

UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI COLLEGIUM MEDICUM



Autoreferat

Przedstawiający opis osiągnięć naukowych

DOROTA ŁAŻEWSKA

Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych

Wydział Farmaceutyczny

Kraków 2019

Spis treści

| | |
|--|-----------|
| 1. Dane osobowe | 3 |
| 2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe | 3 |
| 3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych | 3 |
| 4. Wykaz prac stanowiących osiągnięcie naukowe o którym mowa w art.16 ust.2 ustawy z 14 marca 2003 roku | 4 |
| 4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego..... | 4 |
| 4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego..... | 4 |
| 5. Omówienie prac stanowiących podstawę habilitacji | 7 |
| 5.1. Wprowadzenie..... | 7 |
| 5.2. Choroby neurodegeneracyjne..... | 7 |
| 5.3. Epilepsja..... | 8 |
| 5.4. Cel i zakres prac..... | 9 |
| 5.5. Omówienie związków z GRUPY I..... | 12 |
| 5.6. Omówienie związków z GRUPY II..... | 23 |
| 5.7. Omówienie związków z GRUPY III..... | 27 |
| 6. Podsumowanie osiągnięć naukowych stanowiących podstawę habilitacji | 33 |
| 7. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych | 35 |
| 7.1. Działalność naukowo-badawcza przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora..... | 35 |
| 7.1.1. Podsumowanie dorobku naukowego (związanego z pracą na Uniwersytecie Jagiellońskim Collegium Medicum) przed uzyskaniu stopnia naukowego doktora..... | 36 |
| 7.2. Działalność naukowo-badawcza po uzyskaniu stopnia naukowego doktora..... | 36 |
| 7.2.1. Działalność związana z receptorami H ₃ i H ₄ histaminowymi..... | 36 |
| 7.2.2. Działalność związana z innymi receptorami..... | 39 |
| 7.2.3. Podsumowanie działalności naukowo-badawczej..... | 39 |
| 7.2.4. Podsumowanie dorobku naukowego po uzyskaniu stopnia naukowego doktora..... | 40 |
| 8. Przedstawienie sumarycznego dorobku działalności naukowo-badawczej (2001-2019) | 40 |
| 9. Działalność organizacyjna | 40 |
| 10. Działalność dydaktyczna | 41 |
| 11. Piśmiennictwo | 42 |

1. Dane osobowe

Imię i nazwisko:

Dorota Łażewska (z d. Soja)

Miejsce zatrudnienia

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

Wydział Farmaceutyczny

Katedra Technologii i Biotechnologii Środków
Lecznicych

ul. Medyczna 9

30-688 Kraków

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytuł rozprawy doktorskiej

Doktor nauk farmaceutycznych – Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum -
2005

Rozprawa doktorska: „Poszukiwanie nieimidazolowych antagonistów receptorów
H₃ histaminowych”

Promotor: prof. dr hab. Katarzyna Kieć-Kononowicz

Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Lecznicych, Uniwersytet
Jagielloński Collegium Medicum

Mgr Chemii – Uniwersytet Jagielloński – **1994**

Praca magisterska: „Synteza analogów alkaloidów o układzie indeno[1,2-
b]pirydyny”

Promotor: dr Anna Kolasa

Zakład Chemii Organicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

Od **01.10.2012**- adiunkt

Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Lecznicych Uniwersytet
Jagielloński Collegium Medicum

1.10.2007- 30.09.2012 Asystent na stanowisku naukowo-dydaktycznym (1/2 etatu)

1.10.2005 - 31.01.2007 (1/2 etatu)

08.05.2001 - 30.11.2001 (1/2 etatu)

01.11.2000 - 30.04.2001 (1/2 etatu)

Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

1.10.1998 - 30.09.2000 Asystent (1/4 etatu)

Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

1.10.1998 – 30.03.2003 Studia doktoranckie Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum (przedłużone o 6 miesięcy - urlop macierzyński)

1.10.1995-30.09.1998 Asystent

Katedra Chemii Rolnej, Akademia Rolnicza w Krakowie

1.10.1994-30.09.1995 Asystent-Stażysta

Zakład Chemii Organicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

4. Wykaz prac stanowiących osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art.16 ust. 2 ustawy z 14 marca 2003 roku

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego: **Nowe ligandy receptorów H₃ histaminowych i 5-HT₆ serotoninowych o potencjalnej aktywności w ośrodkowym układzie nerwowym.**

4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

Podstawę niniejszej rozprawy habilitacyjnej stanowi cykl sześciu publikacji opublikowanych w czasopismach o międzynarodowym zasięgu w latach 2016-2019 i dotyczących ligandów o potencjalnej aktywności w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN). We wszystkich pracach jestem pierwszym autorem, w tym w dwóch "współ pierwszym" tzn. o równym stopniu zaangażowania pierwszego i drugiego autora. W pięciu pracach jestem również (współ)autorem korespondencyjnym. Zgodnie z analizą bibliometryczną sumaryczny **IF** tych publikacji wynosi **19,865**, a sumaryczna punktacja **MNiSW: 165**.

H1. Kamil J. Kuder[‡], **Dorota Łażewska[‡]**, Gniewomir Latacz, Johannes Stephan Schwed, Tadeusz Karcz, Holger Stark, Janina Karolak-Wojciechowska, Katarzyna Kieć-Kononowicz. *Chlorophenoxy aminoalkyl derivatives as histamine H₃R ligands and antiseizure agents*. Bioorg. Med. Chem. **2016**;24:53-72.

Impact Factor: 2,930

Punktacja MNiSW: 25

H2. **Dorota Łażewska^{*}**, Maria Kaleta, Johannes Stephan Schwed, Tadeusz Karcz, Szczepan Mogilski, Gniewomir Latacz, Agnieszka Olejarz, Agata Siwek, Monika Kubacka, Annamaria Lubelska, Ewelina Honkisz, Jadwiga Handzlik, Barbara Filipek, Holger Stark, Katarzyna Kieć-Kononowicz^{*}. *Biphenyloxy-alkyl-piperidine and azepane derivatives as histamine H₃ receptor ligands*. Bioorg. Med. Chem. **2017**;25:5341-5354.

Impact Factor: 2,881

Punktacja MNiSW: 25

H3. **Dorota Łażewska^{*}**, Maria Kaleta, Stefanie Hagenow, Szczepan Mogilski, Gniewomir Latacz, Tadeusz Karcz, Annamaria Lubelska, Ewelina Honkisz, Jadwiga Handzlik, David Reiner, Grzegorz Satała, Barbara Filipek, Holger Stark, Katarzyna Kieć-Kononowicz^{*}. *Novel naphthyloxy derivatives - Potent histamine H₃ receptor ligands. Synthesis and pharmacological evaluation*. Bioorg. Med. Chem. **2018**;26:2573-2585.

Impact Factor: 2,881

Punktacja MNiSW: 25

H4. **Dorota Łażewska^{*}**, Agnieszka Olejarz-Maciej, Maria Kaleta, Marek Bajda, Agata Siwek, Tadeusz Karcz, Agata Doroz-Płonka, Urszula Cichoń, Kamil J. Kuder, Katarzyna Kieć-Kononowicz. *4-tert-Pentylphenoxyalkyl derivatives - Histamine H₃ receptor ligands and monoamine oxidase B inhibitors*. Bioorg. Med. Chem. Lett. **2018**;28:3596-3600.

Impact Factor: 2,442

Punktacja MNiSW: 25

H5. **Dorota Łażewska^{**}**, Rafał Kurczab[‡], Małgorzata Więcek, Katarzyna Kamińska, Grzegorz Satała, Magdalena Jastrzębska-Więsek, Anna Partyka, Andrzej J. Bojarski, Anna Wesołowska, Katarzyna Kieć-Kononowicz, Jadwiga Handzlik^{*}. *The computer-aided discovery of novel family of the 5-HT₆ serotonin receptor ligands among derivatives of 4-benzyl-1,3,5-triazine*. Eur. J. Med. Chem. **2017**;135:117-124.

Impact Factor: 4,816

Punktacja MNiSW: 40

*autor korespondencyjny; [‡]autorzy byli w równym stopniu zaangażowani w przygotowanie tej publikacji

H6. Dorota Łażewska*, Rafał Kurczab, Małgorzata Więcek, Grzegorz Satała, Katarzyna Kieć-Kononowicz, Jadwiga Handzlik*. *Synthesis and computer-aided analysis of the role of linker for novel ligands of the 5-HT₆ serotonin receptor among substituted 1,3,5-triazinylpiperazines*. *Bioorg. Chem.* **2019**;84:319-325.

Impact Factor: 3,929

Punktacja MNiSW: 25

5. Omówienie prac stanowiących podstawę habilitacji

5.1. Wprowadzenie

Ośrodkowy układ nerwowy (OUN) składa się z mózgu oraz rdzenia kręgowego i koordynuje aktywność całego układu nerwowego, odpowiadając za jego funkcje życiowe oraz wyższe – myślenie, świadomość czy uczucia. Wszelkie nieprawidłowości strukturalne, biochemiczne lub elektryczne w przekazywaniu bodźców nerwowych w tym układzie powodują szereg objawów neurologicznych (np. porażenie, osłabienie mięśni, słabą koordynację, drgawki). Przyczyny tych nieprawidłowości są różne, ale do głównych możemy zaliczyć:

- Uwarunkowania genetyczne
- Urazy rdzenia kręgowego i mózgu
- Infekcje wywołane przez wirusy, bakterie czy grzyby
- Degenerację
- Padaczkę
- Udary
- Nowotwory

Choroby OUN powodują ogromny ból i cierpienie milionów pacjentów i ich rodzin. Leczenie tych chorób nie jest proste i często sprowadza się tylko do łagodzenia ich objawów, spowalniania ich przebiegu nie prowadząc do pełnego powrotu do zdrowia.

Do jednych z najważniejszych chorób OUN należą choroby neurodegeneracyjne oraz epilepsja (padaczka).

5.2. Choroby neurodegeneracyjne

Z roku na rok wzrasta liczba chorych cierpiących na choroby neurodegeneracyjne. Jedną z przyczyn tego wzrostu jest starzenie się społeczeństwa gdyż schorzenia te są silnie związane z wiekiem. Problem jest tak istotny, że naukowcy obecni na konferencji naukowej G7 tuż przed 43 szczytem G7 w Taorminie (Włochy) w 2017 roku przygotowali oświadczenie o starzeniu się społeczeństwa i zwrócili się z apelem do polityków by uznali tą sprawę za bardzo ważną [1]. Choroby neurodegeneracyjne są nieuleczalne, a stosowane obecnie leczenie pozwala jedynie spowolnić ich przebieg. Stąd też niezmiernie ważne jest nie tylko zrozumienie mechanizmów i przyczyn tych chorób, ale także znalezienie skutecznego sposobu ich leczenia. Istnieje wiele chorób neurodegeneracyjnych, które różnią się objawami (zaburzeniami poznawczymi, kontrolą motoryczną lub zaburzeniami nastroju), ale najczęstsze, takie jak choroba Alzheimera (AD) czy choroba Parkinsona (PD) cechuje

pewne podstawowe podobieństwo. Jest nim tworzenie się nierozpuszczalnych złogów specyficznych białek związanych z chorobą - β -amyloidu i białka tau w AD a α -synukleiny w PD [2]. Obecnie w terapii AD stosuje się: 3 inhibitory cholinesteraz (donepezil, galantaminę i riwastygminę) oraz antagonistę receptora NMDA - memantynę. Natomiast w terapii PD stosuje się lewodopę, agonistów dopaminy (np. pramipeksol, rotygotyna) czy inhibitory monoaminooksydazy B (np. selegilinę, rasagilinę czy safinamid). Często chorobom neurodegeneracyjnym towarzyszy depresja, więc konieczne jest również wprowadzenie leczenia przeciwdepresyjnego.

5.3. Epilepsja

Epilepsja, która charakteryzuje się powtarzającymi się napadami padaczkowymi, dotyka około 6 milionów ludzi w Europie [3].

Przyczyny epilepsji są złożone i często nie do końca poznane (nawet u połowy pacjentów) i mogą je powodować czynniki:

- idiopatyczne (brak ustalonej przyczyny),
- objawowe (np. udar mózgu, urazy głowy, guzy mózgu, infekcje),
- zaburzenia metaboliczne (np. zaburzenia w gospodarce elektrolitowej, mocznica, hiperglikemia)
- genetyczne (np. zmutowanie sekwencji DNA w genach kodujących kanały jonowe lub receptory neuroprzekaźników)

Padaczka może wystąpić w każdym wieku, ale najczęściej pojawia się u dzieci w ciągu pierwszego roku życia, a u ludzi starszych po 65 roku życia.

Obecnie dostępne na rynku leki przeciwpadaczkowe kontrolują jedynie napady padaczkowe, nie leczą jej ani nie potrafią zapobiegać jej rozwojowi u pacjentów z grupy wysokiego ryzyka, np. takich jak osoby z urazami mózgu. W ciągu ostatnich 25 lat wprowadzono do lecznictwa ponad 15 nowych leków przeciwpadaczkowych (np. lamotryginę 1991, perampanel 2012 [4]), ale nadal u około 25% pacjentów cierpiących na farmakooporną epilepsję drgawki nie są w pełni kontrolowane [5]. Ponadto wiele leków przeciwpadaczkowych wywołuje silne działania niepożądane np. zawroty głowy, zaburzenia poruszania się, zaburzenia zachowania, zaburzenia poznawcze czy trudności w koordynacji ruchowej. Dodatkowo wiele osób dotkniętych tym schorzeniem cierpi również z powodu chorób współistniejących, takich jak zaburzenia umysłowe, zaburzenia pamięci, zaburzenia psychiatryczne i behawioralne (np. depresja, agresja, zaburzenia osobowości) lub problemów społecznych (np. trudności w nawiązywaniu kontaktów społecznych), które zwiększają koszty ich opieki zdrowotnej.

5.4. Cel i zakres prac

Wchodzące w skład rozprawy habilitacyjnej prace opisują badania z zakresu chemii medycznej i dotyczą ligandów o potencjalnej aktywności w OUN. Są to ligandy dwóch receptorów, histaminowego H_3 i serotoninowego $5-HT_6$, których hamowanie wpływa korzystnie na funkcje poznawcze i procesy pamięciowe.

Receptory H_3 histaminowe (H_3R) należą do rodziny receptorów sprzężonych z białkiem G (GPCR). Są to presynaptyczne autoreceptory hamujące, które regulują syntezę i uwalnianie histaminy w neuronach histaminergicznym OUN. H_3R modulują również uwalnianie takich neuroprzekaźników jak acetylocholina, serotonina, noradrenalina, dopamina czy kwas glutaminowy [6]. Największa gęstość tych receptorów występuje w mózgu, zwłaszcza w regionach związanych z poznaniem, takich jak prążkowie, kora mózgowa czy hipokamp. Liczne badania farmakologiczne pokazują, że blokowanie tych receptorów zapewnia korzystne działanie w leczeniu różnych schorzeń w tym również OUN, np. narkolepsji, chorób neurodegeneracyjnych (np. choroba Alzheimera; AD, choroba Parkinsona; PD), zespołu nadpobudliwości psychoruchowej (ADHD), epilepsji, otyłości czy bólu neuropatycznego [7-9]. Ostatnie doniesienia literaturowe pokazują również korzystne działanie ligandów H_3R w zwierzęcych modelach stwardnienia rozsianego [10], zespołu Tourette'a [11], depresji [12,13], choroby Huntingtona [14] czy autyzmu [15,P39]. Od lat w poszukiwaniach aktywnych ligandów tych receptorów zaangażowanych jest wiele ośrodków naukowych oraz firm farmaceutycznych. Intensywne prace syntetyczne doprowadziły do otrzymania dużej liczby zróżnicowanych strukturalnie związków. Część z nich dotarła do badań klinicznych, ale jak na razie tylko jeden został wprowadzony na rynek jako Wakix – lek sierocy stosowany w terapii narkolepsji [16,17].

