

# AUTOREFERAT

**MIROSŁAW ZAGAJA**

*Samodzielna Pracownia Analiz Izobolograficznych,  
Instytut Medycyny Wsi im. W. Chodźki w Lublinie*

**Tytuł osiągnięcia naukowego: "Wpływ wybranych kumaryn na  
ochronne działanie leków przeciwpadaczkowych  
w doświadczalnych modelach padaczki"**

**SPIS TREŚCI**

<b>1. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej .....</b>	<b>3</b>
<b>2. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.....</b>	<b>3</b>
3.1. Tytuł osiągnięcia naukowego.....	4
3.2. Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe .....	4
3.3. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania .....	6
3.4. Piśmiennictwo .....	18
<b>4. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej .....</b>	<b>21</b>
<b>5. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę .....</b>	<b>30</b>
5.1. Działalność dydaktyczna .....	31
5.2. Działalność organizacyjna .....	32
5.3. Działalność popularyzująca naukę .....	33
<b>6. Inne informacje dotyczące kariery zawodowej .....</b>	<b>33</b>
6.1. Nagrody .....	33
6.2. Stypendia .....	33
6.3. Projekty naukowe realizowane w ramach działalności statutowej IMW.....	34
6.4. Najważniejsze dane bibliometryczne .....	34

## 1. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE – Z PODANIEM PODMIOTU NADAJĄCEGO STOPIEŃ, ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

- 2012**            **doktor nauk biologicznych w dyscyplinie biologia**, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi,  
Tytuł rozprawy doktorskiej: „Morfologia stadiów rozwojowych, biologia oraz wybrane aspekty genetyki populacyjnej myrmekofilnego gatunku *Thiasophila angulata* (Erichson, 1837) (Coleoptera; Staphylinidae)”
- 2007**            **magister biotechnologii**, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi,  
Tytuł pracy magisterskiej: „Odporność przeciwwzakaźna typu lizozymu przeciwko *Mycobacterium smegmatis* w jelicie środkowym i płynie jamy ciała”
- 2006**            **magister biologii**, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi,  
Tytuł pracy magisterskiej: „Kusakowate (Coleoptera; Staphylinidae) gniazd mrówek okolic Leżajska”

## 2. INFORMACJA O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

- 2016-obecnie**            Adiunkt w Samodzielnej Pracowni Analiz Izobolograficznych w Instytucie Medycyny Wsi w Lublinie,
- 2012-2016**            Asystent w Samodzielnej Pracowni Analiz Izobolograficznych w Instytucie Medycyny Wsi w Lublinie,
- 2007-2011**            Doktorant w Zakładzie Zoologii, Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie.

### 3. OMÓWIENIE OSIĄGNIĘĆ, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1 PKT. 2 USTAWY

#### 3.1. Tytuł osiągnięcia naukowego:

"Wpływ wybranych kumaryn na ochronne działanie leków przeciwpadaczkowych w doświadczalnych modelach padaczki"

#### 3.2. Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe

Cykl 5 publikacji opublikowanych w czasopismach z Listy Filadelfijskiej [IF: 15,311; MNiSW: 285]

We wszystkich publikacjach jestem pierwszym autorem, a w trzech także autorem korespondencyjnym.

1) **Zagaja M**, Pyrka D, Skalicka-Wozniak K, Głowniak K, Florek-Luszczki M, Glensk M, Luszczki JJ. Effect of xanthotoxin (8-methoxypsoralen) on the anticonvulsant activity of classical antiepileptic drugs against maximal electroshock-induced seizures in mice. *Fitoterapia*, 2015, 105, 1–6. [IF: 2,408; MNiSW: 25]

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał: na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu i wykonaniu badań, polegających na ocenie wpływu ksantotoksyny na aktywność przeciwpadaczkową wybranych leków w teście maksymalnego wstrząsu elektrycznego (MES) u myszy, opracowaniu i interpretacji uzyskanych wyników badań oraz przygotowaniu manuskryptu.

*Mój udział procentowy szacuję na 75%.*

2) **Zagaja M**, Andres-Mach M, Patrzyłas P, Pyrka D, Szpringer M, Florek-Luszczki M, Żółkowska D, Skalicka-Woźniak K, Łuszczki JJ. Influence of xanthotoxin (8-methoxypsoralen) on the anticonvulsant activity of various novel antiepileptic drugs against maximal electroshock-induced seizures in mice. *Fitoterapia*, 2016, 115, 86–91. [IF:2,698; MNiSW: 30]

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał: na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu i wykonaniu badań, polegających na ocenie wpływu ksantotoksyny na aktywność przeciwpadaczkową wybranych nowych leków przeciwpadaczkowych w teście MES

u myszy, analizie działań niepożądanych badanych kombinacji, opracowaniu i interpretacji uzyskanych wyników oraz przygotowaniu manuskryptu.

*Mój udział procentowy szacuję na 80%.*

3) **Zagaja M**, Bryda J, Szewczyk A, Szala-Rycaj J, Łuszczki JJ, Walczak M, Kuś K, Andres-Mach M. Xanthotoxin enhances the anticonvulsant potency of levetiracetam and valproate in the 6-Hz corneal stimulation model in mice. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 2022, 36, 133-142. **[IF: 2,748; MNiSW:70]**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał: na opracowaniu koncepcji badań, uzyskaniu finansowania badań, zaplanowaniu i wykonaniu badań, polegających na ocenie wpływu ksantotoksyny na aktywność przeciwpadaczkową wybranych leków w teście drgawek psychoruchowych 6-Hz u myszy, opracowaniu i interpretacji uzyskanych wyników oraz przygotowaniu manuskryptu.

*Mój udział procentowy szacuję na 75%.*

4) **Zagaja M**, Andres-Mach M, Skalicka-Woźniak K, Rękas AR, Kondrat-Wróbel MW, Gleńsk M, Łuszczki JJ. Assessment of the Combined Treatment with Umbelliferone and Four Classical Antiepileptic Drugs Against Maximal Electroshock-Induced Seizures in Mice. *Pharmacology*, 2015, 96, 175–180. **[IF: 1,533; MNiSW: 20]**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał: na opracowaniu koncepcji badań; zaplanowaniu i wykonaniu badań, polegających na ocenie wpływu umbeliferonu na aktywność przeciwpadaczkową wybranych leków w teście MES u myszy, opracowaniu i interpretacji uzyskanych wyników oraz przygotowaniu manuskryptu.

*Mój udział procentowy szacuję na 75%.*

5) **Zagaja M**, Zagaja A, Szala-Rycaj J, Szewczyk A, Lemieszek MK, Raszewski G, Andres-Mach M. Influence of Umbelliferone on the Anticonvulsant and Neuroprotective Activity of Selected Antiepileptic Drugs: an In Vivo and In Vitro Study. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, 23, 3492. **[IF: 5,924; MNiSW: 140]**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał: na opracowaniu koncepcji badań, uzyskaniu finansowania badań, zaplanowaniu i wykonaniu badań, polegających na ocenie wpływu

umbeliferonu na aktywność przeciwpadaczkową wybranych leków w teście drgawek psychoruchowych 6-Hz u myszy, analizie działań niepożądanych badanych kombinacji, opracowaniu, analizie statystycznej i interpretacji uzyskanych wyników, oraz przygotowaniu manuskryptu.

*Mój udział procentowy szacuję na 85%.*

*Publikacje wchodzące w skład omawianego osiągnięcia wraz z oświadczeniami współautorów, wskazującymi na ich wkład merytoryczny w powstanie tych prac zamieszczono w Załączniku Nr 5*

### **3.3. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania**

Padaczka, jako jedna z najczęstszych chorób układu nerwowego, ze względu na powszechność występowania, zaliczana jest do chorób społecznych. Zdiagnozowana padaczka dotyczy około 70 milionów chorych na całym świecie, a częstość występowania w skali roku to około 125 000 nowych przypadków, z czego ponad 30% stanowią osoby poniżej 18 roku życia (Mukhopadhyay i wsp. 2012). W Polsce liczba chorych na padaczkę szacowana jest na około 400 000 i każdego roku zwiększa się o ponad 20 000 nowych przypadków (Jędrzejczak 2012). Chorobę tą definiuje się jako grupę chronicznych zaburzeń mózgu, charakteryzujących się trwałymi predyspozycjami do generowania napadów padaczkowych, powiązanych często z zaburzeniami lub utratą świadomości (Fisher i wsp. 2005, St. Louis i wsp. 2016). Padaczka, obok chorób sercowo-naczyniowych i nowotworów jest ważnym przedmiotem zainteresowania specjalistów zdrowia publicznego. Jest ona chorobą przewlekłą i bardzo często nieuleczalną, mającą niewątpliwie wpływ na jakość życia chorego, i to we wszystkich jego obszarach, tj. fizycznym, psychicznym i społecznym. Wśród pacjentów z padaczką jednym z głównych czynników wpływających na pogorszenie jakości życia jest występowanie depresji, ataków paniki czy psychoz. Ponadto, chorzy na nią niejednokrotnie borykają się z negatywnymi reakcjami ze strony środowiska społecznego, zwłaszcza wiejskiego, polegającymi na stygmatyzacji takich osób, co w konsekwencji może prowadzić do ich marginalizacji i wykluczenia społecznego (Rai i wsp. 2012).

Z punktu widzenia neurochemicznego napady padaczkowe występują na skutek zaburzeń równowagi pomiędzy szeroko rozumianymi procesami pobudzenia i hamowania w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN). Wiadomo, że istotną rolę odgrywają tutaj m.in.

zmiany w obrębie neurotransmisji glutaminergicznej i GABA-ergicznej, zaburzenia czynności kanałów i pomp jonowych, jak również zaburzenia metabolizmu i stanu energetycznego komórki. Ponadto w neurobiologii napadów padaczkowych mogą być zaangażowane inne neuroprzekaźniki i neuromodulatory takie jak: monoaminy, acetylocholina, neuropeptydy, neutrofiny, adenozyne czy komórki glejowe (Stafstrom 2006, Jefferys 2010, Lasoń i wsp. 2013).

Etiologia padaczki jest złożona i pomimo wielu lat intensywnych badań nie jest do końca poznana. Wiadomo, że napady padaczkowe mogą być skutkiem: występowania wad strukturalnych, genetycznych, czy metabolicznych, przebytych infekcji, dysfunkcji układu odpornościowego oraz wpływu wielu innych, dotychczas jeszcze niepoznanych, czynników (Scheffer i wsp. 2017).

Pomimo stale rosnącej liczby dostępnych leków przeciwpadaczkowych (LPP) i ich dużej różnorodności, w ponad 30% przypadków, padaczka jest oporna na jeden z dostępnych LPP, stosowanych w monoterapii (Kwani i wsp. 2011). Nieskuteczność monoterapii przy wykorzystaniu dwóch kolejnych leków z tej samej grupy jest podstawą do wprowadzenia politerapii za pomocą dwóch lub większej liczby LPP, najlepiej o różnych mechanizmach działania (Stephen i Brodie 2012, Mohanraj i Brodie 2013). Taka terapia niestety niesie za sobą zwiększone ryzyko wystąpienia skutków ubocznych. Do najczęstszych działań niepożądanych, wywołanych przez LPP zalicza się przede wszystkim: zaburzenia koordynacji, które obejmują zawroty głowy, brak równowagi, zaburzenia chodu, oczopląs, podwójne widzenie, zaburzenia funkcji poznawczych, takie jak problemy z uczeniem się i zapamiętywaniem oraz trudności z koncentracją. Ponadto leki te mogą powodować zmiany w zachowaniu i osobowości, m.in. drażliwość, nadpobudliwość i agresję, ale również depresję i psychozę (Perruca i Gilliam 2012). Należy podkreślić, że zarówno napady padaczkowe, jak i same leki przeciwpadaczkowe mogą powodować neurodegenerację, czyli uszkodzenie komórek nerwowych (Bittigau i wsp. 2002). Dlatego niezwykle ważne jest, aby stosowane leki wykazywały również właściwości neuroprotektoryjne, co nie jest cechą charakterystyczną dla wszystkich leków (Rekling 2003, Pitkänen i Kubova 2004).

