (09-12.2014 r.), Anna Battisti, Uniwersytet w Ferrarze, Włochy (02-06.2016 r.), Natalia Tebar Martin, Uniwersytet w Madrycie, Hiszpania (09-12.2017 r.).

Podczas 26. Studenckiej Konferencji Naukowej IMSC 2018 w Krakowie poprowadziłam warsztaty naukowe pt. „In the morning or in the evening – does the time of taking medicine has an impact on their effect?” dla studentów uczelni medycznych.

8. DZIAŁALNOŚĆ ORGANIZACYJNA

Od 2001 r. czynnie działałam w Krakowskim Oddziale Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego pełniąc funkcje: skarbnika (w latach 2001-2009), członka (w latach 2013-2017), a następnie (od 2017 r.) przewodniczącego Komisji Rewizyjnej oraz sekretarza Sekcji Farmacji Klinicznej (od 2015 r.).

W latach 2000-2005 r. uczestniczyłam w przeprowadzaniu egzaminów wstępnych na studia na kierunkach Farmacja i Analityka Medyczna.

W 2016 r. współorganizowałam procedurę konkursową i uczestniczyłam w komisji konkursowej dotyczącej przyznania studenckiego stypendium w ramach grantu NCN Nr UMO-2015/19/B/NZ7/00227 „Ligandy receptorów 5-HT₆ jako dodatek do przeciwpsychotycznej terapii schizofrenii - wpływ na masę ciała, parametry metaboliczne, zaburzenia kognitywne, zaburzenia nastroju”.

Od 2016 r. jestem członkiem Komisji Socjalnej UJ CM, a także Rady Wydziału Farmaceutycznego UJ CM.

Anna Pertyka