Receptory serotoninowe $5-HT_6$ ($5-HT_6R$) należą do rodziny GPCR i występują głównie w OUN, w obszarach mózgu zaangażowanych w kontrolę nastroju i funkcji poznawczych. Intensywne badania przedkliniczne wykazały, że antagoniści $5-HT_6R$ mogą być obiecującymi lekami w leczeniu otyłości i poprawiającymi funkcje poznawcze w schorzeniach psychiatrycznych (np. schizofrenii, depresji) czy chorobach neurodegeneracyjnych (np. AD) [18,19]. Niektóre badania pokazują, że nie tylko antagoniści ale i agoniści $5-HT_6R$ wykazują aktywność farmakologiczną w przedklinicznych modelach otyłości czy dysfunkcji poznawczych [20]. Od 1999 roku, kiedy opisano pierwszych selektywnych antagonistów $5-HT_6R$, otrzymano wiele związków, które wykazywały skuteczność farmakologiczną w badaniach przedklinicznych lub nawet dotarły do badań klinicznych, np. dimebon (wycofany po III fazie badań klinicznych) czy LUAE58054 (idalopirdine). Jednak, do tej pory żaden z ligandów $5-HT_6R$ nie został zarejestrowany jako lek.

Aktywność ligandów, zarówno H₃R jak i 5-HT₆R, w intensywnie prowadzonych badaniach przedklinicznych a nawet klinicznych zachęca do dalszego poszukiwania nowych ligandów tych receptorów o wysokim powinowactwie i korzystnych parametrach fizykochemicznych stanowiąc wyzwanie dla naukowców.

Głównym zadaniem badawczym prac wchodzących w skład cyklu habilitacyjnego było zaprojektowanie i synteza serii połączeń chemicznych o spodziewanej aktywności farmakologicznej w OUN. Ponadto przeprowadzono także analizę zależności struktura-aktywność (SAR) dzięki skriningowi farmakologicznemu *in vitro*. W niektórych przypadkach analiza SAR została wzbogacona modelowaniem molekularnym oddziaływań białko-ligand oraz badaniami nad „lekoopodobieństwem” w modelach *in silico* i *in vitro*. Badania *in vivo* szacujące skuteczność wybranych związków w zwierzęcych modelach chorobowych dla niektórych z nich zostały już ukończone i opisane, a dla innych prace są w toku. Wszystkie związki do badań *in vivo* wybrane zostały na podstawie wyników badań farmakologicznych *in vitro*, głównie siły powinowactwa do badanych receptorów oraz aktywności wobec innych celów biologicznych np. hamowania MAO B, hamowania cholinoesteraz.

Oryginalne prace wchodzące w skład rozprawy habilitacyjnej zostały podzielone na III GRUPY według projektów, w ramach których były wykonywane. Związki GRUPY I i II to ligandy receptorów H₃ histaminowych, a związki GRUPY III to ligandy receptorów serotoninowych 5-HT₆.

GRUPA I – badania prowadzono w ramach projektu NCN, MAESTRO I "RECEPTORY H₃/H₄ HISTAMINOWE JAKO ATRAKCYJNY CEL POSZUKIWAŃ SUBSTANCJI BIOLOGICZNIE AKTYWNYCH". UMO-2011/02/A/NZ4/00031, kierownik: prof. dr hab. Katarzyna Kieć-Kononowicz, 18.05.2012- 17.12.2017

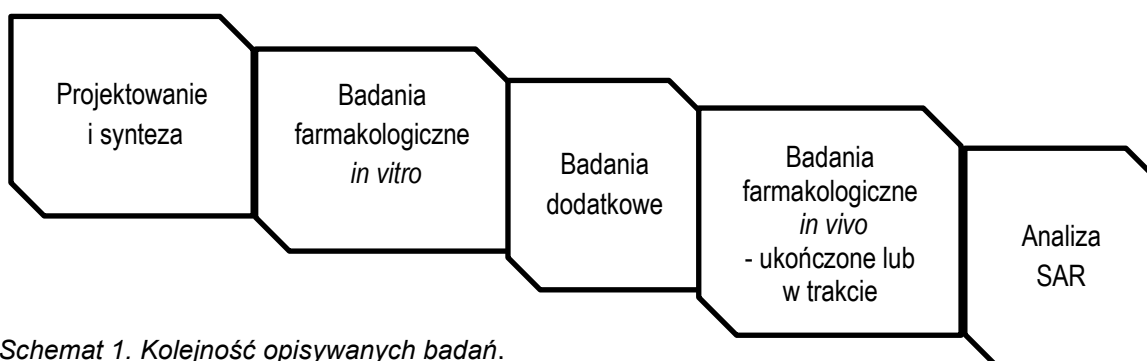
GRUPA II – badania prowadzono w ramach projektu NCN OPUS12 „NOWA PERSPEKTYWA W TERAPII CHOROBY ALZHEIMERA – WIELOFUNKCYJNE LIGANDY RECEPTORA H₃ HISTAMINOWEGO?”- UMO-2016/23/B/NZ7/02327, (**projekt, w którym pełnię funkcję kierownika**), 25.07.2017-24.07.2020.

GRUPA III – badania prowadzono w ramach projektu NCN OPUS9 „TRIAZYNOWE LIGANDY RECEPTORA SEROTONINOWEGO 5-HT₆ - NOWA PERSPEKTYWA W TERAPII WSPÓŁCZESNYCH CHORÓB CYWILIZACYJNYCH” - UMO-2015/17/B/NZ7/02973, kierownik: dr hab. Jadwiga Handzlik, prof. UJ, 16.02.2016-15.02.2019.

Badania opisane w rozprawie habilitacyjnej mają charakter multidyscyplinarny i wymagały współpracy wielu osób. Prace syntetyczne, niektóre badania farmakologiczne *in vitro* (profil aktywności H₃, hamowanie monoaminooksydazy B) czy badania dodatkowe (np. badania ADMETox, lipofilowości, modelowania i dokowania do receptora H₃ histaminowych) zostały wykonane w Katedrze Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych UJ CM. Pozostałe prace zostały wykonane we współpracy z następującymi ośrodkami w kraju i zagranicą:

- ✓ panią prof. dr hab. Barbarą Filipek oraz panem dr Szczepanem Mogilskim i panią dr Moniką Kubacką z Katedry Farmakodynamiki UJ CM – badania farmakologiczne *in vivo* zsyntetyzowanych ligandów receptorów H₃ histaminowych
- ✓ panem prof. dr hab. Andrzejem Bojarskim oraz panem dr Rafałem Kurczabem i panem dr Grzegorzem Satałą z Zakładu Chemii Leków Instytutu Farmakologii PAN – badania związane z receptorem serotoninowym 5-HT₆ (badania *in vitro* powinowactwa, testy funkcjonalne, modelowanie i dokowanie)
- ✓ panią prof. dr hab. Anną Wesołowską oraz panią dr hab. Magdaleną Jastrzębską-Więsek z Zakładu Farmacji Klinicznej UJ CM – badania aktywności przeciwdepresyjnej ligandów receptorów serotoninowych 5-HT₆
- ✓ panem dr hab. Markiem Bajdą z Zakładu Fizykochemicznej Analizy Leku UJ CM- modelowanie dotyczące hamowania monoaminooksydazy A i B
- ✓ panią dr Agatą Siwek (Pracownia Badań Receptorowych Katedry Farmakobiologii UJ CM) - badania farmakologiczne *in vitro* określające powinowactwo do receptorów histaminowych (H₃ i H₁)
- ✓ panem prof. dr dr h.c. Holgerem Starkiem i jego zespołem (m.in. panią dr Stefanie Hagenow, panem dr J.Stephanem Schwedem) z Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gdzie były prowadzone badania farmakologiczne dotyczące powinowactwa do receptora H₃ i H₄ histaminowego

W przedstawionych w cyklu habilitacyjnym oryginalnych pracach uzyskane wyniki omawiane są zgodnie z poniższym *Schematem 1*:



Schemat 1. Kolejność opisywanych badań.

5.5. Omówienie związków z GRUPY I

W GRUPIE I publikacje dotyczą syntezy i aktywności biologicznej pochodnych chlorofenoksyalkiloamin [H1], pochodnych bifenyloksyalkiloamin [H2] i pochodnych naftyloksyalkiloamin [H3]:

[H1]. Kamil J. Kuder[‡], **Dorota Łażewska[‡]**, Gniewomir Latacz, Johannes Stephan Schwed, Tadeusz Karcz, Holger Stark, Janina Karolak-Wojciechowska, Katarzyna Kieć-Kononowicz*. *Chlorophenoxy aminoalkyl derivatives as histamine H₃R ligands and antiseizure agents*. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**;24:53-72.

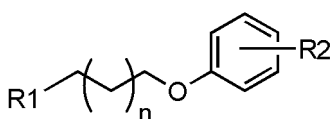
[H2]. **Dorota Łażewska***, Maria Kaleta, Johannes Stephan Schwed, Tadeusz Karcz, Szczepan Mogilski, Gniewomir Latacz, Agnieszka Olejarz, Agata Siwek, Monika Kubacka, Annamaria Lubelska, Ewelina Honkisz, Jadwiga Handzlik, Barbara Filipek, Holger Stark, Katarzyna Kieć-Kononowicz*. *Biphenyloxy-alkyl-piperidine and azepane derivatives as histamine H₃ receptor ligands*. *Bioorg. Med. Chem.* **2017**;25:5341-5354.

[H3]. **Dorota Łażewska***, Maria Kaleta, Stefanie Hagenow, Szczepan Mogilski, Gniewomir Latacz, Tadeusz Karcz, Annamaria Lubelska, Ewelina Honkisz, Jadwiga Handzlik, David Reiner, Grzegorz Satała, Barbara Filipek, Holger Stark, Katarzyna Kieć-Kononowicz*. *Novel naphthyloxy derivatives - Potent histamine H₃ receptor ligands. Synthesis and pharmacological evaluation*. *Bioorg. Med. Chem.* **2018**;26:2573-2585.

Projektowanie
i synteza

Wszystkie związki zostały zaprojektowane jako modyfikacje wcześniej opisanych struktur otrzymanych w Katedrze Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych UJ CM i doniesień literaturowych.

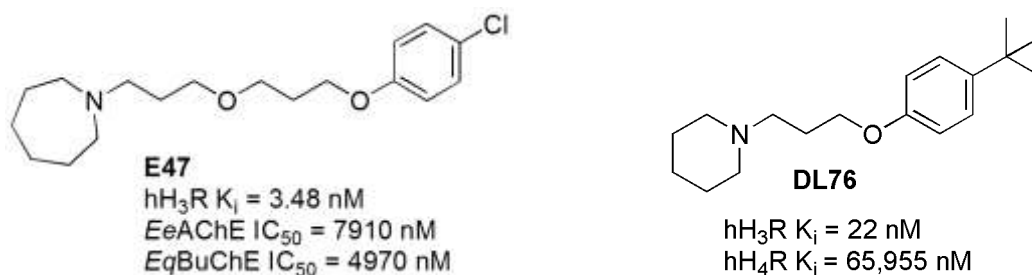
W publikacji [H1] przedstawiono syntezę 20 nowych pochodnych chlorofenoksyalkiloamin o ogólnym wzorze - SERIA I-H:



| Związki (9-28)* | | | | | | | |
|-----------------|---|-----------|-----------|----|---|-----------|-----------|
| R1 | n | R2 | | R1 | n | R2 | |
| | | 4-Cl | 3-Cl | | | 4-Cl | 3-Cl |
| | 3 | 9 | --- | | 3 | 11 | --- |
| | 4 | 17 | 13 | | 4 | 19 | 15 |
| | 5 | 25 | 21 | | 5 | 27 | 23 |
| | 3 | 10 | --- | | 3 | 12 | --- |
| | 4 | 18 | 14 | | 4 | 20 | 16 |
| | 5 | 26 | 22 | | 5 | 28 | 24 |

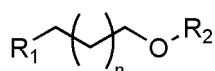
*numeracja zgodna z opisem w publikacji [H1]

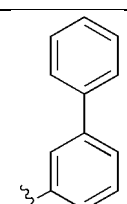
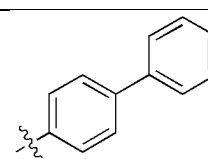
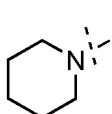
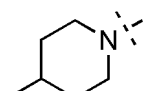
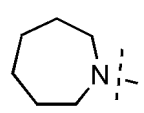
Jako strukturę wiodącą wybrano związek **E47** [P13, P32] (Rys. 1) i zaplanowano syntezę analogów monoeterowych oraz zmianę położenia atomu chloru z pozycji *para* do pozycji *meta* (w podstawniku fenylowym).



Rys. 1. Struktura i aktywność związków wyjściowych do syntezy nowych ligandów receptorów H_3 histaminowych.

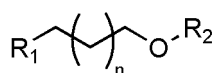
W publikacji [H2] opisano 12 nowych związków jako modyfikacje strukturalne związku **DL76** (Rys 1.) [P9] – SERIA II-H:

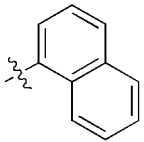
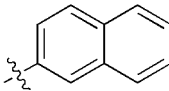
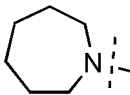
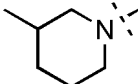
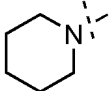
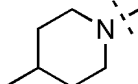


| Związki (8-19)* | | | |
|---|---|---|--|
| R1 | n | R2 | |
| | |  |  |
|  | 3 | 8* | 14 |
| | 4 | 11 | 17 |
|  | 3 | 9 | 15 |
| | 4 | 12 | 18 |
|  | 3 | 10 | 16 |
| | 4 | 13 | 19 |

*numeracja zgodna z opisem w publikacji [H2]

W publikacji [H3] opisano 16 nowych związków dalsze modyfikacje **DL76** – *SERIA III-H*:



| Związki (6,7, 9-22)* | | | |
|---|---|---|--|
| R1 | n | R2 | |
| | |  |  |
|  | 3 | 11 | 19 |
| | 4 | 6 | 15 |
|  | 3 | 12 | 20 |
| | 4 | 7 | 16 |
|  | 3 | 13 | 21 |
| | 4 | 9 | 17 |
|  | 3 | 14 | 22 |
| | 4 | 10 | 18 |

*numeracja zgodna z opisem w publikacji [H3]

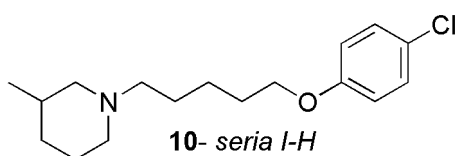
Zaprojektowane ligandy zostały otrzymane w wyniku 2-etapowych reakcji. W 1-etapie przeprowadzono alkirowanie 3- lub 4-chlorofenolu, *para*- lub *meta*-difenolu 1- lub 2-naftolu, odpowiednimi dibromkami alkilowymi w roztworze propanolanu sodu w propanolu, a w 2-etapie *N*-alkilowanie powstałych bromków aminami cyklicznymi (piperydyną, 3- lub 4-metylopiperydyną, azepanem).