W związku z tym, istnieje pilna potrzeba opracowania nowej klasy aktywnych związków, posiadających lepsze właściwości przeciwdrgawkowe, neuroprotektoryjne oraz mniejszą toksyczność. W ciągu ostatnich kilku lat zwraca się szczególną uwagę na substancje pochodzenia naturalnego (głównie roślinnego), które posiadają takie właśnie właściwości, czyli same działają przeciwpadaczkowo a ponadto podnoszą aktywność farmakologiczną

znanych już LPP (Andres-Mach i wsp. 2012, Łuszczki i wsp. 2007b, 2011, Johansenn Landmark i Patsalos 2008, Florek-Łuszczki i wsp. 2014, 2015).

Jednym z głównych obszarów mojej działalności naukowej jest ocena potencjalnych właściwości przeciwpadaczkowych nowych substancji, zarówno pochodzenia syntetycznego jak i naturalnego oraz ich wpływu na działanie klasycznych i nowych leków przeciwpadaczkowych w zwierzęcych modelach padaczki. Wśród wielu niezwykle ciekawych substancji, wykazujących właściwości przeciwdrgawkowe oraz neuroprotektoryjne dużo uwagi poświęciłem naturalnym substancjom, należącym do grupy kumaryn.

Kumaryny są grupą metabolitów wtórnych roślin, powszechnie występującą w przyrodzie. Stwierdzono je w 30 różnych rodzinach roślin wyższych, m.in. rutowatych (Rutaceae) i baldaszkowatych (Umbelliferae). Występują one we wszystkich częściach roślin (owoce, nasiona, korzenie, łodygi liście) pełniąc różnorodne funkcje, jak np. regulacja wzrostu, czy aktywność bakterio- i grzybobójcza. Istnieje ponad 1300 zidentyfikowanych kumaryn, które oprócz roślin znajdują się również w niektórych bakteriach i grzybach (Venugopala i wsp. 2013, Asif 2015). Związki te posiadają wiele właściwości farmakologicznych, w tym: antykoagulacyjne (Gebauer, 2007), fotouczulające (Eisenbrand 2007), przeciwbakteryjne (Tsassi i wsp. 2010), cytotoksyczne (Kostova 2005) oraz antyoksydacyjne (Piao i wsp. 2004). Ponadto badania na zwierzęcych modelach padaczki wykazały także właściwości przeciwdrgawkowe tych substancji, a stwierdzono je w przypadku imperatoryny (Łuszczki i wsp. 2007a), ostolu (Łuszczki i wsp. 2009), czy ksantotoksyny (Skalicka-Woźniak i wsp. 2014). Dodatkowo, w teście maksymalnego wstrząsu elektrycznego (MES) u myszy, wykazano korzystne interakcje pomiędzy wymienionymi kumarynami a klasycznymi lekami przeciwpadaczkowymi (Łuszczki i wsp. 2007b, Łuszczki i wsp. 2008).

Kontynuując przez ostatnie lata badania nad tymi niezwykle interesującymi substancjami naturalnymi, przeprowadziłem szereg eksperymentów. Miały one na celu ocenę potencjalnych właściwości przeciwdrgawkowych ksantotoksyny i umbeliferonu oraz określenie wpływu tych kumaryn na ochronne działanie przeciwdrgawkowe i neuroprotektoryjne wybranych leków przeciwpadaczkowych. Uzyskane przeze mnie wyniki niewątpliwie stanowią istotny wkład w poszerzenie wiedzy na temat możliwości wpływu kumaryn na wzmocnienie działania farmakologicznego badanych leków, przy jednoczesnym zmniejszeniu ich toksyczności, co tym samym może stanowić podstawy do opracowania nowych strategii prewencji/leczenia padaczki.

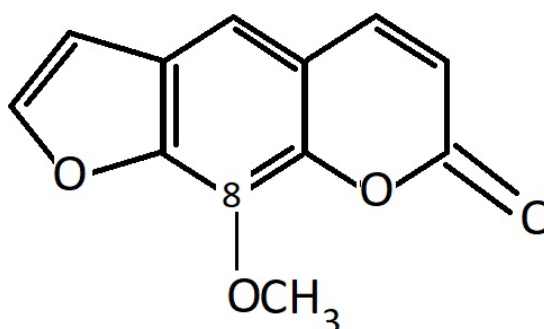


Metabolity wtórne, jakimi są kumaryny występują naturalnie w roślinach, które stanowią nie tylko podstawowe źródło pożywienia człowieka, ale również odgrywają istotną rolę w medycynie od tysięcy lat. W związku z tym poszerzenie wiedzy na temat farmakologicznych właściwości tych substancji może mieć duże znaczenie dla zdrowia człowieka i bezpieczeństwa wykorzystania kumaryn w tym aspekcie.

1. **Zagaja M, Pyrka D, Skalicka-Wozniak K, Głowniak K, Florek-Luszczki M, Glensk M, Luszczki JJ. Effect of xanthotoxin (8-methoxypsoralen) on the anticonvulsant activity of classical antiepileptic drugs against maximal electroshock-induced seizures in mice. *Fitoterapia*, 2015, 105, 1–6.**

2. **Zagaja M, Andres-Mach M, Patrzylas P, Pyrka D, Szpringer M, Florek-Luszczki M, Żółkowska D, Skalicka-Woźniak K, Luszczki JJ. Influence of xanthotoxin (8-methoxypsoralen) on the anticonvulsant activity of various novel antiepileptic drugs against maximal electroshock-induced seizures in mice. *Fitoterapia*, 2016, 115, 86–91.**

Ksantotoksyna (XANT, 8-metoksypsoralen) należy do furanokumaryn typu psoralenu. Występuje powszechnie w roślinach z rodziny selerowatych (*Apiaceae*) oraz rutowatych (*Rutaceae*). Bogatym źródłem XANT są owoce aminka większego (*Ammimajorisfructus*), owoce kminku (*Carvifructus*), korzeń arcydzięgla (*Archangelicaeredix*), korzeń biedrzeńca (*Pimpinellaeredix*) oraz ziele ruty (*HerbaRutae*) (Selim i Ouf 2012).



Rycina 1. Struktura chemiczna ksantotoksyny (XANT).

Podstawową właściwością farmakologiczną XANT jest zdolność do tworzenia fotoadduktów, co zostało wykorzystane w medycynie w terapiach chorób

autoimmunologicznych skóry, takich jak bielactwo i łuszczyca. XANT, jako związek fotouczulający stosowany w fototerapii PUVA (*ang. Psoralen Ultra-Violet A*) wpływa na repigmentację skóry oraz zapobiega nadmiernej proliferacji keratynocytów poprzez hamowanie replikacji DNA. Inną metodą, w której również wykorzystano aktywność XANT pod wpływem UVA jest fotofereza pozaustrojowa ECP (*ang. extracorporeal photopheresis*), wykorzystywana w leczeniu chłoniaka skóry T-komórkowego oraz w chorobie przeszczep przeciw gospodarzowi (*ang. graft-versus-host disease, GVHD*) (Zarębska 1994).

XANT wpływa również na aktywność ośrodkowego układu nerwowego oraz skutecznie pokonuje barierę krew-mózg. Badania wykazały, że substancja ta działa, jako inhibitor monoaminooksydazy, acetylocholinoesterazy oraz butyrylocholinoesterazy. W badaniach na myszach z deficytem pamięci wywołanym skopolaminą, ksantotoksyna poprawiała również zdolność zapamiętywania (Huong i wsp. 1999, Senol i wsp. 2011, Skalicka-Woźniak i wsp. 2014).

Przeciwdrgawkowe właściwości XANT zostały wykazane w badaniach przeprowadzonych z wykorzystaniem modeli padaczki eksperymentalnej. W teście maksymalnego wstrząsu elektrycznego, wykazano, że XANT podawana myszom w postaci iniekcji dootrzewnowej na 60 minut przed wywołaniem drgawek wykazywała przeciwdrgawkowy efekt ochronny (Skalicka-Woźniak i wsp. 2014).

Głównym celem obu, prezentowanych publikacji była ocena wpływu ksantotoksyny (XANT) na ochronne działanie czterech klasycznych leków przeciwpadaczkowych - karbamazepiny (CBZ), fenobarbitalu (PB), fenytoiny (PHT) i kwasu walproinowego (VPA), a także leków drugiej i trzeciej generacji - lamotryginy (LTG), okskarbazepiny (OXC), topiramatu (TPM), lakozamidu (LCM) i pregabaliny (PGB) w teście maksymalnego wstrząsu elektrycznego (MES). Uważany jest on za eksperymentalny model napadów toniczno-klonicznych oraz, w pewnym stopniu, napadów częściowych z wtórnym uogólnieniem lub bez wtórnego uogólnienia występujących u ludzi. Ponadto ten model padaczki eksperymentalnej jest podstawowym i pierwszym testem wykorzystywanym w celu identyfikacji związków o aktywności przeciwdrgawkowej (Löscher i wsp. 1991). W związku z tym zasadne było wykorzystanie tego testu do oceny przeciwdrgawkowego działania klasycznych, jak i nowych leków przeciwpadaczkowych w połączeniu z XANT.

Do przeprowadzenia doświadczeń wykorzystano dorosłe osobniki samców myszy szczepu Swiss Albino, o masie ciała 20 - 25 g. Drgawki toniczno-kloniczne wywoływano bodźcem elektrycznym o czasie trwania 0,2 s, napięciu 500 V i natężeniu 25 mA, poprzez standardowe elektrody uszne, przy użyciu generatora Rodent Shocker Type 221. Zwierzęta

obserwowano pod kątem wystąpienia drgawek tonicznych (pełny wyprost tylnych kończyn, występujący po uprzednim zgięciu przednich i tylnych kończyn). Mysiom podawano dootrzewnowo (i.p.- *intraperitoneal injection*) wybrane LPP we wzrastających dawkach, osobno oraz w kombinacji ze stałymi podprogowymi dawkami XANT, po czym na szczycie ich działania przeciwdrgawkowego dokonywano stymulacji prądem. W badaniach określono aktywność przeciwdrgawkową leków oraz ich kombinacji z XANT, poprzez wyznaczenie ich mediany dawek skutecznych ( $ED_{50}$  – *median effective dose*) w teście MES.