Badania
farmakologiczne
in vitro

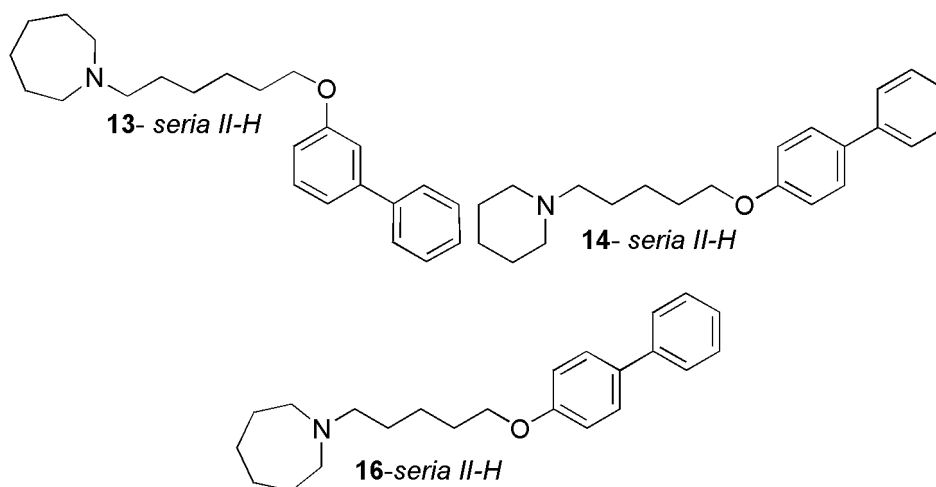
Badania powinowactwa do receptorów H₃ histaminowych zostały przeprowadzone przez zespół pana prof. dr dr h.c. Holgera Starke z Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (Niemcy) w ramach współpracy jaka od lat istnieje między panią prof. dr hab. K. Kieć-Kononowicz a p. prof. dr dr h.c. H. Starkiem.

W badaniach wiązania do receptorów H₃ histaminowych wykorzystano testy radioreceptorowe na liniach ludzkich komórek HEK239 z trwałą, stałą nadekspresją receptorów H₃ histaminowych. Jako radioligand stosowano [³H] N- α -metylohistaminę. Testy przeprowadzono zgodnie z opisem podanym przez Kottke *et al.* [21].

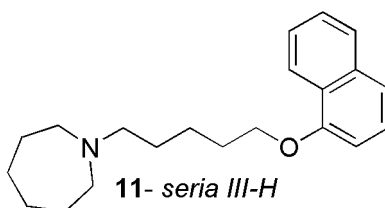
SERIA I-H. Związki te charakteryzowało umiarkowane powinowactwo do ludzkich receptorów H₃ histaminowych (K_i: 128 nM – 805 nM). Do najbardziej aktywnych struktur należą m.in. związek **10** (K_i: 133 nM).



SERIA II-H. Związki te charakteryzowała wyższa aktywność wobec receptorów H₃ histaminowych (K_i: 18 nM – 266 nM). Najbardziej aktywne struktury to związki **13** (K_i: 18 nM) **14** (K_i: 25 nM) i **16** (K_i: 34 nM).



SERIA III-H. Związki te charakteryzowała wysoka aktywność wobec receptorów H₃ histaminowych (K_i: 22 nM – 126 nM). Najbardziej aktywnym w całej serii okazał się związek **11** (K_i: 22 nM).



Badania
dodatkowe

Dla wybranych najbardziej aktywnych związków wykonane zostały dodatkowe badania określające ich profil aktywności in vitro (antagonizm), selektywność wobec wybranych receptorów GPCR, badania ADMETox czy modelowanie.

SERIA I-H. Badania w teście akumulacji cyklicznego 3',5'-adenozynomonofosforanu (cAMP) wykazały *antagonizm* związku **10** ($EC_{50} = 72 \text{ nM}$). Dla związku **10** przeprowadzono symulację komputerową *in silico* (oprogramowaniem MetaSite) oraz badania *stabilności metabolicznej in vitro* (w ludzkich mikrosomach wątroby) i wyznaczenie metabolitów metodą LC-MS/MS. Badania te pokazały tworzenie 2 metabolitów tego związku - produktów mono- i dihydroksylacji. Dla związków z tej serii przeprowadzono również badania *lipofilowości* metodą chromatografii planarnej na odwróconych fazach. Obliczone wartości parametru R_{M0} dla badanych związków były w przedziale 0,914 do 1,505. Wyniki tych badań porównano z wynikami otrzymanymi na podstawie obliczeń teoretycznych stosując programy QikProp (clogP: 4,513-5,722), Chem3D (clogP: 5,187-6,804) i Marvin (0,81-2,14).

SERIA II-H. Związki **14** i **16**, najbardziej aktywne w badaniach *in vitro* wykazały silny *antagonizm* w teście akumulacji cAMP ($IC_{50} = 4 \text{ nM}$ i $IC_{50} = 9 \text{ nM}$, odpowiednio). Ponadto, związki **14** i **16** charakteryzowało bardzo słabe powinowactwo do receptorów H_4 histaminowych ($K_i > 19 \mu\text{M}$) i niska *toksyczność* (hamowanie kanałów potasowych hERG $IC_{50} > 1,70 \mu\text{M}$; hepatotoksyczność $IC_{50} > 12,50 \mu\text{M}$, brak mutagenności do $10 \mu\text{M}$). Dodatkowo *stabilność metaboliczną* tych związków oceniono *in silico* (programem MetaSite) oraz w badaniach *in vitro* na mikrosomach ludzkiej wątroby (HLM) i / lub mikrosomach wątroby szczura (RLM). Stwierdzono łatwą hydroksylację pierścienia bifenylowego. Dalsze badania *stabilności metabolicznej* związku **16** pokazały, że aktywność tego związku może być związana z jego metabolitem M1 (produktem hydroksylacji) ze względu na stosunkowo dużą ilość tego metabolitu obserwowaną w chromatogramie masowym (UPLC) po 30 minutach inkubacji, jak również duży klirens ($Cl_{int} = 52,90 \text{ cm}^3/\text{min}/\text{kg}$) i krótki okres półtrwania ($t_{1/2} = 23,6 \text{ min}$).

SERIA III-H. Związki **11** i **13**, najbardziej aktywne w badaniach *in vitro* wykazały umiarkowany *antagonizm* w teście akumulacji cAMP ($IC_{50} = 312 \text{ nM}$ i $IC_{50} = 165 \text{ nM}$, odpowiednio). Dodatkowo dla związków **11** i **13** oszacowano ich powinowactwo do wybranych receptorów histaminowych (H_1 i H_4), dopaminowych (D_1 , D_2 , D_3 i D_5) oraz serotoninowych (5-HT_{2A} , 5-HT_6 i 5-HT_7). Receptory te wybrano ze względu na:

- ✓ największe podobieństwo do receptorów H_3 histaminowych – receptory H_4 histaminowe

- ✓ działanie przeciwdrgawkowe – receptory H₁ histaminowe
- ✓ tworzenie heteromerycznych kompleksów z receptorami D₁ i D₂; receptory D₅ oraz D₃ wykazują odpowiednio najwyższe podobieństwo do D₁ i D₂ – receptory dopaminowe
- ✓ rozmieszczenie w OUN, szczególnie w obszarach związanych z uczeniem się i pamięcią (5-HT_{2A}; 5-HT₆); opisane działanie przeciwbólne niektórych ligandów 5-HT₆ i 5-HT₇ – receptory serotoninowe

Związki **11** i **13** wykazały aktywność < 30% w stężeniu 1 μM wobec badanych receptorów histaminowych i dopaminowych oraz słabe powinowactwo do receptorów serotoninowych (K_i > 1,8 μM). Wybrane związki **11-13** w testach toksyczności (wpływ na żywotność komórek HEK293, *neuroblastoma* IMR32 i *hepatoma HepG2*) wykazały słabą aktywność w porównaniu do doksorubicyny. W stężeniu < 25 μM związki te charakteryzowało również słabe hamowanie aktywności cytochromu CYP3A4 oraz brak mutagenności w teście Ames.

Badania farmakologiczne
in vivo

Badania wybranych związków szacujące ich potencjalne wykorzystanie w leczeniu przeprowadzone zostały lub są w trakcie badań w następujących zespołach:

- *badania przeciwdrgawkowe* – w ramach amerykańskiego Programu Rozwoju Leków Przeciwpadaczkowych, *Antiepileptic Drug Development Program (ADD)* oraz w zespole pana dr Bassema Sadka z United Arab Emirates University (Zjednoczone Emiraty Arabskie)
- *badania behawioralne* – w zespole pani prof. dr hab. Barbary Filipek z Katedry Farmakodynamiki UJ CM w Krakowie oraz w zespole pana dr Bassema Sadka z United Arab Emirates University (Zjednoczone Emiraty Arabskie)
- *badania przeciwbólne* - w zespole pani prof. dr hab. Barbary Filipek z Katedry Farmakodynamiki UJ CM w Krakowie oraz w zespole pani prof. dr hab. Joanny Mika z Zakładu Farmakologii Bólu Instytutu Farmakologii PAN

Badania przeciwdrgawkowe

SERIA I-H. Badania przeciwdrgawkowe zostały wykonane w ramach amerykańskiego Programu Rozwoju Leków Przeciwpadaczkowych, *Antiepileptic Drug Development Program (ADD)*.

W ramach tego programu **ADD** wszystkie związki z tej serii (w dawkach 3, 30, 100 lub/ i 300 mg/kg) przebadano w testach przesiewowych (badania na myszach, podanie dootrzewnowe *i.p.*) obejmujących:

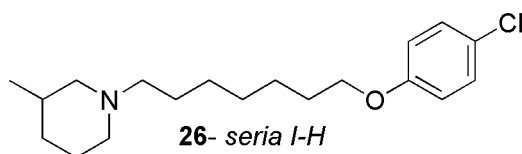
- test maksymalnego wstrząsu (MES) gdzie drgawki wywoływane są prądem elektrycznym (odpowiadają drgawkom padaczki typu *grand mal*)
- test pentetrazolowy (scMET) gdzie drgawki wywoływane są pentetrazolem (drgawki odpowiadające modelowi padaczki typu *petit mal*)
- badanie neurotoksyczności w teście obracającego się pręta (TOX)

Związki aktywne w tych testach, które w badanych dawkach nie wykazywały neurotoksyczności zostały następnie przebadane w teście MES na szczurach (po podaniu doustnym, *p.o.*). Dodatkowo wybrane związki zbadano w teście 6Hz gdzie drgawki wywoływane są prądem o natężeniu 32 mA i/lub 44 mA. Cztery najbardziej obiecujące związki (**18**, **19**, **20** i **26**) zostały wybrane do oznaczenia wartości ED₅₀ i TD₅₀ (myszy i/lub szczury; *i.p.*). Wyniki przedstawiono w Tabeli 1. Obliczono też indeks terapeutyczny PI.

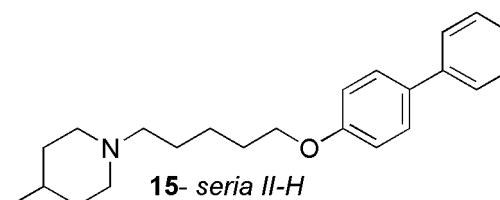
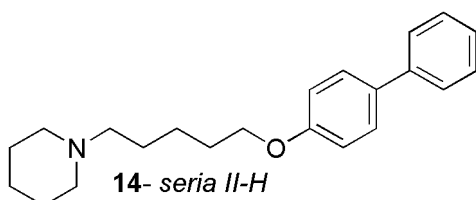
Table 1. Wartości ED₅₀ i TD₅₀ dla najbardziej aktywnych związków (myszy i/lub szczury; *i.p.*)

| związek | gatunek zwierzęcia | MES ED ₅₀ [mg/kg] (95% przedział ufności) | scMET ED ₅₀ [mg/kg] | TOX TD ₅₀ [mg/kg] (95% przedział ufności) | PI TD ₅₀ /ED ₅₀ |
|-----------|--------------------|--|--------------------------------------|--|--|
| 18 | mysz | 16.80 ^a (13.3 – 19.3) | > 50 ^a | 50.40 ^a (45.4-57.4) | 3 |
| 19 | mysz | 13.04 ^b (11.31-15.16) | > 30 ^b | 40.77 ^a (39.4-41.8) | 3.1 |
| 20 | szczur | 14.00 ^a (8.4 – 18.7) | > 44 ^a | 44.10 ^a (38.3-48.5) | 3.2 |
| 26 | mysz | 16.14 ^a (14.89-17.3) | > 47 ^a | 48.28 ^a (45.6-52.1) | 3 |
| | szczur | 13.18 ^c (8.06-18.78) | > 50 ^b | 50.35 ^b (45.7 -55.8) | 3.8 |

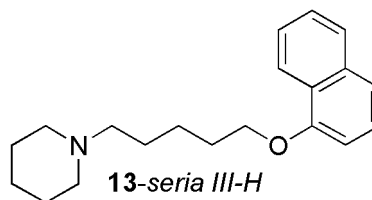
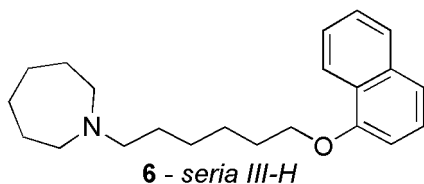
^a wyniki obserwowane po czasie 0,25h od podania; ^b wyniki obserwowane po czasie 0,5h od podania; ^c wyniki obserwowane po czasie 1h od podania testowanego związku.



SERIA II-H – Z tej serii żaden ze związków nie był przebadany w programie **ADD**. Dwa związki z tej serii (**14** i **15**) w dawce 10 mg/kg (szczury; i.p.) były przebadane w testach przeciwdrgawkowych przez zespół pana dr Bassema Sadka w teście MES, PTZ (drgawki wywołane pentetrazolem; 60 mg/kg i.p.) oraz STR (drgawki wywołane strychniną; 3,5 mg/kg i.p.). Wyniki tych badań zostały opisane w publikacji niewchodzącej w skład cyklu habilitacyjnego [P36]. Badane związki nie wykazywały aktywności w teście MES, natomiast wykazały umiarkowane działanie w teście PTZ - związek **14**, a w teście STR - związek **15**.

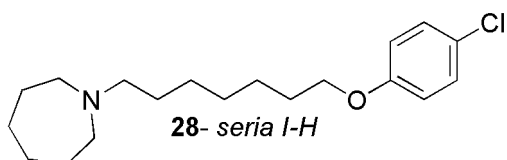


SERIA III-H – W tej grupie związków jedynie związek **13** został zakwalifikowany do badań przesiewowych w programie **ADD**. Związek ten hamował drgawki indukowane przez MES z $ED_{50} = 19,2$ mg/kg (myszy, i.p.), $ED_{50} = 17,8$ mg/kg (szczury, i.p.) i $ED_{50} = 78,1$ mg/kg (szczury, p.o.). Ponadto, związek **13** wykazywał ochronę przeciw drgawkom indukowanym prądem 6Hz o natężeniu 32 mA (myszy; i.p.) z $ED_{50} = 33,1$ mg/kg i prądem 6Hz o natężeniu 44 mA z $ED_{50} = 57,2$ mg/kg (myszy; i.p.). Natomiast cztery związki (**6**, **7**, **11** i **12**) były przebadane w testach przeciwdrgawkowych (MES, PTZ i STR) przez zespół pana dr Bassema Sadka. Wyniki tych badań zostały opisane w publikacjach niewchodzących w skład cyklu habilitacyjnego: związki **6** i **7** w publikacji Sadek *et al.* [P34], a związki **11** i **12** w publikacji Alachkar *et al.* [P35]. Z badanych związków najbardziej znaczący efekt ochronny wykazał związek **6** w modelu MES (szczury) w dawce 10 mg/kg i.p. Dalsze badania pokazały podobną aktywność tego związku również w dawkach 5 mg/kg i 20 mg/kg. Efekt ten został zniesiony gdy związek **6** (10 mg/kg i.p.) był podawany jednocześnie z piryłaminą (10 mg/kg i.p. antagonistą receptorów H_1 histaminowych przenikającym do OUN) co sugeruje, że działanie poprzez receptory H_1 histaminowe może mieć swój udział w obserwowanej aktywności związku **6**. Ponadto, w testach PTZ i STR podanie **6** (10 mg/kg i.p.) zapewniało umiarkowane działanie ochronne.

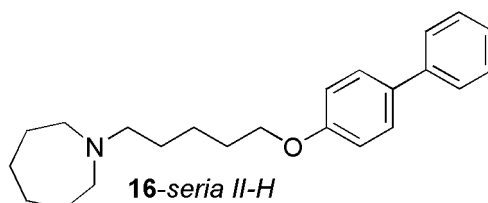


Badania behawioralne -Testy szacujące wpływ na funkcje pamięciowe

SERIA I-H. W przedstawionej do rozprawy habilitacyjnej publikacji [H1] nie opisano badań behawioralnych dla badanych związków, ale jedno połączenie (związek **28**) jest obecnie w badaniach *in vivo* na myszach, u których wywołano autyzm podaniem kwasu walproinowego. Aktywność tego związku jest oceniana w różnych testach behawioralnych (np. podniesionego labiryntu) przez zespół pana dr Bassema Sadka.

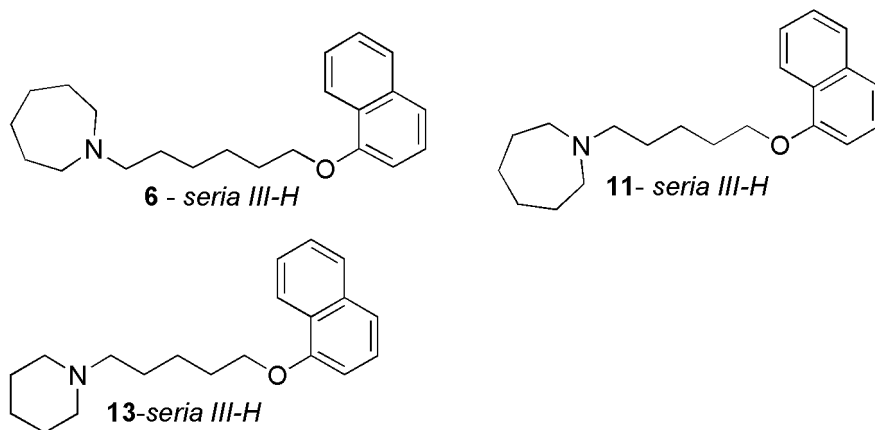


SERIA II-H. Związki **14** i **16** hamowały polidypsję wywołaną przez (R)- α -metylohistaminę (agonistę receptorów H_3 histaminowych) u szczurów ($ED_{50} = 2,72$ mg/kg – **14** i $ED_{50} = 1,75$ mg/kg – **16**) co potwierdziło zdolność tych związków do przechodzenia przez barierę krew-mózg oraz *funkcjonalny antagonizm*. Dane literaturowe pokazują, że aktywność w tym modelu pozwala przewidywać skuteczność w badaniach funkcji poznawczych [22], dlatego najbardziej obiecujący związek **16** jest obecnie w dalszych badaniach farmakologicznych *in vivo*, które pokazują jego zdolność do odwracania efektu *zaburzeń pamięci* wywołanych podaniem skopolaminy w *teście biernego unikania* (ang. „passive avoidance test”) i w *labiryncie wodnym Morrisa* [23].



SERIA III-H. *Funkcjonalny antagonizm* związków **11** i **13** został potwierdzony w badaniach *in vivo*. Związki te hamowały polidypsję u szczurów z $ED_{50} = 3.68$ mg/kg dla **11** i $ED_{50} = 2,37$ mg/kg – **13**. W *teście biernego unikania* zostały przebadane związki **6**, **11** i **13**.

Zaburzenia pamięci u myszy wywołane skopolaminą (1 mg/kg) były odwracane przez te związki w różnych dawkach: **6** – 15 mg/kg i 30 mg/kg; **11**- 10 mg/kg i 15 mg/kg i **13** – 20 mg/kg i 30 mg/kg. Dodatkowo w badaniu wpływu na aktywność lokomotoryczną (dawka 15 mg/kg) wykazano, że połączenia zawierające pierścień azepanu (**6** i **11**) w dawce 15 mg/kg nie wywołują działania sedatywnego, a związek **13** (pochodna piperydyny) w tej dawce powoduje sedację.



Badania przeciwbólowe

SERIA I-H. W przedstawionej do rozprawy habilitacyjnej publikacji [**H1**] nie ma opisanych wyników badań aktywności przeciwbólowej ale jeden ze związków z tej serii (związek **26**) jest obecnie badany przez zespół pani prof. dr hab. Joanny Mika z Zakładu Farmakologii Bólu IF PAN.

SERIA II-H – Związki z tej serii nie były badane w tym kierunku.

SERIA III-H - Związki (**6**, **11** i **13**) badane były w *teście formalinowym*. Ból został wywołany podskórnym podaniem 2,5% roztworu formaliny i objawiał się lizaniem i gryzieniem obolałej łapy. W teście tym można wyodrębnić dwie fazy: fazę ostrą (f.1) oraz fazę przewlekłą (f.2). Badane związki znacznie zmniejszyły odpowiedź na ból w obu fazach testu. Wartości ED₅₀ otrzymane dla tych związków w fazie ostrej (f.1) wynosiły odpowiednio 28,26 mg/kg, 30,62 mg/kg i 31,15 mg/kg dla związków **6**, **11** i **13**. Wartości ED₅₀ otrzymane dla związków **6** i **11** w fazie późnej (f.2) były niższe niż w f.1 i wynosiły odpowiednio 18,09 mg/kg (**6**) i 20,76 mg/kg (**11**), podczas gdy wartość ED₅₀ uzyskana dla związku **13** była podobna do tej z wczesnej fazy i wynosiła 30,01 mg/kg. W porównaniu ze związkami referencyjnymi (morfina, kwasem acetylosalicylowym), wartości ED₅₀ otrzymane dla badanych związków we wczesnej fazie testu były wyższe niż uzyskane dla morfiny (2,38 mg/kg), podczas gdy ED₅₀ otrzymane w późnej fazie mieściło się w zakresie

aktywności kwasu acetylosalicylowego, który był aktywny tylko w drugiej fazie z wartością $ED_{50} = 25,24$ mg/kg. Ponadto związek **13** był badany przez zespół pani prof. dr hab. Joanny Mika w *mysim modelu bólu neuropatycznego* (model CCI), który polega na odwracalnym jednostronnym uszkodzeniu nerwu kulszowego. Wyniki tych badań zostały opisane w pracy nie wchodzącej w skład rozprawy habilitacyjnej [P40]. Analgezę mierzono w *teście von Freya* oraz *teście zimnej płytki*. W przeprowadzonych badaniach wykazano, że związek **13** ma właściwości analgetyczne i działanie wzmacniające efekt przeciwbólowy morfiny.



Analiza struktura-aktywność w całej GRUPIE I (SERIA I- H, SERIA II-H, SERIA –III-H) pokazała, że:

- ❖ *największą aktywność farmakologiczną w badaniach in vitro wykazywały pochodne 3-metylopiperydyny lub/i azepanu*
- ❖ *najkorzystniejsza długość łańcucha węglowego to 5 atomów węgla*
- ❖ *większą siłę wiązania z receptorem miały związki z podstawnikiem w pozycji „para” w pierścieniu benzenu (4-chlor czy 4-fenyl)*

PODSUMOWANIE BADAŃ ZWIĄZKÓW GRUPY I

Do największych osiągnięć opisanych w tej grupie publikacji należy:

- *zaprojektowanie i otrzymanie nowych ligandów receptorów H_3 histaminowych*
- *uzyskanie związków o wysokiej aktywności wobec receptorów H_3 histaminowych*
- *potwierdzenie aktywności wybranych ligandów **w badaniach in vivo**.*
- *otrzymanie **związku 13** (seria III-H) o wysokiej aktywności w badaniach przeciwdrgawkowych i przeciwbólowych. Związek ten charakteryzuje selektywność (Tabela 2) wobec innych receptorów histaminowych (H_1 i H_4 ; $K_i > 1800$ nM), słabe powinowactwo do receptorów serotoniny ($5-HT_{2A}$, $5-HT_6$, $5-HT_7$; $K_i > 2000$ nM) i dopaminowych (% hamowania $< 13\%$). Ponadto związek ma niską toksyczność (Tabela 3) i dużą stabilność metaboliczną.*

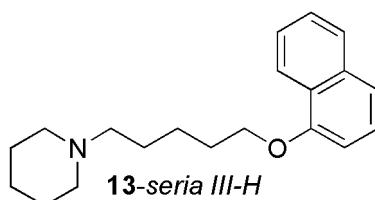


Tabela 1. Aktywność związku **13** (*SERIA III-H*) wobec wybranych receptorów histaminowych, dopaminowych i serotoninowych

| Receptory histaminowe | | | Receptory dopaminowe | | | | Receptory serotoninowe | | |
|-----------------------|-------------------|-------------------|-------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------------|-------------------|-------------------|
| K _i (nM) | | | (% hamowania w stężeniu 1 μM) | | | | K _i (nM) | | |
| hH ₃ R | hH ₁ R | hH ₄ R | hD ₁ R | hD ₅ R | hD ₂ R | hD ₃ R | 5-HT _{2A} | 5-HT ₆ | 5-HT ₇ |
| 53,9 | 1824 | 58 500 | 7% | -12% | 2% | 12% | 3905 | 2539 | 2307 |

Tabela 2. Toksyczność związku **13** (*SERIA III-H*)

| Toksyczność IC ₅₀ (nM) | | | | |
|-----------------------------------|------------------|-------------------|---------|---------------------|
| cytotoksyczność | neurotoksyczność | hepatotoksyczność | CYP3A4 | hERG |
| HEK293 | IMR-32 | HepG2 | | |
| > 50 000 | > 50 000 | > 50 000 | >25 000 | 31% (stężenie 1 μM) |

5.6. Omówienie związków z GRUPY II.

W tej grupie opisane są pierwsze związki otrzymane w ramach poszukiwania wielofunkcyjnych ligandów receptorów H₃ histaminowych (projekt NCN Opus 12) (publikacja [**H5**]). Jednym z celów tego projektu jest otrzymanie połączeń działających hamująco zarówno na receptory H₃ histaminowe jak i na monoaminooksydazę B (MAO B).

MAO B bierze udział w regulacji poziomu neuroprzekaźników (m.in. dopaminy, serotoniny) oraz w procesach prowadzących do uszkodzenia komórek nerwowych w tym neuronów cholinergicznym. W mózgu aktywność MAO B zwiększa się z wiekiem i jest podwyższona w niektórych chorobach zwyrodnieniowych, takich jak choroba Parkinsona, choroba Alzheimera czy choroba Huntingtona. Hamowanie MAO B wzmacnia aktywność endogennej i egzogennej dopaminy i może zapobiegać neurodegeneracji.

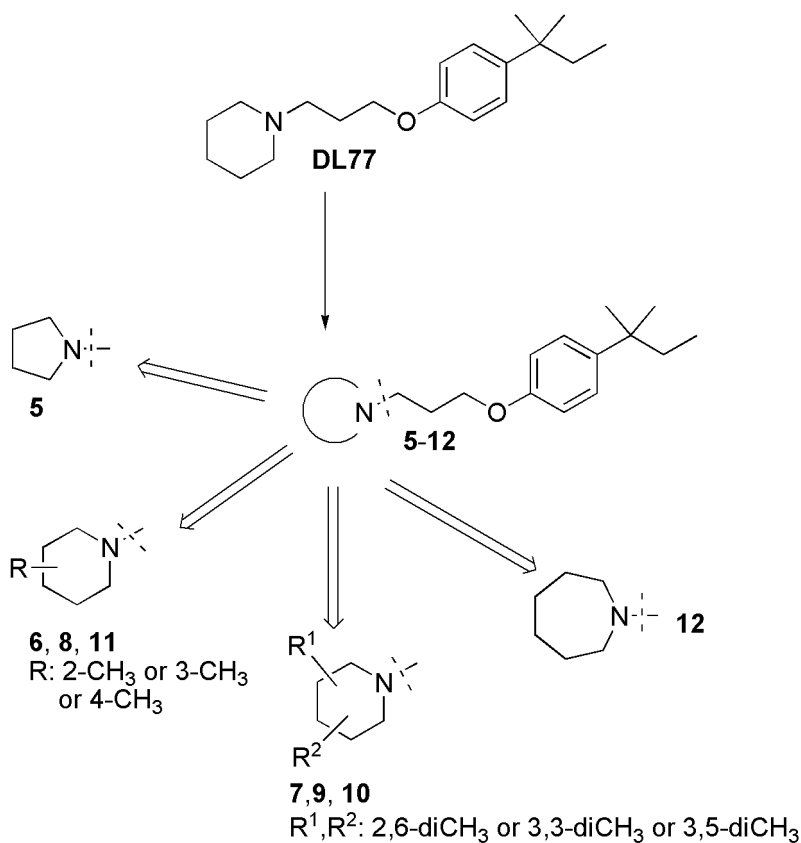
Pomysł łączenia aktywności receptorów H₃R z aktywnością wobec MAO B był nowatorski i został zakwalifikowany do dofinansowania z funduszu NCN w maju 2017 roku. Na etapie składania wniosku (XII 2016) nie było w literaturze opisanych takich związków. W 2017 roku pojawiły się dwie pierwsze publikacje dotyczące ligandów H₃R tego typu [24,25], rok później w roku 2018 oprócz wymienionych publikacji i publikacji [**H5**] ukazała się jeszcze tylko jedna [26].

[H5]. **Dorota Łażewska**, Agnieszka Olejarz-Maciej, Maria Kaleta, Marek Bajda, Agata Siwek, Tadeusz Karcz, Agata Doroz-Płonka, Urszula Cichoń, Kamil Kuder, Katarzyna Kieć-Kononowicz. *4-tert-Pentylphenoxyalkyl derivatives - Histamine H₃ receptor ligands and monoamine oxidase B inhibitors*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**;28:3596-3600.

Projektowanie
i synteza

W tej grupie opisane są związki zsyntetyzowane jako pochodne związku **DL77** silnego antagonisty receptorów H₃ histaminowych ($K_i = 8.4 \text{ nM}$) [P9]. Wstępne badania **DL77** pokazały silne hamowanie MAO B ($IC_{50} = 19 \text{ nM}$).

Zaprojektowano serię związków (SERIA IV-H) analogów **DL77** z różnymi heterocyklicznymi aminami jak przedstawiono na Schemacie 2:



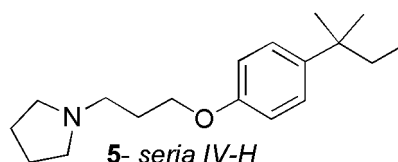
Schemat 2. Struktury zaprojektowanych analogów **DL77**.

Otrzymano 8 nowych związków w wyniku *N*-alkilowania odpowiednich amin 1-(3-bromopropoxy)-4-*tert*pentylbenzenem.

Badania farmakologiczne
in vitro

Badania powinowactwa do receptorów H₃ histaminowych zostały przeprowadzone przez panią dr Agatę Siwek z Pracowni Badań Receptorowych Katedry Farmakobiologii UJ CM.