Ponadto, przeprowadzono także ocenę stężenia leków przeciwpadaczkowych w homogenatach mózgow myszy, w celu potwierdzenia bądź wykluczenia profilu interakcji na poziomie farmakokinetycznym pomiędzy XANT, a badanymi lekami przeciwpadaczkowymi. Dodatkowo w drugiej publikacji, przeprowadzono analizę działań niepożądanych XANT w kombinacji z badanymi lekami przeciwpadaczkowymi w wybranych testach behawioralnych: teście komina (ocena koordynacji ruchowej), biernego unikania (ocena pamięci długotrwałej), oraz chwytania (ocena siły mięśni szkieletowych).

W pierwszym etapie badań oceniono wpływ XANT na próg pobudliwości drgawkowej w teście progu maksymalnego wstrząsu elektrycznego (MEST) u myszy. W dawce 150 mg/kg, XANT znacząco podwyższyła wartość  $CS_{50}$  (natężenia prądu niezbędne do wywołania tonicznego wyprostów kończyn tylnych u 50% badanych zwierząt) z 7,32 mA do 11,09 mA (o 51,5%;  $P < 0,001$ ). Z kolei XANT, w dawkach 50 i 100 mg/kg, nie wpływała w sposób istotny statystycznie na próg drgawek toniczno-klonicznych,

Uzyskane wyniki wykazały, że XANT w dawce podprogowej 100 mg/kg (i.p.), podnosiła istotnie statystycznie działanie przeciwdrgawkowe CBZ i VPA, ale nie PB i PHT w teście MES u myszy. Wartości  $ED_{50}$  dla CBZ i VPA zostały obniżone odpowiednio - z 13.97 i 281.4 mg/kg do 5.01 i 195.5 mg/kg ( $P < 0.001$ ). Ponadto XANT w dawce 50 mg/kg obniżała istotnie statystycznie działanie CBZ z 13.97 mg/kg na 10.38 mg/kg (o 26%,  $P < 0.001$ ). Natomiast XANT w dawce 50 mg/kg nie wpływała na działanie przeciwdrgawkowe PB, PHT i VPA w teście MES. Co więcej, pomiar całkowitego stężenia LPP w homogenatach mózgow u myszy wykazał, że XANT w dawce 100 mg/kg, (i.p.) podnosiła istotnie statystycznie całkowite stężenia CBZ i VPA, co wskazuje na farmakokinetyczny charakter interakcji między substancjami.

W drugiej publikacji, wykorzystując tą samą metodykę, przeprowadzona została ocena wpływu XANT na aktywność przeciwdrgawkową pięciu LPP (LCM, LTG, OXC, PGB i TPM). XANT (100 mg/kg, i.p.) znacznie nasilała przeciwdrgawkowe działanie LCM, OXC, PGB i TPM w teście MES poprzez redukcję mediany dawek skutecznych, odpowiednio

z 8.70 mg/kg do 3.96 mg/kg ( $P < 0.01$ ; dla LCM), z 12.49 mg/kg do 7.54 mg/kg ( $P < 0.01$ ; dla OXC), z 77.37 mg/kg do 28.26 mg/kg ( $P < 0.01$ ; dla PGB) oraz z 68.81 mg/kg do 28.84 mg/kg ( $P < 0.001$ ; dla TPM). Ponadto XANT w dawce 50 mg/kg również znacząco wzmacniała przeciwdrgawkowe działanie LCM ( $P < 0.05$ ), PGB ( $P < 0.05$ ) i TPM ( $P < 0.001$ ) w teście MES u myszy. XANT (50 i 100 mg/kg, i.p.) nie miał wpływu na ochronne działanie LTG w przeprowadzonym teście.

Ponadto kombinacje XANT z OXC lub TPM nie powodowały działań niepożądanych w żadnym z trzech testów behawioralnych u badanych zwierząt. Jednak XANT w połączeniu z LCM, LTG lub PGB znacząco zmniejszała siłę mięśni szkieletowych u myszy w teście chwytania. Z kolei w teście komina tylko kombinacja XANT z PGB istotnie zaburzała koordynację ruchową u badanych zwierząt. Analiza stężeń leków w homogenatach mózgow wykazała, że XANT nie wpływała istotnie na całkowite stężenia badanych leków, co świadczy o farmakodynamicznym charakterze interakcji pomiędzy badanymi substancjami.

Podsumowując, po raz pierwszy stwierdzono, że XANT podnosi przeciwdrgawkowe działanie CBZ i VPA, ale nie PHT i PB w teście MES u myszy. Niestety to korzystne działanie XANT na te dwa leki przeciwpadaczkowe było prawdopodobnie spowodowane interakcjami farmakokinetycznymi, które znacznie zwiększyły całkowite stężenia CBZ i VPA w mózgu badanych zwierząt. W związku z tym zastosowanie XANT, jako dodatkowej substancji/leku w leczeniu napadów padaczkowych z tymi czterema klasycznymi LPP wymaga dalszych, bardziej zaawansowanych badań, np. zastosowania innych modeli padaczki eksperymentalnej.

Biorąc pod uwagę drugą publikację należy zauważyć, że istotne obniżenie dawek efektywnych leków uzyskano dla kombinacji XANT (100 mg/kg) z LCM, PGB ( $p < 0,01$ ), TPM ( $p < 0,001$ ) i OXC ( $p < 0,05$ ). Ponadto przeprowadzone testy behawioralne nie wykazały efektów niepożądanych dla badanych kombinacji, za wyjątkiem grupy XANT z PGB. Podsumowując, farmakodynamiczne podniesienie przeciwdrgawkowego działania OXC i TPM przez XANT, przy braku działań niepożądanych, sprawia, że kombinacje tych leków są warte rozważenia, jako potencjalnie korzystne pod kątem dalszych badaniach klinicznych.

**3. Zagaja M, Bryda J, Szewczyk A, Szala-Rycaj J, Łuszczki JJ, Walczak M, Kuś K, Andres-Mach M. Xanthotoxin enhances the anticonvulsant potency of levetiracetam and valproate in the 6-Hz corneal stimulation model in mice. Fundam. Clin. Pharmacol., 2022, 36(1):133-142.**

Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki z wykorzystaniem XANT i wybranych LPP postanowiono kontynuować badania nad tą kumaryną, i poszerzyć je o nowy model padaczki eksperymentalnej, jakim jest test drgawek psychoruchowych 6 Hz (32 mA), będący eksperymentalnym modelem napadów ogniskowych (limbicznych) u ludzi. Dokładniej, różne stereotypowe i behawioralne przejawy aktywności napadowej u zwierząt poddanych stymulacji elektrycznej prądem, o częstotliwości 6 Hz i natężeniu 32 mA, są podobne do tych obserwowanych u pacjentów z napadami padaczkowymi częściowymi (ogniskowymi) (Barton i in., 2001, 2003).

Głównym celem pracy była ocena wpływu XANT na ochronne działanie 4 wybranych leków przeciwpadaczkowych (LCM, lewetiracetamu - LEV, PB, VPA) w modelu drgawek psychoruchowych (6 Hz) u myszy. Przeanalizowano działania niepożądane XANT w kombinacji z wybranymi lekami przeciwpadaczkowymi w następujących testach behawioralnych: teście komina (ocena koordynacji ruchowej), biernego unikania (ocena pamięci długotrwałej) oraz chwytania (ocena siły mięśni szkieletowych). Ponadto oceniono stężenia leków przeciwpadaczkowych w homogenatach mózgow myszy, w celu potwierdzenia lub wykluczenia profilu interakcji na poziomie farmakokinetycznym pomiędzy XANT i badanymi lekami przeciwpadaczkowymi.

Do przeprowadzenia doświadczeń wykorzystano dorosłe osobniki samców myszy szczepu Swiss Albino o masie ciała 20-25 g. Drgawki psychoruchowe wywoływano poprzez elektrody rogówkowe (6 Hz i 32 mA, czas trwania 3 sek.). Po stymulacji, każde zwierzę z osobna wkładano do przezroczystej klatki i obserwowano. Drgawki psychoruchowe charakteryzują się m.in. 2-3 sekundową aktywnością ruchową, po której następuje faza bezruchu w pozycji stojącej na 2 tylnych łapkach. Ponadto, pojawiają się automatyzmy kończyn przednich z drgawkami klonicznymi, ruchy wąsów i wymuszona pozycja ogona - objaw Strauba. Efektem końcowym podczas stymulacji prądem, po podaniu leków, jest ochrona przed drgawkami, którą uznawano w sytuacji, gdy zwierzę wracało do naturalnej aktywności poznawczej w ciągu 30 s od stymulacji prądem. Drgawki u zwierząt nieotrzymujących żadnych leków trwają zazwyczaj od 60-120 s, po czym na koniec zwierzę odzyskuje naturalną aktywność poznawczą.

Wyznaczono wartości mediany dawek skutecznych ( $ED_{50}$ ) dla badanych kombinacji leków przeciwpadaczkowych z XANT: VPA + XANT (50) = 44.44 mg/kg; LEV + XANT (50) = 2.83 mg/kg; PB + XANT (50) = 7.51 mg/kg; LCM + XANT (50) = 3.76 mg/kg. XANT w dawce 50 mg/kg istotnie statystycznie podnosiła przeciwdrgawkowe działanie, zarówno LEV jak i VPA, obniżając ich medianę dawek skutecznych - odpowiednio z 19.37 do 2.83 mg/kg (o 85%;  $P < 0.01$ ) oraz z 92.89 do 44.44 mg/kg (52%;  $P < 0.05$ ). XANT w dawce 30 mg/kg nie wpływał na działanie przeciwdrgawkowe LEV i VPA w teście 6 Hz.

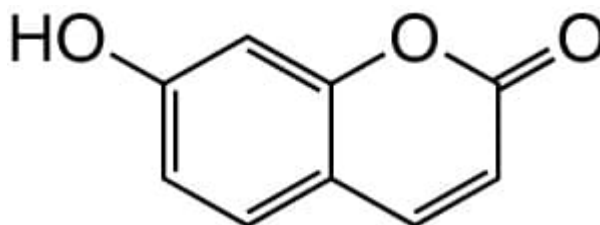
Ponadto badane leki podawane osobno, jak i w kombinacji z XANT nie powodowały działań niepożądanych w żadnym z zastosowanych testów behawioralnych. XANT podnosiła stężenie VPA w mózgu badanych zwierząt, co świadczy o farmakokinetycznym charakterze interakcji, w przypadku LEV możemy mówić o interakcji farmakodynamicznej, ponieważ XANT nie zmieniała stężenia tego leku u myszy.

Podsumowując, przeprowadzone badania wykazały, że stosowanie XANT w połączeniu z LEV, przy jednoczesnym braku skutków ubocznych i niekorzystnych interakcji farmakokinetycznych, jest korzystne z klinicznego punktu widzenia. Niezbędne są jednak dalsze badania, aby dokładnie zrozumieć mechanizm jej molekularnego działania i ocenić długoterminowe bezpieczeństwo klinicznego stosowania badanej substancji.