Powinowactwo do receptorów H₃ histaminowych oceniono w teście wiązania radioliganda ([³H] (*N*- α -metylohistaminy) w komórkach ludzkich CHO K1 z trwałą nadekspresją receptorów H₃ histaminowych. Ogólnie, wszystkie badane związki (5-12) oprócz jednego (9) wykazywały powinowactwo do receptorów histaminowych w zakresie submicromolowym ($K_i < 800$ nM), Większość z nich charakteryzowała umiarkowana aktywność (100 nM $< K_i < 300$ nM). Najbardziej aktywną okazała się pochodna piperolidyny (5) z $K_i = 63$ nM.



Badania farmakologiczne
in vitro
-hamowanie MAO B

Badanie hamowania aktywności MAO B przeprowadzono używając dostępnego handlowo testu Amplex Red Monoamine Oxidase Assay. Test ten jest prostą fluorometryczną metodą opierającą się na detekcji wydzielanego w procesie reakcji enzymatycznej nadtlenu wodoru.

Bo badań dołączono również związki – pochodne **DL77** o zmiennej długości łańcucha węglowego (4-8 atomów) (**13-32**) opisane już wcześniej jako ligandy receptorów H₃ histaminowych [P20]. Wstępny skrining wykonano dla wszystkich związków w stężeniu 1 μ M. Dla związków które hamowały enzym $> 50\%$ przeprowadzono dalsze badania w celu oszacowania wartości IC_{50} . Dla wszystkich związków **5-12** (z wyjątkiem **11** -*4-methyl-1-(3-(4-tert-pentylofenoksy)propylo)piperidyny*) IC_{50} jest poniżej 1000 nM. Zamiana aminy silnie wpływa na wartość IC_{50} . Najbardziej aktywną okazała się pochodna piperolidyny (**5**; $IC_{50} = 4,5$ nM). Ogólnie wydłużanie łańcucha węglowego (**13-32**) prowadziło do spadku aktywności ($IC_{50} > 1000$ nM) z wyjątkiem związku – **24** (*1-(6-(4-(tert-pentylo)fenoksy)heksylo)azepanu*; $IC_{50} = 390$ nM).

Badanie dodatkowe

Przeprowadzono badania hamowania aktywności MAO A (wybrane struktury), określono rodzaj oraz typ hamowania MAO B, wykonano modelowanie molekularne w celu próby wyjaśnienia uzyskanych wyników eksperymentalnych.

Modelowanie molekularne przeprowadził pan dr hab. Marek Bajda z Zakładu Fizykochemicznej Analizy Leku UJ CM.

Dla wybranych związków (**DL77**, **5-10**, **12**, **13**) wykonano skrining (w stężeniu 10 μM) hamowania MAO A. Badane związki wykazały niski procent hamowania MAO A (<15%). Dla związków **DL77**, **5-7** określono mechanizm hamowania MAO B. Badane związki są odwracalnymi inhibitorami MAO B. Dodatkowo dla związku **5** wykonano badania kinetyki w celu określenia typu inhibicji. Związek **5** jest niekompetycyjnym inhibitorem MAO B. Dodatkowo, wszystkie związki zadokowano do aktywnych miejsc MAO B i MAO A. Związki z krótszym łańcuchem węglowym (**5-12**) lepiej się dopasowywały do miejsca aktywnego enzymu (MAO B). Grupa 4-*tert*-pentylofenylowa znajdowała się wtedy w kieszeni lipofilowej, utworzonej przez Trp19, Leu167, Phe168, Leu171, Cys172, Ile198, Ile199, Ile316 i Tyr326. Ponadto zaobserwowano obecność wiązania wodorowego pomiędzy atomami tlenu badanych związków a grupą hydroksylową Tyr326. W przypadku związków z dłuższymi łańcuchami (≥ 4 atomy) nie obserwowano występowania wspomnianego wiązania wodorowego z Tyr326.

Badania farmakologiczne
in vivo

Związek **5** został wybrany i przekazany do badań szacujących jego aktywność w testach behawioralnych. Badania takie aktualnie są prowadzone przez zespół pana dr Bassema Sadka z United Arab Emirates University (Zjednoczone Emiraty Arabskie).

Analiza
SAR

- ❖ Zmiana aminy z piperydyny (w DL77) na inne aminy (pirolidynę, podstawione piperydyny, azepan) powodowała spadek powinowactwa do receptorów H_3 histaminowych w kolejności: piperydyna > pirolidyna > 3-metylopiperydyna > 2,6-dimetylopiperydyna > inne aminy
- ❖ Powiększanie pierścienia aminy powodowało spadek hamowania MAO B w kolejności: pirolidyna > piperydyna \approx 2-metylopiperydyna \approx 2,6-dimetylopiperydyna > azepan > inne podstawione piperydyny
- ❖ Wydłużanie łańcucha węglowego między aminą a podstawnikiem *tert*-pentylofenylowym z trzech do ośmiu atomów węgla powodowało spadek inhibicji MAO B (z wyjątkiem heksylowej pochodnej azepanu)

PODSUMOWANIE BADAŃ ZWIĄZKÓW GRUPY II

Do najważniejszych osiągnięć należy:

- zaprojektowanie i otrzymanie dwufunkcyjnych ligandów receptorów H_3 histaminowych
- otrzymanie związku **5** o wysokiej podwójnej aktywności – hamującego aktywność MAO B i receptorów H_3 histaminowych
- określenie rodzaju oraz typu hamowania MAO B (odwracalna niekompetycyjna inhibicja)
- otrzymanie struktury wiodącej do dalszych poszukiwań wielofunkcyjnych ligandów receptorów H_3 histaminowych

5.7. Omówienie związków z GRUPY III

Publikacje w tej grupy dotyczą ligandów receptorów 5-HT₆R. W trakcie przeglądu danych literaturowych dotyczących pochodnych 1,3,5-triazyny zauważona została publikacja opisująca podobne struktury jako ligandy receptorów serotoninowych 5-HT₇. Ta publikacja stała się inspiracją do przebadania naszych wybranych ligandów receptorów H_4 histaminowych w celu oszacowania ich potencjalnego powinowactwa do receptorów serotoninowych, jednak nie do receptorów 5-HT₇ ale po konsultacjach z panią dr hab. Jadwigą Handzlik, prof. UJ (Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych UJ CM) do receptorów 5-HT₆. Wstępne badania zostały przeprowadzone przez zespół pana prof. dr hab. Andrzeja Bojarskiego (Instytut Farmakologii PAN, Zakład Chemii Leków) i pokazały, że niektóre z wybranych ligandów wykazują umiarkowane powinowactwo do tych receptorów serotoninowych przy jednoczesnym bardzo słabym powinowactwie do receptorów H_4 histaminowych (>> 1000 nM). Stanowiło to podstawę do zainteresowania się tą grupą związków jako potencjalnymi ligandami receptorów 5-HT₆ serotoninowych i doprowadziło do przygotowania projektu, który został zaakceptowany przez NCN do finansowania, a w którym jestem wykonawcą (PROJEKT NCN OPUS9; UMO-2015/17/B/NZ7/02973, kierownik, dr hab. Jadwiga Handzlik, prof. UJ).

Wstępne wyniki badań pozwoliły na wybranie struktury wiodącej której modyfikacje doprowadziły do otrzymania **nowych ligandów receptorów 5-HT₆ serotoninowych**. Zsyntetyzowane struktury stanowią **oryginalną** grupę ligandów 5-HT₆R do tej pory nie opisywaną w literaturze:

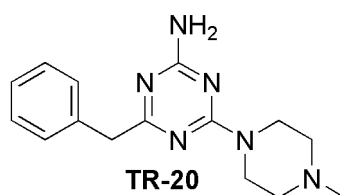
[H5]. Dorota Łażewska[‡], Rafał Kurczab[‡], Małgorzata Więcek, Katarzyna Kamińska, Grzegorz Satała, Magdalena Jastrzębska-Więsek, Anna Partyka, Andrzej J. Bojarski, Anna Wesołowska, Katarzyna Kieć-Kononowicz, Jadwiga Handzlik. *The computer-aided*

discovery of novel family of the 5-HT₆ serotonin receptor ligands among derivatives of 4-benzyl-1,3,5-triazine. Eur. J. Med. Chem. **2017**;135:117-124.

[H6]. **Dorota Łażewska**, Rafał Kurczab, Małgorzata Więcek, Grzegorz Satała, Katarzyna Kieć-Kononowicz, Jadwiga Handzlik. *Synthesis and computer-aided analysis of the role of linker for novel ligands of the 5-HT₆ serotonin receptor among substituted 1,3,5-triazinylpiperazines*. Bioorg. Chem. **2019**;84:319-325.

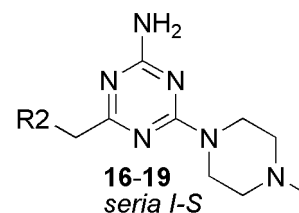
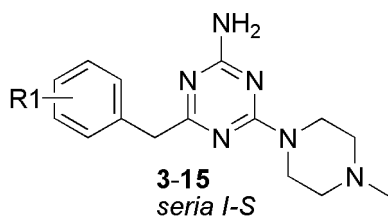
Projektowanie
i synteza

Związki zostały zaprojektowane jako modyfikacje związku **TR20** – umiarkowanego liganda receptora 5-HT₆R, selektywnego w stosunku do receptorów histaminowych H₄ (5HT₆R: K_i = 96 nM; H₄R K_i = 7499 nM) znalezione w wyniku skryningu ligandów receptorów H₄ histaminowych [H5].



Opisane w pracach [H5] i [H6] związki to pochodne 2-amino-4-(4-metylopiperazylo)-1,3,5-triazyny. Otrzymano dwie SERIE związków (*SERIA I-S* i *SERIA II-S*). W pierwszej oceniano wpływ podstawnika wprowadzonego do pierścienia aromatycznego oraz rodzaj tego pierścienia, a w drugiej rolę linkera łączącego pierścień 1,3,5-triazyny z aromatycznym podstawnikiem. Związki zostały otrzymane w wyniku kondensacji dostępnych handlowo lub otrzymanych estrów odpowiednich kwasów z dichlorowodorkiem biguanidu 4-metylopiperazyliny w środowisku metanolanu sodu. W *SERIA I-S* opisano 16 nowych związków o poniższych strukturach, a w *SERIA II-S* otrzymano 10 nowych związków. Pozostałe związki były już wcześniej opisane jako ligandy receptorów H₄ histaminowych.

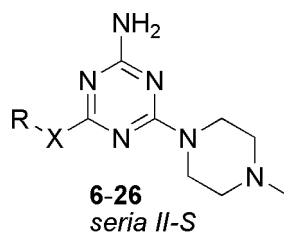
SERIA I-S – związki 3-19 (*numeracja zgodna z opisem w publikacji [H5])



| R1 | zw. | R1 | zw. | R1 | zw. |
|----------|----------|-------------------|-----------|--------------------|-----------|
| 2-Cl | 3 | 3-F | 8 | 2-OCH ₃ | 13 |
| 3-Cl | 4 | 4-F | 9 | 3-OCH ₃ | 14 |
| 4-Cl | 5 | 2-CH ₃ | 10 | 4-OCH ₃ | 15 |
| 3,4-diCl | 6 | 3-CH ₃ | 11 | | |
| 2-F | 7 | 4-CH ₃ | 12 | | |

| R2 | zw. |
|------------|-----------|
| 4-pirydył | 16 |
| 2-tiofenyl | 17 |
| 1-naftyl | 18 |
| 3-indolil | 19 |

SERIA II-S związki 6-26 (*numeracja zgodna z opisem w publikacji [H6])



| X | R | | | | |
|---------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | | | | |
| ---- | 6 | 7 | --- | 8 | 9 |
| -CH ₂ - | 10 | 11 | 12 | 5 | --- |
| -CH ₂ CH ₂ - | 13 | --- | --- | --- | --- |
| -CH=CH- | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |
| -O-CH ₂ - | 19 | 20 | --- | 21 | 22 |
| -O-CH(CH ₃)- | --- | 23 | --- | 24 | --- |
| -O-C(CH ₃) ₂ - | --- | 25 | --- | 26 | --- |

Badania farmakologiczne
in vitro

Badania powinowactwa do receptorów 5-HT₆ serotoninowych zostały wykonane w zespole pana prof. dr hab. Andrzeja Bojarskiego z Zakładu Chemii Leków IF PAN przez pana dr Grzegorza Satałę.

Powinowactwo do receptorów 5-HT₆ serotoninowych oceniono w teście wiązania radioliganda (³H]-LSD) w komórkach ludzkich HEK293 z trwałą nadekspresją receptorów 5-HT₆ serotoninowych.

SERIA I-S. Wszystkie związki z wyjątkiem (**16**) wykazały aktywność w zakresie submikromolowym ($K_i < 1000$ nM). Dla większości z nich wartości K_i były ~100 nM, a dla najbardziej aktywnych wynosiły: 20 nM dla **18** i 22 nM dla **19**.

SERIA II-S. Siedem spośród wszystkich dziesięciu nowych związków wykazało dobre powinowactwo do receptora 5-HT₆ serotoninowego ($K_i < 250$ nM), a dwa związki **24** i **26** charakteryzowała szczególnie wysoka aktywność (K_i : 23 nM i 33 nM, odpowiednio).

Badanie dodatkowe

W ramach badań dodatkowych wykonano modelowanie i dokowanie do receptora serotoninowego 5-HT₆ oraz obliczenia parametru CNS MPO (tzw. wieloparametrowej optymalizacji, ang. Central Nervous System Multiparameter Optimization) (SERIA I-S).

Prace te zostały wykonane w zespole pana prof. dr hab. Andrzeja Bojarskiego z Zakładu Chemii Leków IF PAN przez pana dr Rafała Kurczaba. Dodatkowo dla SERII II-S wykonano badania powinowactwa do wybranych receptorów oraz określono profil aktywności wybranych związków. Badania te zostały również wykonane w zespole pana prof. dr hab. Andrzeja Bojarskiego z Zakładu Chemii Leków IF PAN przez pana dr Grzegorza Satałę.

SERIA I-S. Modelowanie i dokowanie pokazało, że istotną rolę w wiązaniu z receptorem 5-HT₆ odgrywa mostek metylenowy łączący pierścień 1,3,5- triazyny z podstawnikiem fenylowym oraz hydrofobowe właściwości fragmentu benzyłowego. Obliczenia parametru MPO (tzw. wieloparametrowej optymalizacji przewidującej zdolność związku do bycia lekiem OUN; im wyższa wartość tym większe prawdopodobieństwo; skala 0-6) sugerowały, że związki powinny być aktywne w badaniach *in vivo* (MPO: 4,33-5,58).

SERIA II-S. Dokowanie do receptora 5HT₆ pokazało, że elastyczność linkera łączącego podstawnik z pierścieniem triazyny ułatwia wpasowanie się do kieszeni wiążącej. Najbardziej korzystny okazał się łącznik metoksylenowy z rozgałęzieniem oraz podstawnik naftyłowy. Badania profilu aktywności w teście cAMP pokazały, że wybrane

związki są antagonistami receptorów 5-HT₆. Związek **24** o największym powinowactwie do receptorów 5-HT₆ (K_i = 23 nM) wykazuje również powinowactwo do receptorów dopaminowych D₂ (K_i = 319 nM).

Badania
farmakologiczne *in vivo*

Badania przeciwdepresyjne zostały wykonane w zespole pani prof. dr hab. Anny Wesołowskiej przez panią dr hab. Magdalenę Jastrzębską-Więsek.

SERIA I-S. Najbardziej aktywne związki (**4**, **11** i **19**) o powinowactwie do receptorów 5-HT₆ wynoszącym odpowiednio (K_i: 28 nM; 30 nM i 22 nM) w badaniach *in vitro* zbadano w *teście wymuszonego pływania* (z ang. *forced swim test*) w dawce 0,3 mg/kg i stwierdzono znaczny spadek czasu bezruchu szczurów (od 29% do 37% w porównaniu z kontrolą). Badanie to potwierdziło przeciwdepresyjne działanie badanych związków.

SERIA II-S. Do przyszłych badań *in vivo* wybrano związek **24** (5-HT₆R K_i = 23 nM), który w badaniach profilu aktywności *in vitro* okazał się najsilniejszym antagonistą receptorów 5-HT₆ (cAMP K_b = 14 nM).

Analiza
SAR

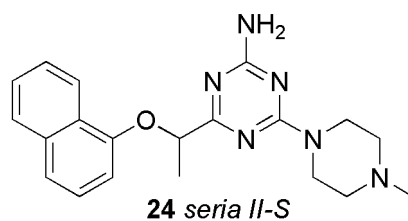
- ❖ W *Serii-I-S* na siłę powinowactwa do receptora miały wpływa:
 - wielkość pierścienia (naftyl > indol > fenyl > tiofenyl),
 - miejsce podstawienia w pierścieniu (pozycja 3 > 2 lub 4)
 - oraz rodzaj podstawnika (chlor > metyl > fluor > metoksyl)
- ❖ W *Serii-II-S* na siłę powinowactwa miały wpływ:
 - rodzaj linkera (metylenowy ≥ rozgałęziony metoksylenowy > metoksylenowy > etylenowy >> winylowy ~brak linkera)
 - wielkość pierścienia (naftyl > fenyl)

PODSUMOWANIE

Do najważniejszych osiągnięć należy:

- zaprojektowanie i otrzymanie nowej, oryginalnej grupy ligandów o wysokim powinowactwie do receptorów 5-HT₆ serotoninowych, wśród pochodnych 1,3,5-triazyny
- określenie profilu aktywności *in vitro* wybranych ligandów
- analizę i wyjaśnienie oddziaływania związków z receptorem na poziomie molekularnym w oparciu o wirtualne dokowanie

- potwierdzenie w badaniach *in vivo* aktywności przeciwdepresyjnej wybranych ligandów
- opracowanie zależności struktura-aktywność umożliwiającej dalsze projektowanie potencjalnych ligandów receptorów 5-HT₆
- otrzymanie struktury wiodącej do dalszych modyfikacji - związku **24**(publikacja [H6])



6. Podsumowanie osiągnięć naukowych stanowiących podstawę habilitacji

Przedstawione w pracach [H1] – [H6] badania **poszerzają ogólną wiedzę** na temat receptorów H_3 histaminowych i $5-HT_6$ serotoninowych. Zaprojektowane i zsyntetyzowane związki stanowią oryginalne połączenia strukturalne, powiększające światowe bazy tych ligandów oraz wiedzę na temat ich farmakologicznego wykorzystania. **Nowatorską koncepcją** było łączenie **antagonizmu H_3R z hamowaniem aktywności MAO B** i zaprojektowanie takich dwufunkcyjnych związków, pochodnych 4-*tert*-pentylofenolu. Ponadto pochodne **1,3,5-triazyny jako ligandy $5-HT_6R$** stanowią zupełnie nową, oryginalną grupę połączeń chemicznych nieopisanych do tej pory w literaturze.

Przeprowadzone badania *in vivo* potwierdzają aktywność tych ligandów H_3R i $5-HT_6R$ w zwierzęcych modelach chorobowych i dają **szansę** na postawienie kolejnego kroku na drodze poszukiwań **nowych i bardziej skutecznych terapii OUN**. Przedstawione w pracach zależności struktura-aktywność (SAR) pozwoliły na wybranie struktur wiodących i zaprojektowanie ich dalszych modyfikacji. Ponadto, uzyskane wyniki mogą stanowić **cenne wskazówki i inspiracje do dalszych prac** nie tylko dla mnie ale i dla innych badaczy z dziedziny chemii medycznej poszukujących aktywnych ligandów OUN. Zestawienie wyników badań dla związków opisanych w rozprawie habilitacyjnej przedstawiono w Tabeli 3:

Tabela 3. Zestawienie wyników opisanych w publikacjach [H1] – [H6]

| publikacja | | | | | | |
|--|------------|--------|--------|-----------|---------|---------|
| | [H1] | [H2] | [H3] | [H4] | [H5] | [H6] |
| liczba nowych związków | 20 | 12 | 16 | 8 | 16 | 9 |
| powinowactwo do H_3R K_i [nM] | ≤ 133 | 18-226 | 22-126 | ≤ 63 | - | - |
| powinowactwo do $5HT_6R$ K_i [nM] | -- | -- | -- | -- | 20-1828 | 23-5188 |
| badania dodatkowe | | | | | | |
| profil aktywności | + | + | + | - | - | + |
| metabolizm | + | + | - | - | - | - |
| profil bezpieczeństwa | + | + | + | - | - | - |
| modelowanie | + | - | - | + | + | + |

| c.d. Tabeli 3 | | | | | | |
|---------------------------------------|-------------|-------------|------|-------------|------|-------------|
| publikacja | | | | | | |
| | [H1] | [H2] | [H3] | [H4] | [H5] | [H6] |
| <i>badania in vivo</i> | | | | | | |
| przeciwdrgawkowe | + | + | + | - | - | - |
| poprawiające funkcje pamięciowe | + | + | + | + | - | - |
| | (w trakcie) | (w trakcie) | | (w trakcie) | | |
| przeciwbólowe | + | - | + | - | - | - |
| | (w trakcie) | | | | | |
| przeciwdepresyjne | - | - | - | - | + | + |
| | | | | | | (w trakcie) |

7. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

7.1. Działalność naukowo-badawcza przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora

W roku 1994 ukończyłam studia magisterskie na Wydziale Chemii UJ w Krakowie. Pracę magisterską wykonałam pod opieką pani dr Anny Kolasy. Następnie na Wydziale Chemii UJ w Katedrze Chemii Organicznej w zespole pani prof. dr hab. Krystyny Bogdanowicz-Szwed odbyłam roczny staż asystencki w ramach którego zajmowałam się syntezą pochodnych pirolu i tiofenu. Wyniki prowadzonych wówczas prac zostały zamieszczone w publikacji opisanej w *Liebigs Ann.* [P1] w 1996 roku.

W latach 1995-1998 pracowałam jako asystentka w Katedrze Chemii Rolnej Akademii Rolniczej w Krakowie w zespole pana prof. dr hab. Kazimierza Mazura. Moja praca badawcza obejmowała oznaczanie zawartości metali ciężkich (głównie kadmu, niklu, chromu) i fosforu w uprawianych roślinach użytkowych oraz w glebie (metodami atomowej spektrometrii absorpcyjnej i kolorymetrycznie). Wyniki prowadzonych prac zostały opisane w Zeszytach Problemowych Postępów Nauk Rolniczych ([P2]-1996, [P3]-1997), Pracach Naukowych Akademii Ekonomicznej we Wrocławiu ([P4]-1998) oraz w Zeszytach Naukowych Akademii Rolniczej w Krakowie ([P5]-1999).

Chemią medyczną interesowałam się już w trakcie studiów na Wydziale Chemii UJ. Za zgodą Dziekanów Wydziału Chemii UJ oraz Wydziału Farmaceutycznego UJ CM ukończyłam kurs „*Chemii leków*” i zdałam egzamin z tego przedmiotu u pana prof. dr hab. A. Zejca.

W październiku 1998 roku rozpoczęłam Studia Doktoranckie na UJ Collegium Medicum w Katedrze Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych pod opieką pani prof. dr hab. Katarzyny Kieć-Kononowicz. Moja praca doktorska dotyczyła poszukiwania nieimidazolowych ligandów receptorów H₃ histaminowych. W ramach tej pracy wykonałam syntezę związków (głównie uretanowych pochodnych piperidynoalkoholi) oraz przeprowadziłam badania aktywności farmakologicznej w stosunku do receptorów H₃ histaminowych na izolowanych jelitach świńek morskich w zespole pana prof. dr dr h.c. Waltera Schunacka z Freie Universität Berlin. W trakcie wykonywania tej pracy Komitet Badań Naukowych przyznał mi środki finansowe, które umożliwiły jej realizację (grant młodego badacza 4 PO5F 00149 oraz grant promotorski 6 PO5F 01320). Ponadto w ramach Polsko-Niemieckiej Umowy Międzyrządowej brałam udział w programie dotyczącym wymiany osób w latach 1999-2001 [156/E-390/S/99 „Poszukiwanie antagonistów receptorów H₃ histaminowych”] i odbyłam 4 staże naukowe na Freie Universität Berlin w zespole pana prof. dr dr h.c. Waltera Schunacka (marzec 2000,

wrzesień 2000, grudzień 2000 i marzec 2001). Od 1.10.2000 do 31.07.2001 byłem stypendystką Funduszu Stypendialnego im. Stanisława Estreichera przyznawanego najlepszym doktorantom UJ. Wyniki moich badań były przedstawiane na zjazdach krajowych i zagranicznych oraz zostały opublikowane w czasopismach przed doktoratem: [P6], [P7] - *Pharmazie* oraz po doktoracie *Pharmazie* – [P8] i *Bioorganic Medicinal Chemistry* – [P9]. Ponadto uczestniczyłam w przygotowaniu manuskryptu [P10].

W listopadzie 2004 roku obroniłam pracę doktorską wyróżnioną przez Radę Wydziału Farmaceutycznego UJ CM.

7.1.1. Podsumowanie dorobku naukowego (związanego z pracą na Uniwersytecie Jagiellońskim Collegium Medicum) przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora:

Liczba publikacji: **3**

Łączny Impact Factor: **1,939**

Punktacja MNiSW: **23**

Liczba doniesień zjazdowych: **8**

7.2. Działalność naukowo-badawcza po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

7.2.1. Działalność związana z receptorami H₃ i H₄ histaminowymi

Od 1.10.2005 do 30.09.2012 (z 9 miesięczną przerwą) pracowałam jako asystent (½ etatu), a od 1.10.2012 roku pracuję w wymiarze całego etatu jako adiunkt w Katedrze Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych UJ CM.

Moja praca naukowa nadal związana jest z poszukiwaniem aktywnych ligandów receptorów H₃ histaminowych, a od 2009 roku również receptorów H₄ histaminowych. Zsyntetyzowane związki, w ramach współpracy początkowo z panem prof. dr dr h.c. W. Schunackiem (Freie Universität Berlin) a następnie z Jego uczniem, panem prof. dr dr h.c. Holgerem Starkiem (Goethe-Universität Frankfurt, obecnie Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf), zostały przebadane na wymienionych Niemieckich Uniwersytetach w celu oszacowania ich powinowactwa do ludzkich receptorów H₃ i H₄ histaminowych (badania *in vitro*). Prace te były realizowane w ramach następujących projektów:

1. Grant MNiSW:
„POSZUKIWANIA SELEKTYWNYCH LIGANDÓW RECEPTORÓW H_3/H_4 HISTAMINOWYCH O POTENCJALNYM ZASTOSOWANIU TERAPEUTYCZNYM”
-1192/DAAD/2007/01- **wykonawca**, 09.2007-09.2009
2. Projekt Międzynarodowy Niewspółfinansowany:
„POSZUKIWANIE AKTYWNYCH LIGANDÓW RECEPTORÓW H_4 HISTAMINOWYCH” (Akcja COST BM0806) 594/N-COST/2009/0 (K/PMN/000033), **wykonawca**, 04.2010-04.2013
3. Projekt NCN Maestro I
" RECEPTORY H_3/H_4 HISTAMINOWE JAKO ATRAKCYJNY CEL POSZUKIWAŃ SUBSTANCJI BIOLOGICZNIE AKTYWNYCH". UMO-2011/02/A/NZ4/00031, **wykonawca**, 05.2012- 12.2017

W 2009 roku włączyłam się w prace międzynarodowego projektu COST Action BM0806 dotyczącego badań nad receptorami H_4 histaminowymi (Histamine H_4 Receptor Research), a w 2016 w działalność międzynarodowego projektu MuTaLig COST Action CA15135 co stworzyło mi możliwość współpracy i wymiany doświadczeń z innymi naukowcami.

Wyniki prac prowadzonych w ramach wyżej wymienionych projektów zostały opisane w 11 pracach oryginalnych ([P11]-[P21]) oraz 5 publikacjach przeglądowych ([P22]-[P26]):

W tym czasie nawiązane zostały współprace z następującymi ośrodkami naukowymi w kraju i zagranicą, które zaowocowały również wspólnymi publikacjami z:

- panią **prof. dr hab. Joanną Szymura- Oleksiak** oraz panią **dr Małgorzatą Szafarz** z Zakładu Farmakokinetyki i Farmacji Fizycznej UJ CM – publikacje ([P27]-[P29]) dotyczące badań na związku DL76.
- panią **prof. dr hab. Wiesławą Agnieszką Fogel** oraz panią **dr Anną Stasiak** z Uniwersytetu Medycznego w Łodzi – publikacja [P30] dotycząca badań związku DL76.
- panią **prof. dr hab. Barbarą Filipek**, panią **dr hab. Małgorzatą Zygmunt**, panią **dr Moniką Kubacką** oraz panem **dr Szczepanem Mogilskim** z Katedry Farmakodynamiki UJ CM – badania farmakologiczne *in vivo* zsyntetyzowanych ligandów receptorów H_3 i H_4 histaminowych- publikacje wchodzące w skład rozprawy habilitacyjnej [H3], [H4] oraz publikacje [P18], [P19] i [P31].

- panią **prof. dr hab. Barbarą Malawską** oraz członkami jej zespołu głównie z panem **dr hab. Markiem Bajdą** i panią **dr Paulą Zarębą** z Zakładu Fizykochemicznej Analizy Leku UJ CM- badania *in vitro* oraz modelowanie dotyczące hamowania acetylo- i butyrylocholinoesteraz – publikacje [P32] i [P33] oraz publikacja wchodząca w skład rozprawy habilitacyjnej [H2].
- panem **dr Bassem Sadkiem** z United Arab Emirates University (Zjednoczone Emiraty Arabskie). Współpraca dotycząca badań *in vivo* ligandów receptorów H₃ histaminowych w testach przeciwdrgawkowych (publikacje [P34], [P35], [P36] i [P37]), testach szacujących działanie prokognitywne (publikacje [P35], [P38] i [P39]), działanie zmniejszające spożycie alkoholu (publikacja [P40]) oraz wpływ na objawy autyzmu (publikacja [P41]).
- panią **prof. dr hab. Joanną Mika** oraz panią **dr Katarzyną Popiołek-Barczyk** (Zakładu Farmakologii Bólu, Instytut Farmakologii PAN) – badania dotyczące działania przeciwbólowego ligandów receptorów H₃ i H₄ histaminowych – publikacja [P42]
- panią **dr Agatą Siwek** oraz z panią **mgr Moniką Głuch-Lutwin** (Pracownia Badań Receptorowych Katedry Farmakobiologii, UJ CM) - badania farmakologiczne *in vitro* określające powinowactwo do receptorów histaminowych (H₃ i H₁), oszacowanie profilu aktywności wobec receptorów H₃ i H₄ histaminowych - publikacje wchodzące w skład cyklu habilitacyjnego [H2] i [H4] oraz prace oryginalne: [P31], [P36] i [P37].
- panią **prof. dr hab. Emanuelą Masini** oraz panią **dr Cecilią Lanzi** z Department of Neuroscience, Psychology, Drug Research and Child Health (NEUROFARBA), University of Florence (Italy)- badania farmakologiczne *in vivo* (badania przeciw jaskrze) – publikacja w recenzji w International Journal of Molecular Sciences [P43]

7.2.2. Działalność związana z innymi receptorami

Oprócz badań dotyczących receptorów histaminowych (H_3 i H_4) byłam również zaangażowana (jako główny wykonawca) w realizację prac dotyczących receptora sierocego GPR18 w ramach projektu NCN OPUS6 „RECEPTOR SIEROCY GPR18. POSZUKIWANIE NIEZBĘDNYCH NARZĘDZI DO BADAŃ NAD GPR 18 JAKO POTENCJALNYM CELEM TERAPEUTYCZNYM” – DEC-2013/11/B/NZ7/04865 – (27.08.2014-26.08.2018). Prowadzone w ramach tego projektu syntezy chemiczne były tematem pracy magisterskiej (Praca Magisterska: Tomasz Rządca „Synteza nowych ligandów receptorów GPR18” – Wydział Farmaceutyczny 2018- której byłam promotorem) wyniki tych prac zostały opublikowane m.in. w publikacji [P44].