**4. Zagaja M, Andres-Mach M, Skalicka-Woźniak K, Rękas AR, Kondrat-Wróbel MW, Gleńsk M, Łuszczki JJ. Assessment of the Combined Treatment with Umbelliferone and Four Classical Antiepileptic Drugs Against Maximal Electroshock-Induced Seizures in Mice. *Pharmacology*, 2015, 96(3-4), 175–180.**

Drugą, niezwykle interesującą kumaryną wykazującym silne działanie przeciwpadaczkowe jest umbeliferon (7-hydroksykumaryna; UMB), związek powszechnie występujący w przyrodzie. Kumaryna ta wykazuje różne działania farmakologiczne, w tym przeciwhiperglykemiczne (Ramesh i wsp. 2006), rozszerzające oskrzela (Vasconcelos i wsp. 2009), przeciwobrzękowe (Toyama i wsp. 2009) i antynocyceptywne (Barros i wsp. 2010). Ponadto UMB posiada również właściwości przeciwnowotworowe (Kielbus i wsp. 2013), przeciwartretyczne (Sana i wsp. 2021), hepatoprotekcyjne (Germoush i wsp. 2018), przeciwastmatyczne (Vasconcelos i wsp. 2009) i przeciwalergiczne (Younas i wsp. 2021). Dodatkowo w badaniach *in vitro*, jak i *in vivo* UMB wykazuje właściwości, zarówno przeciwutleniające, jak i neuroprotekcyjne (Paya i wsp. 1992, Subramaniam i Ellis 2013). UMB może być podawany bezpiecznie i skutecznie, ponieważ jest nietoksyczny w małych

dawkach, co więcej, łatwo przenika przez barierę krew-mózg (Barber i wsp. 2009). Ze względu na swoją prostą budowę jest stosowany, jako związek macierzysty w syntezie różnych kumaryn i związków heterocyklicznych (Mazimba i wsp. 2017).



Rycina 1. Struktura chemiczna umbeliferonu (UMB)

Celem pracy było określenie wpływu UMB na ochronne działanie 4 klasycznych LPP (CBZ, PB, PHT i VPA) w teście MES u myszy. Dodatkowo, zmierzono wpływ UMB na całkowite stężenia LPP w mózgach badanych zwierząt w celu określenia, czy obserwowane efekty w tym modelu padaczki eksperymentalnej miały charakter farmakodynamiczny i/lub farmakokinetyczny.

UMB podawany (i.p.) w dawce 150 mg/kg istotnie podniósł próg drgawkowy wywołany wstrząsem elektrycznym u myszy, obniżając  $CS_{50}$  z 5.66 do 7.75 mA (o 37%,  $p < 0.05$ ). Ponadto w tej samej dawce badany związek nasilał istotnie statystycznie przeciwdrgawkowe działanie PB i VPA w teście MES. Obniżał  $ED_{50}$  VPA z 281,4 do 215,5 mg/kg i  $ED_{50}$  PB z 35,39 do 21,78 mg/kg. UMB w dawce 100 mg/kg nie podnosił działania przeciwdrgawkowego wszystkich czterech badanych leków. Dodatkowo nie wykazano wpływu UMB na całkowite stężenie tych leków w mózgach badanych zwierząt, co wskazuje na farmakodynamiczny profil interakcji pomiędzy tą kumaryną a badanymi lekami.

Podsumowując, selektywne wzmacnianie przeciwdrgawkowego działania PB i VPA przez UMB oraz brak jakichkolwiek interakcji farmakokinetycznych między lekami sprawia, że połączenie UMB z PB lub VPA jest godne rozważenia u pacjentów z padaczką oporną na standardowe leczenie przeciwpadaczkowe.

**5. Zagaja M, Zagaja A, Szala-Rycaj J, Szewczyk A, Lemieszek MK, Raszewski G, Andres-Mach M. Influence of Umbelliferone on the Anticonvulsant and Neuroprotective Activity of Selected Antiepileptic Drugs: an In Vivo and In Vitro Study. Int. J. Mol. Sci. 2022, 23, 3492.**

Celem pracy była ocena wpływu umbeliferonu (UMB) na ochronne działanie czterech wybranych leków przeciwpadaczkowych (LCM, LEV, PB, VPA) w teście drgawek psychoruchowych 6 Hz (32 mA), będącym, jak wspomniano wyżej, eksperymentalnym modelem padaczki częściowej lub limbicznej u ludzi (Barton i in., 2001, 2003). Przeprowadzono również analizę działań niepożądanych UMB w kombinacji z badanymi lekami, w wybranych testach behawioralnych. Dodatkowo oceniono stężenia leków w homogenatach mózgow myszy, w celu potwierdzenia bądź wykluczenia profilu interakcji na poziomie farmakokinetycznym pomiędzy UMB a badanymi LPP. Ponadto, biorąc pod uwagę właściwości neuroprotektoryjne UMB (wykazane zarówno w badaniach *in vivo* jak i *in vitro*), przeprowadzono ocenę właściwości neuroprotektoryjnych UMB oraz jego kombinacji z wybranymi LPP w dwóch modelach neurodegeneracji *in vitro*.

Do przeprowadzenia doświadczeń wykorzystano dorosłe osobniki samców myszy szczepu Swiss Albino o masie ciała 20-25 g. Drgawki psychoruchowe wywoływano poprzez elektrody rogówkowe (6 Hz i 32 mA, czas trwania 3 sek.). W pierwszym etapie badań wyznaczono wartości ED<sub>50</sub> dla badanych kombinacji leków przeciwpadaczkowych z UMB: LCM + UMB (100) = 3.6 mg/kg; LEV + UMB (100) = 11.9 mg/kg; PB + UMB (100) = 3.3 mg/kg; VPA + UMB (100) = 74.6 mg/kg. UMB w dawce 100 mg/kg, (i.p.) istotnie statystycznie podnosi przeciwdrgawkowe działanie zarówno PB jak i VPA, obniżając ich medianę dawek skutecznych, odpowiednio z 8.8 do 3.3 mg/kg (o 62.5%;  $p < 0.01$ ) oraz z 110.5 do 74.6 mg/kg (o 22.5%;  $p < 0.05$ ), ale nie LCM i LEV w teście 6 Hz u myszy. UMB w dawkach 50 mg/kg, nie wpływał na działanie przeciwdrgawkowe testowanych LPP w teście 6 Hz.

Ponadto badane leki podawane osobno, jak i w kombinacji (w dawce ED<sub>50</sub> z testu 6 Hz) z UMB (100 mg/kg) nie powodowały działań niepożądanych we wszystkich zastosowanych testach behawioralnych - teście komina (ocena koordynacji ruchowej), biernego unikania (ocena pamięci długotrwałej) oraz chwytania (ocena siły mięśni szkieletowych) u badanych zwierząt. Przeprowadzona, przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), ocena wpływu UMB na stężenie badanych leków w homogenatach mózgow u myszy nie wykazała istotnego statystycznie wpływu tej



kumaryny na ich stężenie, co świadczy o interakcji farmakodynamicznej pomiędzy tymi substancjami.

Następnie przeprowadzono ocenę właściwości neuroprotektoryjnych UMB oraz jego kombinacji z wybranymi LPP w dwóch modelach neurodegeneracji *in vitro*, obejmujących stres troficzny wywołany usunięciem z podłoża hodowlanego Suplementu B27 i ekscytotoksyczność, wywołaną podaniem do podłoża hodowlanego 5 mM glutaminianu. Badania przeprowadzono na neuronach wyprowadzonych z ludzkich komórek neuroblastoma linii SH-SY5Y, poprzez ich różnicowanie w obecności kwasu retinowego (Lemieszek i wsp. 2018). Uzyskane tą drogą komórki nerwowe wykazują cechy fenotypowe i funkcjonalne, charakterystyczne dla ludzkich neuronów. Badania zostały przeprowadzone na 10-14 dniowych hodowlach neuronów, stanowiących model ukształtowanego układu nerwowego.

Uzyskane wyniki wskazują na korzystny wpływ UMB (1, 2.5, 5  $\mu\text{g/mL}$ ) na żywotność neuronów, a także potwierdzają właściwości neuroprotektoryjne tej kumaryny. UMB w stężeniu 2.5 i 5  $\mu\text{g/mL}$  powodował wzrost aktywności metabolicznej neuronów - odpowiednio z 74.9% do 87.6% i 93.8%, w porównaniu do kontroli, w warunkach stresu troficznego. Ponadto w najwyższym stężeniu kumaryna ta istotnie statystycznie neutralizuje toksyczny wpływ glutaminianu na hodowlę neuronów.

LEV, PB i VPA w najwyższych badanych stężeniach (5  $\mu\text{g/mL}$ ) obniżały żywotność neuronów. Z kolei, LCM, LEV i PB skutecznie zwiększały żywotność komórek nerwowych, zarówno w warunkach stresu troficznego, jak i w obecności glutaminianu. Spośród badanych leków tylko VPA nie wykazywał właściwości neuroprotektoryjnych w obu zastosowanych modelach neurodegeneracji *in vitro*. Ponadto uzyskane wyniki pokazują, że UMB podany w dawce 1  $\mu\text{g/mL}$  (dawka, która nie zwiększa istotnie statystycznie żywotności komórek nerwowych w obu modelach neurodegeneracji) w kombinacji z wybranymi LPP łagodził negatywny wpływ wspomnianych leków na żywotność neuronów. Dodatkowo UMB podnosił neuroprotektoryjne właściwości wszystkich badanych leków w warunkach stresu troficznego, a także wzmacniał istotnie statystycznie neuroprotektoryjne właściwości PB ( $p < 0,05$ ) oraz VPA ( $p < 0,001$ ) w modelu ekscytotoksyczności, wywołanej podaniem glutaminianu w porównaniu do hodowli neuronów z samym lekiem.

Przeprowadzone badania wykazały, że stosowanie UMB w połączeniu z PB i VPA, przy jednoczesnym braku skutków ubocznych i niekorzystnych interakcji farmakokinetycznych, jest korzystne z klinicznego punktu widzenia. Ponadto UMB podnosił właściwości neuroprotektoryjne właściwości PB oraz VPA w obu zastosowanych modelach *in vitro*. Uzyskane wyniki z pewnością przyczynią się do poszerzenia wiedzy na temat

możliwości wzmocnienia przeciwdrgawkowego/neuroprotekcijnego działania wybranych LPP, poprzez połączenie ich z naturalną substancją, jaką jest UMB. Dodatkowo uzyskane wyniki mogą mieć znaczenie w kontekście bezpieczeństwa stosowania tych leków u pacjentów chorych na padaczkę.