Ponadto byłam wykonawcą w projekcie NCN HARMONIA2, „POSZUKIWANIE NOWYCH LIGANDÓW RECEPTORÓW ADENOZYNOWYCH O WŁAŚCIWOŚCIACH LEKOPODOBNYCH” – DEC 2012/04/M/NZ4/00219 (25.09.2012-24.09.2016). Uczestniczyłam też w przygotowaniu manuskryptu [P45] opisującego właściwości lipofilowe (2-tio)hydantoin.

Dodatkowo zaangażowana jestem w prace dotyczące ligandów receptorów serotoninowych 5-HT₆ jako wykonawca w projekcie NCN OPUS9 (UMO-2015/17/B/NZ7/02973). Badania prowadzone w ramach tego projektu pozwoliły na otrzymanie nowych ligandów receptorów 5-HT₆ serotoninowych, które zostały opisane w 2 pracach wchodzących w skład rozprawy habilitacyjnej [H6] i [H7] oraz publikacji [P46] i były prezentowane na konferencjach naukowych krajowych i zagranicznych (7 doniesień).

7.2.3. Podsumowanie działalności naukowo-badawczej

Moja działalność naukowo-badawcza związana była i nadal jest głównie z poszukiwaniem aktywnych ligandów OUN. Realizacja moich naukowych zainteresowań była możliwa dzięki projektom i grantom (MNiSW, NCN), w których byłam współwykonawcą (6 projektów) i dzięki którym możliwe było przygotowanie rozprawy habilitacyjnej.

Większość moich działań naukowych dotyczyła i dotyczy ligandów receptorów H_3 histaminowych, a ostatnio również ligandów receptorów 5-HT₆ serotoninowych. Ponadto, szczególnie interesują mnie ligandy wielofunkcyjne o potencjalnym wykorzystaniu w leczeniu choroby Alzheimera. Zainteresowanie to realizuję w ramach projektu NCN OPUS12 (UMO-2016/23/B/NZ7/02327), którego jestem kierownikiem.

W ramach tego projektu do tej pory wykonano prace syntetyczne które zostały opisane w 1 pracy magisterskiej, 2 oryginalnych publikacjach (z których jedna weszła w skład cyklu

habilitacyjnego) [H2] i [P36] oraz przedstawiane na konferencjach krajowych (2 doniesienia zjazdowe) i zagranicznych (4 doniesienia zjazdowe)

7.2.4. Podsumowanie dorobku naukowego po uzyskaniu stopnia naukowego doktora:

Dorobek naukowy (2005-2019) bez prac wchodzących w cykl habilitacyjny:

Liczba oryginalnych publikacji: **30**

Sumaryczny IF: **83,259**

Sumaryczna punktacja MNiSW: **794**

8. Przedstawienie sumarycznego dorobku działalności naukowo-badawczej (2001-2019) (dotyczy wszystkich publikacji)

Liczba oryginalnych publikacji z IF: **39**

Prace poglądowe z IF: **4**

Prace poglądowe bez IF: **1**

Rozdziały w monografiach: **2**

Sumaryczny IF: **118,172**

Łączna punktacja MNiSW: **1114**

Liczba cytowań: **368**

Współczynnik Hirscha (dla całego dorobku): **11**

Liczba publikacji pełnotekstowych w suplementach czasopism: **2**

Współautorstwo doniesień zjazdowych: **115**

9. Działalność organizacyjna

Brałam udział w organizacji międzynarodowych konferencji naukowych:

- ✓ Management Committee Meeting and WGs Meeting COST Action BM0806, 28-29 March 2011, Kraków – członek Komitetu Organizacyjnego (główny udział w pracach organizacyjnych)

- ✓ Vth Meeting of the Paul Ehrlich MedChem Euro-PhD Network, 3-5 July 2015, Kraków – członek Komitetu Organizacyjnego (główny udział w pracach organizacyjnych, kwestie finansowe, starania o granty)

Aktualnie biorę udział w organizacji:

- ✓ 48th Annual Meeting of European Histamine Research Society, 15-18 maja 2019, Kraków - członek Komitetu Organizacyjnego – m.in. przygotowanie wniosków o dofinansowanie, nadzór na sprawami finansowymi)
- ✓ EFMC-ACSMEDI 10-13 czerwca 2019, Kraków - członek Lokalnego Komitetu Organizacyjnego

Jestem członkiem następujących Towarzystw Naukowych:

- ❖ Europejskiego Towarzystwa Badań nad Histaminą (od 2001 roku)
- ❖ Polskiego Towarzystwa Badań nad Histaminą (od 2002 roku) – od 25.10.2018 – członek Komisji Rewizyjnej Towarzystwa
- ❖ Polskiego Towarzystwa Chemii Medycznej (od 2008 roku) – od 2015 roku czynne uczestnictwo w sprawach związanych ze stroną finansową Towarzystwa

10. Działalność dydaktyczna

Oprócz działalności naukowej od początku swojej kariery naukowej zaangażowana byłam w prowadzenie zajęć dydaktycznych ze studentami:

- w latach 1994-1995 - zajęcia laboratoryjne z chemii organicznej dla studentów biologii (Wydział Chemii UJ)
- w latach 1995-1998 - zajęcia z chemii nieorganicznej dla studentów I roku Zootechniki oraz w Rzeszowie dla studentów zaocznych Rolnictwa (Akademia Rolnicza w Krakowie)
- od 2005 roku - ćwiczenia laboratoryjne i seminaria z „*Syntezy i technologii środków leczniczych*” (studenci IV Wydziału Farmaceutycznego UJ CM)
- zajęcia z „*Badania metabolizmu in silico*” dla studentów studiów podyplomowych kierunku *Farmacja Przemysłowa* (2008-2009) (Wydziału Farmaceutycznego UJ CM)
- od 2010 zajęcia z metodologii badań naukowych (*ochrona własności intelektualnych*) dla doktorantów I roku Wydziału Farmaceutycznego UJ CM.

W latach 2011-2018 byłam promotorem 8 oraz recenzentem 7 prac magisterskich. Od 30.09.2014 roku jestem promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim mgr Katarzyny Kamińskiej.

Ponadto uczestniczyłam też w warsztatach dydaktycznych organizowanych przez Centrum Doskonalenia Dydaktyki Akademickiej - *Ars Docendi UJ* (rok akademicki 2016/2017 i 2017/2018) oraz brałam udział w V (2017) i VI (2018) Konferencji Dydaktyki Akademickiej "Ideatorium".

Dorota Łajewska

- [1] <http://www.leopoldina.org/de/publikationen/detailansicht/publication/the-challenge-of-neurodegenerative-diseases-in-an-aging-population-2017/>
- [2] M. Bourdenx, N.S. Koulakiotis, D. Sanoudou, E. Bezdard, B. Dehay, A. Tsarbopoulos. Protein aggregation and neurodegeneration in prototypical neurodegenerative diseases: Examples of amyloidopathies, tauopathies and synucleinopathies. *Prog Neurobiol.* 2017;155:171-193.
- [3] M. Baulac, H. de Boer, C. Elger, M. Glynn, R. Kälviäinen, A. Little, J. Mifsud, E. Perucca, A. Pitkänen, P. Ryvlin. Epilepsy priorities in Europe: A report of the ILAE-IBE Epilepsy Advocacy Europe Task Force. *Epilepsia* 2015;56:1687-95.
- [4] E. Burakgazi, J.A. French. Treatment of epilepsy in adults. *Epileptic Disord.* 2016;18:228-39.
- [5] F.J. López González, X. Rodríguez Osorio, A. Gil-Nagel Rein, M. Carreño Martínez, J. Serratos Fernández, V. Villanueva Haba, A.J. Donaire Pedraza, J.M. Mercadé Cerdá. Drug-resistant epilepsy: definition and treatment alternatives. *Neurologia* 2015;30:439-46.
- [6] P. Panula P, Chazot PL, Cowart M, Gutzmer R, Leurs R, Liu WLS, Stark H, Thurmond RL, Haas HL. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. XCVIII. Histamine Receptors. *Pharmacol. Rev.* 2015;67:601-655.
- [7] B. Sadek, D. Łażewska, S. Hagenow, K. Kieć-Kononowicz, H. Stark. Histamine H₃R antagonists: from scaffold hopping to clinical candidates. In: Histamine receptors. Eds (P. Blandina & M.B. Passani). Springer International Publishing Switzerland 2016. pp. 109-156.
- [8] B. Sadek, A. Saad, A. Sadeq, F. Jalal, H. Stark. Histamine H₃ receptor as a potential target for cognitive symptoms in neuropsychiatric diseases. *Behav. Brain Res.* 2016;312:415-30.
- [9] G. Provensi, P. Blandina, M.B. Passani. The histaminergic system as a target for the prevention of obesity and metabolic syndrome. *Neuropharmacology.* 2016;106:3-12.
- [10] D.N. Krementsov, E.H. Wall, R.A. Martin, M. Subramanian, R. Noubade, R. DelRio, G.M. Mawe, J.P. Bond, M.E. Poynter, E.P. Blankenhorn, C. Teuscher. Histamine H₃ receptor integrates peripheral inflammatory signals in the neurogenic control of immune responses and autoimmune disease susceptibility. *PLoS One.* 2013;8(7):e62743.
- [11] M. Rapanelli, C. Pittenger. Histamine and histamine receptors in Tourette syndrome and other neuropsychiatric conditions. *Neuropharmacology.* 2016;106:85-90.
- [12] lida T, Yoshikawa T, Kárpáti A, et al. JNJ10181457, a histamine H₃ receptor inverse agonist, regulates in vivo microglial functions and improves depression-like behaviours in mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017;488:534-540.
- [13] M. Dudek, K. Kuder, M. Kołaczkowski, A. Olczyk, E. Żmudzka, A. Rak, M. Bednarski, K. Pytka, J. Sapa, K. Kieć-Kononowicz. H₃ histamine receptor antagonist pitolisant reverses some subchronic disturbances induced by olanzapine in mice. *Metab. Brain Dis.* 2016;31:1023-9.
- [14] D.S. Whittaker, H.B. Wang, D.H. Loh, R. Cachope, C.S. Colwell. Possible use of a H₃R antagonist for the management of nonmotor symptoms in the Q175 mouse model of Huntington's disease. *Pharmacol Res. Perspect.* 2017;5:e00344.
- [15] D. Baronio, K. Castro, T. Gonchoroski, G.m. de Melo, G.D. Nunes, V. Bambini-Junior, C. Gottfried, R. Riesgo. Effects of an H₃R Antagonist on the Animal Model of Autism Induced by Prenatal Exposure to Valproic Acid. *PLoS One.* 2015;10:e0116363.
- [16] Y.Y. Pitolisant: First Global Approval. *Drugs* 2016;76:1313-8.
- [17] M.W. Calik MW. Update on the treatment of narcolepsy: clinical efficacy of pitolisant. *Nat. Sci. Sleep.* 2017;9:127-133.
- [18] B. Benhamú, M. Martín-Fontecha, H. Vázquez-Villa, L. Pardo, M.L. López-Rodríguez. Serotonin 5-HT₆ receptor antagonists for the treatment of cognitive deficiency in Alzheimer's disease. *J. Med. Chem.* 2014;57:7160–81.
- [19] A. Wesółowska. Potential role of the 5-HT₆ receptor in depression and anxiety: an overview of preclinical data. *Pharmacol. Rep.* 2010;62:564–77.

- [20] D. Karila, T. Freret, V. Bouet, M. Boulouard, P. Dallemagne, C. Rochais, Therapeutic Potential of 5-HT₆ Receptor Agonists. *J. Med. Chem.* 2015;58:7901–7912.
- [21] T. Kottke, K. Sander, L. Weizel, E.H. Schneider, R. Seifert, H. Stark. Receptor specific functional efficacies of alkyl imidazoles as dual histamine H₃/H₄ receptor ligands. *Eur. J. Pharmacol.* 2011;654:200-208.
- [22] T.A. Esbenshade, G.B. Fox, K.M. Krueger, J.L. Baranowski, T.R. Miller, C.H. Kang, L.I. Denny, D.G. Witte, B.B. Yao, J.B. Pan, R. Faghieh, Y.L. Bennani, M. Williams, A.A. Hancock. Pharmacological properties of ABT-239 [4-(2-{2-[(2R)-methylpyrrolidinyl]ethyl}-benzofuran-5-yl)benzotrile]: I. Potent and selective histamine H₃ receptor antagonist with drug-like properties. *Biochem. Pharmacol.* 2004;68:933-45.
- [23] D. Łażewska, P. Zaręba, S. Mogilski, M. Więcek, B. Filipek, B. Malawska, K. Kieć-Kononowicz, *Biphenyl derivatives – histamine H₃ receptor ligands and cholinesterase inhibitors*, World Histamine Symposium (WHS 2018), A satellite Symposium of WCP 2018, 2nd Joint Symposium of European and Japanese Histamine Research Societies, 7-9 July 2018, Kobe (Japan).
- [24] Ó.M. Bautista-Aguilera, S. Hagenow, A. Palomino-Antolin, V. Farré-Alins, L. Ismaili, P.L. Joffrin, M.L. Jimeno, O. Soukup, J. Janočková, L. Kalinowsky, E. Proschak, I. Iriepa, I. Moraleda, J.S. Schwed, A. Romero Martínez, F. López-Muñoz, M. Chioua, J. Egea, R.R. Ramsay, J. Marco-Contelles, H. Stark. Multitarget-directed ligands combining cholinesterase and monoamine oxidase inhibition with histamine H₃R antagonism for neurodegenerative diseases. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2018;56:12765-12769.
- [25] S. Hagenow, A. Stasiak, R.R. Ramsay, H. Stark. Ciproxifan, a histamine H₃ receptor antagonist, reversibly inhibits monoamine oxidase A and B. *Sci. Rep.* 2017;7:40541.
- [25] A. Affini, S. Hagenow, A. Zivkovic, J. Marco-Contelles, H. Stark. Novel indanone derivatives as MAO B/H₃R dual-targeting ligands for treatment of Parkinson's disease. *Eur J. Med. Chem.* 2018;148:487-497.
- [P1] K. Bogdanowicz-Szwed, J. Grochowski, A. Pałasz, B. Ryś, P. Serda, **D. Soja**, *The conjugate addition of benzoyl(thioacetanilides) to nitroalkenes synthesis of functionalized thiophenes and pyrroles*, Liebigs Annalen 1996;9:1457-1462.
- [P2] B. Filipek-Mazur, **D. Soja**, *Wpływ formy chromu na plon i zawartość tego materiału w roślinach i glebie*, Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 1996;434:793-798.
- [P3] K. Mazur, B. Filipek-Mazur, J. Fecenko, O. Lozek, **D. Soja**, *The contents of cadmium, nickel and lithium in soils and clover-grasses mixture fertilized with different doses of nitrogen*, Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 1997;448b:189-195.
- [P4] K. Mazur, M. Kopeć, **D. Soja**, *Rolnicza utylizacja produktu ubocznego z zakładów chemicznych o dużej zawartości fosforu*, Prace Naukowe Akademii Ekonomicznej we Wrocławiu, 1998;792:189-194.
- [P5] M. Kopeć, K. Mazur, **D. Soja**, *Wpływ nawożenia fosforem na zawartość i ilość kadmu pobranego przez rośliny*, Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej im. Hugona Kołłątaja w Krakowie. Sesja Naukowa, 1999;64:203-210.
- [P6] **D. Łażewska**, K. Kieć-Kononowicz, H.H. Pertz, H. Stark, W. Schunack, S. Elz, *Piperidine-containing histamine H₃-receptor antagonists of the carbamate series: variation of the spacer length*, Pharmazie, 2001;56(12):927-32.
- [P7] **D. Łażewska**, K. Kieć-Kononowicz, H.H. Pertz, S. Elz, H. Stark, W. Schunack, *Piperidine-containing histamine H₃ receptor antagonists of the carbamate series: the influence of the additional ether functionality*, Pharmazie, 2002;57:791-796.
- [P8] **D. Łażewska**, K. Kieć-Kononowicz, S. Elz, H.H. Pertz, H. Stark, W. Schunack, *Piperidine-containing histamine H₃ receptor antagonists of the carbamate series: the alkyl derivatives*, Pharmazie, 2005;60:403-410.
- [P9] **D. Łażewska**, X. Ligneau, J.C. Schwartz, W. Schunack, H. Stark, K. Kieć-Kononowicz, *Ether derivatives of 3-piperidinopropan-1-ol as non-imidazole histamine H₃ receptor antagonists*. Bioorg Med Chem. 2006;14(10):3522-9.