### 3.4. Piśmiennictwo

1. Andres-Mach M, Zolkowska D, Barcicka-Klosowska B, Haratym-Maj A, Florek-Łuszczki M, Łuszczki JJ. Effect of ACEA-a selective cannabinoid CB1 receptor agonist on the protective action of different antiepileptic drugs in the mouse pentylenetetrazole-induced seizure model. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2012, 39, 301-9.
2. Asif M. Pharmacological activities and phytochemistry of various plant containing coumarin derivatives. *Current Science Perspectives*, 2015, 1, 77-90.
3. Barber SC, Higginbottom A, Mead RJ, Barber S, Shaw PJ. An in vitro screening cascade to identify neuroprotective antioxidants in ALS. *Free Radic. Biol. Med.*, 2009, 46, 1127-1138.
4. Barros TA, de Freitas LA, Filho JM, Nunes XP, Giuliatti AM, de Souza GE, dos Santos RR, Soares MB, Villarreal CF. Antinociceptive and anti-inflammatory properties of 7-hydroxycoumarin in experimental animal models: potential therapeutic for the control of inflammatory chronic pain. *J. Pharm. Pharmacol.*, 2010, 62, 205–213.
5. Barton ME, Klein BD, Wolf HH, White HS. Pharmacological characterization of the 6 Hz psychomotor seizure model of partial epilepsy. *Epilepsy Res.*, 2001, 47, 217–227.
6. Barton, ME, Peters SC, Shannon HE. Comparison of the effect of glutamate receptor modulators in the 6 Hz and maximal electroshock seizure models. *Epilepsy Res.*, 2003, 56, 17–26.
7. Bittigau P, Sifringer M, Genz K, Reith E, Pospischil D, Govindarajalu S, Dzierko M, Pesditschek S, Mai I, Dikranian K i wsp. Antiepileptic drugs and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, 99, 15089–15094.
8. Eisenbrand, G. Toxicological assessment of furocoumarins in foodstuffs. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2007, 51, 367–373.
9. Fisher RS, van Emde Boas W, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P. i.wsp. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*, 2005, 46, 470-472.
10. Florek-Łuszczki M., Zagaja M., Łuszczki JJ. Influence of WIN 55,212-2 on the anticonvulsant and acute neurotoxic potential of clobazam and lacosamide in the maximal electroshock-induced seizure model and chimney test in mice. *Epilepsy Res.*, 2014, 108, 1728–33.
11. Florek-Łuszczki M, Wlaź A, Zagaja M, Andres-Mach M, Kondrat-Wróbel MW, Łuszczki JJ. Effects of WIN 55,212-2 (a synthetic cannabinoid CB1 and CB2 receptor agonist) on the anticonvulsant activity of various novel antiepileptic drugs against

- 6Hz-induced psychomotor seizures in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2015, 130, 53-58.
12. Gebauer M. Synthesis and structure–activity relationships of novel warfarin derivatives. *Bioorg. Med. Chem.*, 2007, 15, 2414–2420.
  13. Germoush MO, Othman SI, Al-Qaraawi MA, Al-Harbi HM, Hussein OE, Al-Basher G, Alotaibi MF, Elgebaly HA, Sandhu MA, Allam AA i wsp. Umbelliferone prevents oxidative stress, inflammation and hematological alterations, and modulates glutamate-nitric oxide-cGMP signaling in hyperammonemic rats. *Biomed. Pharmacother.*, 2018, 102, 392–402.
  14. Huong DT, Choi HC, Rho TC, Lee HS, Lee MK, Kim YH. Inhibitory activity of monoamine oxidase by coumarins from *Peucedanum japonicum*. *Arch Pharm Res.*, 1999, 22, 324-326.
  15. Jefferys JG. Advances in understanding basic mechanisms of epilepsy and seizures. *Seizure*, 2010, 19, 638-646.
  16. Jędrzejczak J. Padaczka stare i nowe wyzwania (Epilepsyold and new challenges). *Postępy Nauk Medycznych*, 2012, 25, 45-50.
  17. Johannessen Landmark C, Patsalos PN. Interactions between antiepileptic drugs and herbal medicines. *BLACPMA*, 2008, 7, 108-118.
  18. Kielbus M, Skalicka-Wozniak K, Grabarska A, Jeleniewicz W, Dmoszynska-Graniczka M, Marston A, Polberg K, Gawda P, Klatka J, Stepulak A. 7-substituted coumarins inhibit proliferation and migration of laryngeal cancer cells in vitro. *Anticancer Res.*, 2013, 33, 4347–4356.
  19. Kostova I. Synthetic and natural coumarins as cytotoxic agents. *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents*, 2005, 5, 29–46.
  20. Kwan P, Schachter SC, Brodie MJ. Drug-resistant epilepsy. *N. Engl. J. Med.*, 2011, 365, 919–926.
  21. Lasoń W, Chlebicka M, Rejda K. Research advances in basic mechanisms of seizures and antiepileptic drug action. *Pharmacol Rep.*, 2013, 65, 787-801.
  22. Lemieszek MK, Nunes FM, Cardoso C, Marques G, Rzeski W. Neuroprotective properties of *Cantharellus cibarius* polysaccharide fractions in different in vitro models of neurodegeneration. *Carbohydr. Polym.*, 2018, 197, 598–607.
  23. Löscher W, Fassbender CP, Nolting B. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. II. Maximal electroshock seizure models. *Epilepsy Res.*, 1991, 8, 79–94.
  24. Łuszczki JJ, Glowniak K, Czuczwar SJ. Imperatorin enhances the protective activity of conventional antiepileptic drugs against maximal electroshock-induced seizures in mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 2007b, 574, 133–139.
  25. Łuszczki JJ, Glowniak K, Czuczwar SJ. Time-course and dose-response relationships of imperatorin in the mouse maximal electroshock seizure threshold model. *Neurosci. Res.*, 2007a, 59, 18–22.
  26. Łuszczki JJ, Andres-Mach M, Cisowski W, Mazol I, Glowniak K, Czuczwar SJ, Osthole suppresses seizures in the mouse maximal electroshock seizure model. *Eur. J. Pharmacol.*, 2009, 607, 107–109.

27. Łuszczki JJ, Wojda E, Raszewski G, Głowniak K, Czuczwar SJ. Influence of imperatorin on the anticonvulsant activity and acute adverse-effect profile of lamotrigine in maximal electroshock-induced seizures and chimney test in mice. *Pharmacol. Rep.*, 2008, 60, 566–573.
28. Mazimba O. Umbelliferone: sources, chemistry and bioactivities review. *Bull. Fac. Pharm. Cairo Univ.*, 2017, 55, 223–232.
29. Mohanraj R, Brodie MJ. Early predictors of outcome in newly diagnosed epilepsy. *Seizure*, 2013, 22, 333–344.
30. Mukhopadhyay HK, Kandar CC, Das SK, Ghosh L, Gupta BK. Epilepsy and its management: A review. *Journal of Pharm. Sci. Tech.*, 2012, 1, 20-26.
31. Paya M, Halliwell B, Hoult JR. Peroxyl radical scavenging by a series of coumarins. *Free Radic. Res. Commun.*, 1992, 17, 293-298.
32. Perucca P, Gilliam, F.G. Adverse effects of antiepileptic drugs. *Lancet Neurol.*, 2012, 11, 792–802.
33. Piao XL, Park IH, Baek SH, Kim HY, Park MK, Park JH. Antioxidative activity of furanocoumarins isolated from *Angelicaedahuricae*. *J. Ethnopharmacol.*, 2004, 93, 243–246.
34. Pitkänen A, Kubova H. Antiepileptic drugs in neuroprotection. *Expert Opin. Pharmacother.*, 2004, 5, 777–798.
35. Rai D, Kerr MP, McManus S, Jordanova V, Lewis G, Brugha TS. Epilepsy and psychiatric comorbidity: a nationally representative population-based study. *Epilepsia*, 2012, 53, 1095-1103.
36. Ramesh B, Pugalendi KV. Antihyperglycemic effect of umbelliferone in streptozotocin-diabetic rats. *J. Med. Food*, 2006, 9, 562–566.
37. Rekling JC. Neuroprotective effects of anticonvulsants in rat hippocampal slice cultures exposed to oxygen/glucose deprivation. *Neurosci. Lett.*, 2003, 335, 167–170.
38. Sana E, Zeeshan M, Ain QU, Khan AU, Hussain I, Khan S, Lepeltier E, Ali H. Topical delivery of curcumin-loaded transfersomes gel ameliorated rheumatoid arthritis by inhibiting NF- $\kappa$ B pathway. *Nanomedicine.*, 2021, 16, 819–837.
39. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L i wsp. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, 2017, 58, 512-521.
40. Selim YA, Ouf NH. Anti-inflammatory new coumarin from the *Ammi majus* L. *Org Med Chem Lett.*, 2012, 2, 1.
41. Senol FS, Skalicka-Woźniak K, Khan MTH, Orhan IE, Sener B, Głowniak K. An in vitro and in silico approach to cholinesterase inhibitory and antioxidant effects of the methanol extract, furanocoumarin fraction, and major coumarins of *Angelica officinalis* L. fruits. *Phytochem Lett.*, 2011, 4, 462–467.
42. Skalicka-Woźniak K, Zagaja M, Głowniak K, Łuszczki JJ. Purification and anticonvulsant activity of xanthotoxin (8-methoxypsoralen). *Cent. Eur. J. Biol.*, 2014, 9, 431–436.
43. St. Louis EK, Cascino GD. Diagnosis of epilepsy and related episodic disorders. *Epilepsy*, 2016, 22, 15-37.

44. Stafstrom CE. Epilepsy: a review of selected clinical syndromes and advances in basic science. *J Cereb Blood Flow Metab.*, 2006, 26, 983-1004.
45. Stephen LJ, Brodie MJ. Antiepileptic drug monotherapy versus polytherapy: Pursuing seizure freedom and tolerability in adults. *Curr. Opin. Neurol.*, 2012, 25, 164–172.
46. Subramaniam SR, Ellis EM. Neuroprotective effects of umbelliferone and esculetin in a mouse model of Parkinson's disease. *J. Neurosci. Res.*, 2013, 91, 453–461.
47. Toyama DO, Marangoni S, DizFilho EBS, Oliveira SCB, Toyama MH. Effect of umbelliferone (7-hydroxycoumarin, 7-HC) on the enzymatic, edematogenic and necrotic activities of secretory phospholipase A2 (sPLA2) isolated from *Crotalus durissus collilineatus* venom. *Toxicon*, 2009. 53, 417–426.
48. Tsassi VB, Hussain H, Meffo BY, Kouam SF, Dongo E, Schulz B, Greene IR, Krohn K. Antimicrobial coumarins from the stem bark of *Afraegle paniculata*. *Nat. Prod. Commun.*, 2010, 5, 559–561.
49. Vasconcelos JF, Teixeira MM, Barbosa-Filho JM, Agra MF, Nunes XP, Giuliatti AM, Ribeiro-dos-Santos R, Soares MB. Effects of umbelliferone in a murine model of allergic airway inflammation. *Eur. J. Pharmacol.*, 2009, 609, 126–131.
50. Vasconcelos JF, Teixeira MM, Barbosa-Filho JM, Agra MF, Nunes XP, Giuliatti AM, Ribeiro-dos-Santos R, Soares MB. Effects of umbelliferone in a murine model of allergic airway inflammation. *Eur. J. Pharmacol.*, 2009, 609, 126–131.
51. Venugopala KN, Rashmi V, Odhav B. Review on natural coumarin lead compounds for their pharmacological activity. *Biomed. Res. Int.*, 2013, 963248.
52. Younas Khan A, Shehzad O, Seo EK, Onder A, Khan S. Anti-allergic activities of Umbelliferone against histamine- and Picryl chloride-induced ear edema by targeting Nrf2/iNOS signaling in mice. *BMC Complement. Med. Ther.*, 2021, 21, 215.
53. Zagaja M, Pyrka D, Skalicka-Woźniak K, Głowniak K, Florek-Luszczki M, Głęńsk M, Łuszczki JJ. Effect of xanthotoxin (8-methoxypsoralen) on the anticonvulsant activity of classical antiepileptic drugs against maximal electroshock-induced seizures in mice. *Fitoterapia*, 2015, 105, 1-6.
54. Zarębska Z. Cell membrane, a target for PUVA therapy. *J. Photochem Photobiol B.*, 1994, 23, 101–109.

#### **4. INFORMACJA O WYKAZYWANIU SIĘ ISTOTNĄ AKTYWNOŚCIĄ NAUKOWĄ ALBO ARTYSTYCZNĄ REALIZOWANĄ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ UCZELNI, INSTYTUCJI NAUKOWEJ LUB INSTYTUCJI KULTURY, W SZCZEGÓLNOŚCI ZAGRANICZNEJ.**

Jestem absolwentem biologii (specjalność biologia ogólna) oraz biotechnologii Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi UMCS (obecnie Wydział Biologii i Biotechnologii) w Lublinie. Działalność naukową rozpocząłem w 2007 roku od studiów doktoranckich na tym samym Wydziale w Zakładzie Zoologii (obecnie Katedra Zoologii i Ochrony Przyrody) pod

kierunkiem prof. dra hab. Bernarda Stańca, gdzie przygotowałem i obroniłem rozprawę doktorską pt. „Morfologia stadiów rozwojowych, biologia oraz wybrane aspekty genetyki populacyjnej *Thiasophila angulata* (Erichson, 1837) (Coleoptera; Staphylinidae) – myrmekofila zasiedlającego gniazda mrówek z grupy *Formica rufa*”. W oparciu o wyniki zamieszczone w rozprawie powstały trzy publikacje, a także został opisany nowy gatunek dla nauki *Thiasophila szujeckii* Zagaja & Staniec, 2015:

1. **Zagaja M, Staniec B, Pietrykowska-Tudruj E.** *The first morphological description of the immature stages of Thiasophila Kraatz, 1856 (Coleoptera; Staphylinidae) inhabiting ant colonies of the Formica rufa group.* *Zootaxa*, 2014, 3774(4): 301-323.
2. **Zagaja M, Staniec B.** *Thiasophila szujeckii sp. n. (Coleoptera, Staphylinidae, Aleocharinae) - A cryptic species associated with Formica truncorum in Poland.* *Zootaxa*, 2015, 3955(3): 417-426.
3. **Zagaja M, Staniec B, Pietrykowska-Tudruj E, Trytek M.** *Biology and defensive secretion of myrmecophilous Thiasophila spp. (Coleoptera: Staphylinidae: Aleocharinae) associated with the Formica rufa species group.* *Journal of Natural History*, 2017, 51(45-46): 2759-2777.

W kwietniu 2012 r. rozpocząłem pracę naukową, jako asystent w Samodzielnej Pracowni Analiz Izobolograficznych, Instytutu Medycyny Wsi im. W. Chodźki w Lublinie, której kierownikiem był prof. dr hab. Jarogniew Łuszczki. Tym samym zmieniłem profil mojej działalności naukowej i rozpocząłem naukową przygodę związaną z oceną charakteru interakcji zachodzących pomiędzy lekami przeciwpadaczkowymi, zarówno na poziomie farmakodynamicznym jak i farmakokinetycznym, głównie w oparciu o analizę izobolograficzną. Ponadto, podjąłem temat poszukiwania substancji zarówno naturalnych jak i syntetycznych o potencjalnych właściwościach przeciwdrgawkowych i neuroprotektoryjnych, jednocześnie nie toksycznych oraz takich, które mogą wpływać potęgująco na właściwości przeciwdrgawkowe leków już stosowanych w terapii padaczki.

Od samego początku mojej działalności naukowej związany byłem z wieloma uczelniami oraz instytucjami naukowymi w kraju i za granicą, a w szczególności z: Uniwersytetem Medycznym w Lublinie, Uniwersytetem Jagiellońskim w Krakowie, Uniwersytetem Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Uniwersytetem Medycznym im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Uniwersytetem Gdańskim i Uniwersytetem Warszawskim,

a także z University of California–Davis, Sacramento, USA oraz University of Utah, Salt Lake City, USA.

Wybrane publikacje powstałe w ramach współpracy z w/w uczelniami (szczegółowy wykaz - Załączniku nr 4):

1. *Luszczki JJ, Zagaja M, Miziak B, Florek-Luszczki M, Czuczwar SJ. Synergistic interaction of retigabine with levetiracetam in the mouse maximal electroshock-induced seizure model: a type II isobolographic analysis. Pharmacology, 2015, 96(1-2): 11-15.*
2. *Żółkowska D, Zagaja M, Miziak B, Kondrat-Wróbel MW, Zaluska K, Florek-Luszczki M, Szpringer M, Drop B, Zadrozniak M, Czuczwar SJ, Luszczki JJ. Isobolographic assessment of interactions between retigabine and phenytoin in the mouse maximal electroshock-induced seizure model and chimney test. Health Probl. Civiliz., 2016, 10(4): 54-59.*
3. *Luszczki JJ, Patrylas P, Zagaja M, Andres-Mach M, Zaluska K, Kondrat-Wróbel MW, Szpringer M, Chmielewski J, Florek-Luszczki M. Effects of arachidonyl-2'-chloroethylamide (ACEA) on the protective action of various antiepileptic drugs in the 6-Hz corneal stimulation model in mice. PLoS One, 2017, 12(8): e0183873.*
4. *Luszczki JJ, Panasiuk A, Zagaja M, Karwan S, Bojar H, Plewa Z, Florek-Luszczki M. Polygonogram and isobolographic analysis of interactions between various novel antiepileptic drugs in the 6-Hz corneal stimulation-induced seizure model in mice. PLoS One, 2020, 15(6): e0234070.*
5. *Kaczmarczyk-Ziemia A, Zagaja M, Wagner GK, Pietrykowska-Tudruj E, Staniec B. The microbiota of the *Lasius fuliginosus*–*Pella laticollis* myrmecophilous interaction. European Zoological Journal, 2020 87(1), pp. 754-769.*
6. *Jakubiec M, Abram M, Zagaja M, Andres-Mach M, Szewczyk A, Latacz G, Szulczyk B, Socala K, Nieoczym D, Wlaż P, Metcalf CS, Wilcox K, Kamiński RM, Kamiński K. New phenylglycinamide derivatives with hybrid structure as candidates for new broad-spectrum anticonvulsants. Cells (w recenzji)*

W 2013 roku dołączyłem, jako wykonawca, do projektu naukowego pt. "Wpływ wybranych leków przeciwpadaczkowych w kombinacji z arachinodyl-2 chloroetylamidem, selektywnym agonistą receptora kanabinoidowego CB1 na proces neurogenezy w pilokarpinowym modelu padaczki u myszy", kierowanego przez dr hab. Martę Andres-Mach prof. IMW, realizowanego w ramach programu OPUS Narodowego Centrum Nauki

(NCN). Głównym tematem projektu była ocena neurogenezy u młodocianych myszy po przewlekłym traktowaniu dwoma wybranymi lekami przeciwpadaczkowymi: VPA i LEV w kombinacji z syntetycznym kanabinoidem ACEA. W badaniach, oprócz zwierząt z wywołanymi napadami padaczkowymi, wykorzystane były także zwierzęta wolne od pilokarpiny, a wyniki badań tej grupy pozwoliły na ocenę wpływu samych LPP, jak również ACEA na proces neurogenezy. Projekt ten realizowany był wspólnie z naukowcami z Uniwersytetu Medycznego w Lublinie (Katedra i Klinika Neurochirurgii i Neurochirurgii Dziecięcej i Zakład Biofarmacji).

Również jako wykonawca brałem udział w kolejnym projekcie dotyczącym neurogenezy NCN OPUS pt. Ocena właściwości neuroprotektoryjnych oraz wpływu na neurogenezę pochodnych kwasu 2-(2,5-dioksopirolidyno-1-yl)-2-propanowego w pilokarpinowym modelu padaczki u myszy”, realizowanym również wspólnie z naukowcami z Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, a także z Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie (Katedra Chemii Farmaceutycznej). Projekt ten dotyczył wpływu przewlekłego podawania związku C-11 (substancji hybrydowej) i wybranych LPP na degenerację, apoptozę oraz neurogenezę komórek nerwowych u myszy zdrowych i po podaniu pilokarpiny.

Wymiernym efektem realizacji tych projektów były min. następujące publikacje:

1. *Andres-Mach M, Haratym-Maj A, **Zagaja M**, Rola R, Maj M, Chrościńska-Krawczyk M, Łuszczki JJ. ACEA (a highly selective cannabinoid CB1 receptor agonist) stimulates hippocampal neurogenesis in mice treated with antiepileptic drugs. Brain Res., 2015,1624: 86-94.*
2. *Andres-Mach M, **Zagaja M**, Haratym-Maj A, Rola R, Maj M, Haratym J, Dudra-Jastrzębska M, Łuszczki JJ. A Long-Term Treatment with Arachidonyl-2'-Chloroethylamide Combined with Valproate Increases Neurogenesis in a Mouse Pilocarpine Model of Epilepsy. Int. J. Mol. Sci., 2017, 18(5): 900.*
3. ***Zagaja M**, Haratym-Maj A, Szewczyk A, Rola R, Maj M, Łuszczki JJ, Andres-Mach M. Levetiracetam combined with ACEA, highly selective cannabinoid CB1 receptor agonist changes neurogenesis in mouse brain. Neurosci. Lett., 2019, 696: 79-86.*
4. *Andres-Mach M, Szewczyk A, **Zagaja M**, Łuszczki J, Maj M, Rola R, Abram M, Kaminski K. Evaluation of the impact of compound C11 a new anticonvulsant candidate on cognitive functions and hippocampal neurogenesis in mouse brain. Neuropharmacology, 2020, 163:107849.*



5. Andres-Mach M, Szewczyk A, **Zagaja M**, Szala-Rycaj J, Lemieszek MK, Maj M, Abram M, Kaminski K. Preclinical assessment of a new hybrid compound C11 efficacy on neurogenesis and cognitive functions after pilocarpine induced status epilepticus in mice. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, 22(6):3240.
6. Szewczyk A, **Zagaja M**, Szala-Rycaj J, Maj M, Andres-Mach M. Effect of lacosamide and ethosuximide chronic treatment on neural precursor cells and cognitive functions after pilocarpine induced status epilepticus in mice. *Brain Sciences*, 2021, 11(8): 1014.

oraz następujące doniesienia zjazdowe, prezentowane na międzynarodowych konferencjach:

1. Andres-Mach M, **Zagaja M**, Szewczyk A, Szala-Rycaj, J Lemieszek M, Maj M, Abram M, Kamiński K. C11, A Novel 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl) propanamide Derivative as A Candidate for a Broad-spectrum Antiepileptic Drug: Its Impact on Neurogenesis, Neurodegeneration and Cognitive Functions in Mice. 6th Neurological Disorders Summit (NDS-2021 Virtual) June 21-23, 2021, Sn Francisco, USA.
2. Andres-Mach M, **Zagaja M**, Szewczyk A, Szala-Rycaj J, Lemieszek M, Maj M, Abram M, Kamiński K. Evaluation of an impact of C11 as a new potent candidate for antiepileptic drug on newly generated cells and cognitive functions in a mouse pilocarpine model of epilepsy. 14th World Congress on Controversies in Neurology, 29.10-01-11.2020 Londyn.
3. Andres-Mach M, **Zagaja M**, Szewczyk A, Kaminski K, Rola R, Maj M, Luszczki J. The Influence Of The Long Term Treatment With A New Potent Anticonvulsant Hybrid Compound Derived From 2-(2,5-Dioxopyrrolidin-1-Yl) Propanamide And Lacosamide, A Third-Generation Antiepileptic Drug On Neuroprotection And Neurogenesis In Mice. *EPILEPSIA* 2019, 60: 47-47 Supplement: 2. 33rd International Epilepsy Congress, 22-26 June, 2019 Bangkok, Thailand.
4. Andres-Mach M, **Zagaja M**, Szewczyk A, Kamiński K, Rola R, Maj M, Luszczki J. Evaluation of the neurogenesis and neurodegeneration process after long term treatment with a new potent anticonvulsant hybrid compound derived from 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl) propanamide in mice 12th Asian & Oceanian Epilepsy Congress, 28.06-01.07 2018, Sanur, Indonezja.
5. **Zagaja M**, Szewczyk A, Luszczki JJ, Andres-Mach M. Influence of lacosamide, a third-generation antiepileptic drug on neuroprotection and hippocampal cell proliferation in a mouse brain 12th World Congress on Controversies in Neurology (CONy). 22-25.03.2018 Warszawa.