- [P10] K. Kieć-Kononowicz, C.E. Muller, E. Pękala, J. Karolak-Wojciechowska, J. Handzlik, **D. Łażewska**, *Imidazo[2,1-b]thiazoles, imidazo[2,1-b]imidazoles and Pyrrolo[1,2-c]imidazoles. synthesis, structure and evaluation of benzodiazepine receptor binding*, J. Heterocycl. Chem. **2002**;39:243-253.
- [P11] **D. Łażewska**, K. Kuder, X. Ligneau, J.C. Schwartz, W. Schunack, H. Stark, K. Kieć-Kononowicz, *Piperidine variations in search for non-imidazole histamine H₃ receptor ligands*, Bioorg. Med. Chem. 2008;16(18):8729-36.
- [P12] **D. Łażewska**, M. Więcek, X. Ligneau, T. Kottke, L. Weizel, R. Seifert, W. Schunack, H. Stark, K. Kieć-Kononowicz, *Histamine H₃ and H₄ receptor affinity of branched 3-(1H-imidazol-4-yl)propyl N-alkylcarbamates*, Bioorg. Med. Chem. Lett. 2009;19(23):6682-5.
- [P13] **D. Łażewska**, K. Kuder, X. Ligneau, J.C. Camelin, W. Schunack, H. Stark, K. Kieć-Kononowicz, *Diether derivatives of homo- or substituted piperidines as non-imidazole histamine H₃ receptor ligands*, Bioorg Med Chem. 2009;17(8):3037-42.
- [P14] K.J. Kuder, X. Ligneau, J.C. Camelin, **D. Łażewska**, J.C. Scharz, W. Schunack, H. Stark, K. Kieć-Kononowicz, *Diether (substituted) piperidine derivatives as novel histamine H₃ receptor ligands*, Inflamm. Res., 2009;58 (Suppl. 1);S47-S48.
- [P15] T. Karcz, J. Handzlik, **D. Łażewska**, T. Kottke, R. Seifert, K. Kieć-Kononowicz, *Search for histamine H₄ receptor ligands in the group of 4-methylpiperazino amide derivatives*, Inflamm. Res. 2010;59 (Suppl. 2);S243-S245.
- [P16] **D. Łażewska**, J. Karolak-Wojciechowska, B. Kolesińska, Z. Kamiński, K. Kieć-Kononowicz, *Convenient way of synthesis and crystal structure of 1-[(5-chloro-1H-indol-2-yl)carbonyl]-4-methylpiperazine, a histamine H₄ receptor antagonist*. Heterocycl. Commun. 2011;17(5-6):207-210.
- [P17] E. Pękala, P. Kubowicz, **D. Łażewska**, *Cunninghamella as a microbiological model for metabolism of histamine H₃ receptor antagonist 1-[3-(4-tert-butylphenoxy)propyl]piperidine*; Appl. Biochem. Biotechnol. 2012;168:1584-1593.
- [P18] **D. Łażewska**, M. Więcek, J. Ner, K. Kamińska, T. Kottke, J.S. Schwed, M. Zygmunt, T. Karcz, A. Olejarz, K. Kuder, G. Latacz, M. Grosicki, J. Sapa, J. Karolak-Wojciechowska, H. Stark, K. Kieć-Kononowicz, *Aryl-1,3,5-triazine derivatives as histamine H₄ receptor ligands*, Eur. J. Med. Chem. 2014;83:534-546.
- [P19] K. Kamińska, J. Ziemia, J. Ner, J.S. Schwed, **D. Łażewska**, M. Więcek, T. Karcz, A. Olejarz, G. Latacz, K. Kuder, T. Kottke, M. Zygmunt, J. Sapa, J. Karolak-Wojciechowska, H. Stark, K. Kieć-Kononowicz, *(2-Arylethenyl)-1,3,5-triazin-2-amines as a novel histamine H₄ receptor ligands*, Eur J Med Chem. 2015;103:238-51.
- [P20] G. Latacz, P. Kechagioglou, R. Papi, **D. Łażewska**, M. Więcek, K. Kamińska, P. Wencel, T. Karcz, J.S. Schwed, H. Stark, D.A. Kyriakidis, K. Kieć-Kononowicz, *The synthesis of 1,3,5-triazine derivatives and JNJ7777120 analogues with the histamine H₄ receptor affinity and their interaction with PTEN promoter*, Chem. Biol. Drug Des. 2016;88:254-263.
- [P21] K.J. Kuder, **D. Łażewska**, M. Kaleta, G. Latacz, T. Kottke, A. Olejarz, T. Karcz, A. Fruziński, K. Szczepańska, J. Karolak-Wojciechowska, H. Stark, K. Kieć-Kononowicz, *Synthesis and biological activity of novel tert-amylphenoxyalkyl (homo)piperidine derivatives as histamine H₃R ligands*, Bioorg. Med. Chem. 2017;25:2701-2712.
- [P22] **D. Łażewska**, K. Kieć-Kononowicz, *Recent advances in histamine H₃ receptor antagonists/inverse agonists*, Expert Opin. Ther. Patents, 2010;20:1147-1169.
- [P23]: **D. Łażewska**, K. Kieć-Kononowicz, *Azines as histamine H₄ receptor antagonists*, Front. Biosci. (Schol. Ed.), 2012;4:967-987.
- [P24]: **D. Łażewska**, K. Kieć-Kononowicz, *New developments around histamine H₃ receptor antagonists/inverse agonists: a patent review (2010-present)*, Expert Opin. Ther. Patents, 2014;24:89-111.

- [P25] **D. Łażewska**, E. Dominguez-Alvarez, K. Kamińska, K. Kuder, K. Kieć-Kononowicz, *Monocyclic and fused azines and azoles as histamine H₄ receptor ligands*, *Curr. Med. Chem.* 2016;23:1870-1925.
- [P26] **D. Łażewska**, K. Kieć-Kononowicz. *Progress in the development of histamine H₃ receptor antagonists/inverse agonists: a patent review (2013-2017)*. *Expert Opin. Ther. Patents.* 2018;28:175-196.
- [P27] M. Szafarz, J. Szymura-Oleksiak, **D. Łażewska**, K. Kieć-Kononowicz, *LC-MS-MS method for the analysis of new non-imidazole histamine H₃ receptor antagonists 1-[3-(4-tert-butylphenoxy)propyl]piperidine in rat serum- application to pharmacokinetic studies*. *Chromatographia (Wiesb.)* 2011;73(9-10):913-919
- [P28] J. Szymura-Oleksiak, A. Kryczyk, M. Szafarz, W. Jawień, **D. Łażewska**, K. Kieć-Kononowicz, *Binding of 1-[3-(4-tert-butylphenoxy)propyl]piperidine, a new non imidazole histamine H₃ receptor antagonist to bovine serum albumin*, *Acta. Pol. Pharm.* 2012;69:1043-1047.
- [P29] M. Szafarz, A. Kryczyk, **D. Łażewska**, K. Kieć-Kononowicz, E. Wyska, *Pharmacokinetics and tissue distribution of the new non-imidazole histamine H₃ receptor antagonist 1-[3-(4-tert-butylphenoxy) propyl]piperidine in rats*, *Xenobiotica*, 2015;45(10):912-20.
- [P30] A. Stasiak, M. Mussur, M. Unzeta, **D. Łażewska**, K. Kieć-Kononowicz, W.A. Fogel, *The central histamine level in rat model of vascular dementia*. *J Physiol Pharmacol.* 2011;62(5):549-58.
- [P31] S. Mogilski, M. Kubacka, **D. Łażewska**, M. Więcek, M. Głuch-Lutwin, M. Tyszkaczochara, K. Bukowska-Strakova, B. Filipek, K. Kieć-Kononowicz, *Aryl-1,3,5-triazine ligands of histamine H₄ receptor attenuate inflammatory and nociceptive response to carrageen, zymosan and lipopolysaccharide*, *Inflamm. Res.* 2017;66:79-95.
- [P32]: M. Bajda, K. Kuder, **D. Łażewska**, K. Kieć-Kononowicz, A. Więckowska, M. Ignasik, N. Guzior, J. Jończyk, B. Malawska: *Dual-acting Dieter derivatives of piperidine and homopiperidine with histamine H₃ receptor antagonistic and anticholinesterase activity*, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* 2012;345:591-597.
- [P33] **D. Łażewska**, J. Jończyk, M. Bajda, N. Szalaj, A. Więckowska, D. Panek, C. Moore, K. Kuder, B. Malawska, K. Kieć-Kononowicz, *Cholinesterase inhibitory activity of chlorophenoxy derivatives- histamine H₃ receptor ligands*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2016;26(16):4140-4145.
- [P34] B. Sadek, K. Kuder, D. Subramanian, M. Shafiullah, H. Stark, **D. Łażewska**, A. Adem, K. Kieć-Kononowicz. *Anticonvulsive effect of nonimidazole histamine H₃ receptor antagonists*, *Behav. Pharmacol.* 2014;25:245-252.
- [P35] B. Sadek, A. Saad, D. Subramanian, M. Shafiullah, **D. Łażewska**, K. Kieć-Kononowicz, *Anticonvulsant and precognitive properties of the non-imidazole histamine H₃ receptor antagonist DL77 in male adult rats*, *Neuropharmacology*, 2016;106:46-55.
- [P36] A. Alachkar, **D. Łażewska**, G. Latacz, A. Frank, A. Siwek, A. Lubelska, E. Honkisz-Orzechowska, J. Handzlik, H. Stark, K. Kieć-Kononowicz, B. Sadek, *Studies on anticonvulsant effects of novel histamine H₃R antagonists in electrically and chemically induced seizures in rats*, *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19:e3386.
- [P37] A. Alachkar, G. Latacz, A. Siwek, A. Lubelska, E. Honkisz, A. Gryboś, **D. Łażewska**, J. Handzlik, H. Stark, K. Kieć-Kononowicz, B. Sadek, *Anticonvulsant evaluation of novel non-imidazole histamine H₃R antagonists in different convulsion models in rats*, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2018;170:14-24.
- [P38] N. Eissa, N. Khan, S.K. Ojha, **D. Łażewska**, K. Kieć-Kononowicz, B. Sadek, *The histamine H₃ receptor antagonist DL77 ameliorates MK801-induced memory deficits in rats*, *Front. Neurosci.* 2018;12:e42.
- [P39] A. Alachkar, **D. Łażewska**, K. Kieć-Kononowicz, B. Sadek, *The histamine H₃ receptor antagonist E159 reverses memory deficits induced by dizocilpine in passive avoidance and novel object recognition paradigm in rats*, *Front. Pharmacol.* 2017;8:e709

- [P40] A. Bahi, B. Sadek, S.M. Nurulain, **D. Łażewska**, K. Kieć-Kononowicz, *The novel non-imidazole histamine H3 receptor antagonist DL77 reduces voluntary alcohol intake and ethanol-induced conditioned place preference in mice*, *Physiol Behav.* 2015;151:189-97.
- [P41] N. Eissa, P. Jayaprakash, S. Azimullah, S.K. Ojha, M. Al-Houqani, F.Y. Jalal, **D. Łażewska**, K. Kieć-Kononowicz, B. Sadek, *The histamine H3R antagonist DL77 attenuates autistic behaviors in a prenatal valproic acid-induced mouse model of autism*, *Sci. Rep.* 2018;8:e13077.
- [P42] K. Popiołek-Barczyk, **D. Łażewska**, G. Latacz, A. Olejarz, W. Makuch, H. Stark, K. Kieć-Kononowicz, J. Mika, *Antinociceptive effects of novel histamine H₃R and H₄R receptor antagonists and their influence on morphine analgesia of neuropathic pain in the mouse*, *Br J. Pharmacol.* 2018;175:2897-2910.
- [P43] C. Lanzi, L. Lucarini, M. Durante, S. Sgambellone, A. Pini, S. Catarinichia, **D. Łażewska**, K. Kieć-Kononowicz, H. Stark, E. Bastia, F. Impagnatiello, E. Masini, *Role of histamine H₃ receptor antagonists on intraocular pressure reduction in rabbit models of transient ocular hypertension and glaucoma*, *Int. J. Mol. Sci.* 2019 – w recenzji
- [P44] C.T. Schoeder, M. Kaleta, A.B. Mahardhika, A. Olejarz-Maciej, **D. Łażewska**, K. Kieć-Kononowicz, C.E. Muller, *Structure-activity relationships of imidazothiazinones and analogs as antagonists of the cannabinoid-activated orphan G protein-coupled receptor GPR18*, *Eur. J. Med. Chem.* 2018;155:381-397.
- [P45] **D. Łażewska**, P. Maludziński, E. Szymańska, K. Kieć-Kononowicz, *The lipophilicity estimation of 5-arylidene derivatives of (2-thio)hydantoin with antimycobacterial activity*. *Biomed. Chromatogr.* 2007;21:291-298.
- [P46] R. Kurczab, W. Ali, **D. Łażewska**, M. Kotańska, M. Jastrzębska-Więsek, G. Satała, M. Więcek, A. Lubelska, G. Latacz, A. Partyka, M. Starek, M. Dąbrowska, A. Wesółowska, C. Jacob, K. Kieć-Kononowicz, J. Handzlik, *Computer-aided studies for novel arylhydantoin 1,3,5-triazine derivatives as 5-HT₆ serotonin receptor ligands with antidepressive-like, anxiolytic and antiobesity action in vivo*, *Molecules*, 2018;23,e2529.