6. Andres-Mach M, Haratym-Maj A, **Zagaja M**, Rola R, Maj M, Łuszczki J. ACEA, a selective cannabinoid *cb1* receptor agonist combined with levetiracetam stimulates neurogenesis in adolescent mouse brain. *Epilepsia [online] 2015 vol. 56 suppl. 1 s. 40, 31st International Epilepsy Congress. 5th-9th September, 2015 Istanbul, Turkey.*

Wyniki drugiego grantu były podstawą pracy doktorskiej dr Aleksandra Szewczyk, pt. „Ocena właściwości neuroprotektoryjnych oraz wpływu na neurogenezę nowej pochodnej kwasu 2-(2,5-dioksopirolidyno-1-ylo)-2-propanowego oraz wybranych leków przeciwpadaczkowych w badaniach *in-vivo*”, w której pełniłem rolę promotora pomocniczego.

Równocześnie od początku pracy w IMW zostałem zaangażowany do badań nad właściwościami przeciwpadaczkowymi syntetycznych związków hybrydowych, które były realizowane w ramach grantu NCN Sonata pt. „Poszukiwanie nowych substancji o zróżnicowanych właściwościach protekcyjnych w zwierzęcych modelach drgawek padaczkowych wśród amidowych pochodnych kwasu 1-(2,5-dioksopirolidyn-1-ylo)-octowego” przez pracowników naukowych pod kierownictwem dra hab. Krzysztofa Kamińskiego prof. UJ z Katedry Chemii Farmaceutycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Związki te powstały w wyniku połączenia (hybrydyzacji) fragmentów struktury etosuksymidu (pochodna pirolidyno-2,5-dionu), lewetyracetamu (butanamidowa pochodna pirolidyn-2-onu) i lakozamidu (związek o budowie benzyloamidowej). Dzięki takiej budowie związki te wykazywały szerokie spektrum aktywności przeciwdrgawkowej w różnych modelach padaczki eksperymentalnej u zwierząt.

W ramach współpracy z zespołem prof. Kaminskiego biorę udział, jako wykonawca, w realizacji grantu NCN OPUS pt. „Nowi antagoniści receptora waniloidowego typu 1 (TRPV1) w poszukiwaniu substancji o szerokim spektrum aktywności przeciwdrgawkowej i przeciwbólowej w badaniach przedklinicznych”. Tematem tego projektu, jest ocena właściwości przeciwdrgawkowych oraz przeciwbólowych nowej klasy antagonistów receptora waniloidowego przejściowego potencjału, typu 1 - TRPV1 w wybranych modelach padaczki eksperymentalnej. Antagonizm receptora TRPV1 może warunkować szeroką aktywność przeciwdrgawkową w różnych zwierzęcych modelach padaczki, a substancje o takim mechanizmie działania mogą być obiecującymi kandydatami na nowe leki przeciwpadaczkowe.

Wyniki badań prowadzonych w ramach tych projektów, zostały przedstawione w publikacjach:

1. Kamiński K, **Zagaja M**, Łuszczki JJ, Rapacz A, Andres-Mach M, Latacz G, Kieć-Kononowicz K. Design, synthesis, and anticonvulsant activity of new hybrid compounds derived from 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)propanamides and 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)butanamides. *J. Med. Chem.*, 2015, 58(13): 5274-5286.
2. Kamiński K, **Zagaja M**, Rapacz A, Łuszczki JJ, Andres-Mach M, Abram M, Obniska J. New hybrid molecules with anticonvulsant and antinociceptive activity derived from 3-methyl- or 3,3-dimethyl-1-[1-oxo-1-(4-phenylpiperazin-1-yl)propan-2-yl] pyrrolidine-2,5-diones. *Bioorg. Med. Chem.*, 2016, 24(4): 606-618.
3. Abram M, **Zagaja M**, Mogilski S, Andres-Mach M, Latacz G, Baś S, Łuszczki JJ, Kieć-Kononowicz K, Kamiński K. Multifunctional hybrid compounds derived from 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)-3-methoxypropanamides with anticonvulsant and antinociceptive properties. *J. Med. Chem.*, 2017 vol. 60 nr 20 s. 8565-8579
4. Kamiński K, Socala K, **Zagaja M**, Andres-Mach M, Abram M, Jakubiec M, Pieróg M, Nieoczym D, Rapacz A, Gawel K, Esguerra CV, Latacz G, Lubelska A, Szulczyk B, Szewczyk A, Łuszczki JJ, Wlaź P. N-benzyl-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)propanamide (AS-1) with hybrid structure as a candidate for a broad-spectrum antiepileptic drug. *Neurotherapeutics*, 2020, 17(1): 309-328.

oraz doniesieniach zjazdowych:

1. Kamiński K, Łuszczki JJ, **Zagaja M**, Obniska J. Synthesis and anticonvulsant activity of new 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)propionamides and 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)butanamides. VI Konwersatorium Chemii Medycznej. 18-20 września 2014 Lublin.
2. Kamiński K, Łuszczki JJ, **Zagaja M**, Obniska J. Design, synthesis and anticonvulsant activity of new 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)propionamides and 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)butanamides. 19th International Medical Esperanto Congress & 1st Central European Biomedical Congress "Chronic Diseases as Challenge for Contemporary Societies in the 21st Century, 16-20 July 2014, Budapest, Hungary.
3. Kamiński K, **Zagaja M**, Rapacz A, Łuszczki JJ, Filipek B, Obniska J. Design, synthesis and biological activity of new hybrid anticonvulsants derived from 3-methyl- and 3,3-dimethyl-1-[1-oxo-1-(4-phenylpiperazin-1-yl)propan-2-yl]pyrrolidine-2,5-diones. VII Konwersatorium Chemii Medycznej & VIII Sympozjum PTBI. 17-19.09.2015 Lublin.
4. Kamiński K, Jakubiec M, **Zagaja M**, Andres-Mach M, Mogilski Sz, Latacz G. New TRPV1 Antagonists as Candidates for Effective Anticonvulsant and Antinociceptive

*Agents. Proceedings 2019, 22(1): 30. 2nd Molecules Medicinal Chemistry Symposium (MMCS): Facing Novel Challenges in Drug Discovery, 15–17 May 2019 Barcelona, Spain.*

5. *Jakubiec M, Abram M, Zagaja M, Andres-Mach M, Szewczyk A, Latacz G, Szulczyk B, Socala K, Nieoczym D, Wlaż P, Kamiński K. New phenyl-glycinamide derivatives with hybrid structure as candidates on new effective anticonvulsants. X Konwersatorium Chemii Medycznej, 3-5. 09. 2021 Lublin.*

Wiedzę i doświadczenie zdobyte w/w projektach wykorzystałem do zrealizowania własnego grantu NCN Miniatura2018/02/X/NZ7/03612,pt „Wpływ pochodnej kwasu 2-(2,5-dioskopirolidyno-1-ylo)-2-propanowego na ochronne działanie wybranych leków przeciwpadaczkowych w teście maksymalnego wstrząsu elektrycznego (MES) u myszy”. Wykazałem, że hybryda C-11 zwiększa efektywność przeciwdrgawkową wybranych LPP (LCM, LTG, VPA i CBZ), szczególnie LCM i VPA w zastosowanym teście MES u myszy. Ponadto badane leki podawane osobno, jak i w kombinacji z C-11 nie powodowały działań niepożądanych w żadnym z zastosowanych testach behawioralnych. C-11 nie podnosił stężenia zarówno LCM, jak i VPA w mózgu badanych zwierząt, co świadczy o korzystnej, farmakodynamicznej interakcji pomiędzy tymi substancjami. Ponadto substancja ta posiada bardzo korzystny profil fizykochemiczny.

Wyniki uzyskane w ramach tego projektu, zostały zawarte w publikacji:

1. *Zagaja M, Szewczyk A, Szala-Rycaj J, Raszewski G, Chrościńska-Krawczyk M, Abram M, Kamiński K, Andres-Mach M. C-11, a new antiepileptic drug candidate: evaluation of the physicochemical properties and impact on the protective action of selected antiepileptic drugs in the mouse maximal electroshock-induced seizure model. Molecules, 2021, 26 (11): 3144.*

W ramach współpracy z dr hab. Tomaszem Plechem, prof. UM z Zakładu Farmakologii Uniwersytetu Medycznego w Lublinie brałem udział w ocenie właściwości przeciwdrgawkowych pochodnych 1,2,4-triazolu. Owocem tej współpracy są 4 publikacje:

1. *Kapron B, Łuszczki JJ, Siwek A, Karcz T, Nowak G, Zagaja M, Andres-Mach M, Stasiłowicz A, Cielecka-Piontek J, Kocki J, Plech T. Preclinical evaluation of 1,2,4-triazole-based compounds targeting voltage-gated sodium channels (VGSCs) as promising anticonvulsant drug candidates. Bioorg. Chem., 2020, 94: 103355.*

2. Łuszczki JJ, Lepiech J, **Zagaja M**, Wróblewska-Łuczka P, Florek-Łuszczki M, Bojar H, Walczak A, Plech T. Anticonvulsant and neurotoxic effects of a novel 1,2,4-triazole-3-thione derivative (TPF-34) and its isobolographic interaction profile with classical antiepileptic drugs in mice. *Pharmacol. Rep.*, 2020, 72(1): 87-95.
3. Makuch-Kocka A, Andres-Mach M, **Zagaja M**, Śmiech A, Pizoń M, Flieger J, Cielecka-Piontek J, Plech T. Effect of chronic administration of 5-(3-chlorophenyl)-4-hexyl-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione (TP-315) - a new anticonvulsant drug candidate - on living organisms. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, 22(7): 3358.
4. Krysa M, Makuch-Kocka A, Susniak K, Plech T, Andres-Mach M, **Zagaja M**, Sroka-Bartnicka A. Spectroscopic Evaluation of the Potential Neurotoxic Effects of a New Candidate for Anti-Seizure Medication—TP-315 during Chronic Administration (In Vivo). *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, 23, 4607.

oraz 1 doniesienie zjazdowe:

1. Makuch-Kocka A, Andres-Mach M, **Zagaja M**, Śmiech A, Pizoń M, Plech T. Effect of long-term administration of a novel anticonvulsant drug candidate (TP-315) on living organism. 6th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry. 1-30 Nov 2020, [sciforum.net/conference/EMC2020](https://sciforum.net/conference/EMC2020)

Współpracując z Katedrą i Zakładem Technologii Leków i Biotechnologii Farmaceutycznej, Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, brałem czynny udział w ocenie właściwości antypsychotycznych pochodnych 3-aminotropanu. Uzyskane wyniki zaprezentowano w publikacji:

1. Stefanowicz J, Słowiński T, Wróbel MZ, Herold F, Gomółka AE, Wesołowska A, Jastrzębska-Więsek M, Partyka A, Andres-Mach M, Czuczwar SJ, Łuszczki JJ, **Zagaja M**, Siwek A, Nowak G, Żolnierek M, Bączek T, Ulenberg S, Belka M, Turło J. Synthesis and biological investigation of new equatorial ( $\beta$ ) stereoisomers of 3-aminotropane arylamides with atypia antipsychotic profile. *Bioorg. Med. Chem.*, 2016, 24(18): 3994-4007.

### **Dodatkowy obszar działalności naukowej**

Poza główną tematyką mojej pracy naukowej, jaką są substancje o właściwościach przeciwdrgawkowych, od wielu lat realizuje swoje zainteresowania dotyczące biologii i różnorodności owadów, prowadząc wspólnie badania z naukowcami z Katedry Zoologii i Ochrony Przyrody UMCS w Lublinie, kierowanej przez prof. dra hab. Bernarda Stańca.

Współpraca z tą Katedrą trwa od czasów moich studiów magisterskich i dotyczy badań nad morfologią, biologią i ekologią chrząszczy (Coleoptera) szczególnie myrmekofilnych (związanych z gniazdami mrówek) i saproksylicznych (związanych z martwym drewnem). Efektem tej współpracy były do tej pory 3 projekty krajowe realizowane w ramach Funduszu Leśnego Lasów Państwowych we współpracy z Poleskim Parkiem Narodowym, a także Wojewódzkiego Funduszu Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej w Lublinie:

1. *Fundusz Leśny Lasów Państwowych (2016-2017) pt. „Chrząszcze myrmekofile Poleskiego Parku Narodowego”.*
2. *Fundusz Leśny Lasów Państwowych (2018) pt. „Chrząszcze i ich wczesne stadia rozwojowe związane z drewnem wilgotnych środowisk leśnych Poleskiego Parku Narodowego”.*
3. *Wojewódzki Fundusz Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej W Lublinie Na Realizację Projektów Badawczych i Badawczo-Rozwojowych O Obszarze Ochrony Środowiska (2020) pt. „Znaczenie parków podworskich Lubelszczyzny w zachowaniu i ochronie chrząszczy saproksylicznych”.*

W ramach tych projektów zaczęliśmy współpracę z dr Agnieszką Kaczmarczyk-Ziembą z Katedry Genetyki Ewolucyjnej i Biosystematyki Uniwersytetu Gdańskiego. Tematem wspólnych badań jest mikrobom mrówek i symbiontów, występujących w ich gniazdach.

Wyniki uzyskane w ramach realizacji tych projektów zostały opublikowane w 7 prestiżowych publikacjach naukowych o łącznym współczynniku IF= 10,478 oraz 500 pkt. MNiSW (szczegółowy wykaz - *Załącznik nr 4*).

Ponadto z tą samą grupą badaczy, a także z przy współpracy z naukowcami z Katedry Biochemii i Biotechnologii z UMCS w Lublinie oraz z naukowcami z Katedry i Zakładu Fizjologii Człowieka i Katedry i Zakładu Biochemii i Biotechnologii UM w Lublinie prowadzimy badania nad aktywnością biologiczną kartonu z gniazd mrówek *Lasius fuliginosus*. Efektem tej współpracy jest publikacja o współczynniku IF= 5,923 oraz 140 pkt. MNiSW oraz patent krajowy nr 239546 (szczegółowy wykaz - *Załącznik nr 4*).

### **Najbliższe plany naukowe**

W ramach dalszej mojej współpracy z naukowcami z UJ w Krakowie oraz UM w Lublinie, złożony został również projekt NCN OPUS, którego celem jest ocena czy (R)-AS-1, nowy hybrydowy związek będący pochodną 2-(2,5-dioksopirolidyn-1-yl)propanamidu, poprzez unikalny mechanizm działania będzie mógł modyfikować patologiczny przebieg

epileptogenezy, w szczególności poprzez wpływ naneurogenezę i neuroprotekcję, wywołanym pilokarpiną stanie padaczkowym (*status epilepticus*) u myszy. Badania te mają obejmować ocenę neuroprotekcji i neurogenezy w mózgu myszy zdrowych, jak i ze stanem padaczkowym z zastosowaniem technik immunofluorescencyjnych i mikroskopii konfokalnej, a także badania behawioralne oraz ocenę neurogenezy *in vivo* za pomocą rezonansu magnetycznego (MR).

W najbliższej przyszłości planuję także złożenie projektu w ramach konkursu NCN OPUS, który będzie kontynuacją badań na hybrydą C-11, realizowanych przeze mnie w ramach konkursu MINIATURA. Projekt będzie dotyczył oceny wpływu C-11 na leki przeciwpadaczkowe w innych modelach padaczki eksperymentalnej (*scPTZ*, 6 Hz). Przewiduję przeprowadzenie dla każdego modelu oceny skutków ubocznych wybranych kombinacji C-11 z LPP (testy behawioralne) oraz analizę ich interakcji na poziomie zarówno farmakokinetycznym (ocena stężeń LPP i C-11 w mózgu), jak i farmakodynamicznym (ocena potencjalnych mechanizmów działania). Dodatkowo planuję wykonanie badań molekularnych, oceniających wpływ kombinacji C-11 w połączeniu z LPP na neuroprotekcję i neurogenezę, z wykorzystaniem najnowszych technik immunocytochemicznych i spektroskopii rezonansu magnetycznego.

## **5. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ LUB SZTUKĘ.**

### **5.1. Działalność dydaktyczna**

W ramach działalności dydaktycznej, jako uczestnik studiów doktoranckich w Zakładzie Zoologii Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, prowadziłem zajęcia z następujących przedmiotów:

2009-2010	Zoologia ogólna i systematyczna na kierunku Biologia specjalność nauczanie biologii i chemii - ćwiczenia laboratoryjne, semestr letni, 45 godzin.
2009-2011r	Ćwiczenia terenowe z zoologii na kierunku Biologia - semestr letni, 15 godzin.

Ze względu na zatrudnienie w instytucji naukowowo-badawczej, jakim jest Instytut Medycyny Wsi, moja działalność dydaktyczna, dotyczyła przede wszystkim opieki i koordynowania prac badawczych doktorantów, gdzie byłem promotorem pomocniczym w dwóch już zakończonych przewodach doktorskich, które otrzymały wyróżnienie, jak również stażystów, pełniąc rolę opiekuna stażu.

1. Promotor pomocniczy rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry Szewczyk pt.: „Ocena właściwości neuroprotektoryjnych oraz wpływu na neurogenezę nowej pochodnej kwasu 2-(2,5-dioksopirolidyno-1-yl)-2-propanowego oraz wybranych leków przeciwpadaczkowych w badaniach in vivo”. Promotorką rozprawy doktorskiej była dr hab. n. med. Marta Andres-Mach.

Powołanie na promotora pomocniczego na podstawie decyzji Rady Naukowej IMW z dnia 1 marca 2019 r. o wszczęcie przewodu doktorskiego w dziedzinie nauk o zdrowiu i wyznaczenie promotora i promotora pomocniczego.

2. Promotor pomocniczy rozprawy doktorskiej mgr. inż. Jarosława Ryszarda Brydy pt.: „Wpływ ksantotoksyny (8-metoksypsoralenu) na ochronne działanie wybranych leków przeciwpadaczkowych w teście drgawek psychoruchowych (6 Hz) u myszy”. Promotorką rozprawy doktorskiej była dr hab. n. med. Marta Andres-Mach.

Powołanie na promotora pomocniczego na podstawie decyzji Rady Naukowej IMW z dnia 1 marca 2019 r. w dziedzinie nauk o zdrowiu i wyznaczenie promotora i promotora pomocniczego.

## 5.2. Działalność organizacyjna

Od 2012	Członek Polskiego Towarzystwa Entomologicznego.
2012-2018	Członek Lubelskiego Towarzystwa Wspierania Nauk Farmaceutycznych.
2009-2011	Przewodniczący Wydziałowej Rady Samorządu Doktorantów Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi UMCS.
2009-2011	Członek Wydziałowej Komisji Stypendialnej dla Doktorantów Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi.
2009-2010	Członek Senackiej Komisji Badań Naukowych UMCS.
2010-2011	Członek Komisji Dyscyplinarnej dla Doktorantów UMCS.



### 5.3. Działalność popularyzująca naukę

W ramach działań ukierunkowanych na popularyzację nauki brałem czynny udział w konferencjach zarówno międzynarodowych, jak i o zasięgu krajowym (szczegółowy wykaz - Załączniku nr 4).

Recenzuję prace publikowane w czasopismach krajowych i zagranicznych. Od roku 2015 wykonałem kilkanaście recenzji artykułów naukowych dla czasopism międzynarodowych takich jak: *Antioxidants*, *Toxins*, *Folia Neuropathologica*, *Annals of Agricultural and Environmental Medicine (AAEM)*, *Neuroscience Letters*, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research* (szczegółowy wykaz - Załączniku nr 4).

## 6. INNE INFORMACJE DOTYCZĄCE KARIERY ZAWODOWEJ.

### 6.1. Nagrody

1. Nagroda Dyrektora Instytutu Medycyny Wsi za działalność naukową w 2016 roku.
2. Nagroda główna za wystąpienie pt.: „Biochemiczna i molekularna identyfikacja bakterii jelitowej z *Dendrobaena veneta* (Annelida) wykazującej aktywność przeciwpłatkową” autorstwa Fiołka M, Zagaja M, Piersiak T, zaprezentowanego podczas konferencji naukowej „Mikrobiologia w medycynie, przemyśle i ochronie środowiska”. Konferencja była zorganizowana przez Sekcję Mikrobiologiczną Studenckiego Koła Naukowego Biologów pod patronatem Komitetu Mikrobiologii PAN oraz Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, która odbyła się w dniach 24-25 X 2009 w Łodzi.

### 6.2. Stypendia

1. Stypendium Rektora UMCS w Lublinie dla doktorantów przyznane na rok akademicki 2010-2011 za najlepsze wyniki w nauce na kierunku Biologia.

### 6.3. Projekty naukowe realizowane w ramach działalności statutowej IMW w Lublinie

Badania nad wpływem substancji syntetycznych i naturalnych na działanie przeciwdrgawkowe wybranych LPP, prowadzone w ramach projektów własnych w latach 2014-2022 w Instytucie Medycyny Wsi w Lublinie:

- 1) Temat Statutowy IMW Nr 14040 pt. „Ocena wpływu jadu pszczelego z *Apis mellifera* na działanie wybranych leków przeciwbólowych w teście gorącej płytki (hot plate) u myszy”- kierownik projektu.
- 2) Temat Statutowy IMW Nr 14030 pt. „Wpływ ACEA- agonisty receptorów kanabinoidowych CB1 na ochronne działanie wybranych leków przeciwpadaczkowych w teście drgawek psychoruchowych (6 Hz) u myszy” – wykonawca projektu.
- 3) Temat Statutowy IMW Nr 17040 – „Wpływ ksantotoksyny (8-metoksypsoralenu) na ochronne działanie wybranych leków przeciwpadaczkowych w teście drgawek psychoruchowych (6 Hz) u myszy” - kierownik projektu.
- 4) Temat Statutowy IMW Nr 20030 „Wpływ umbeliferonu (7-hydroksykumaryny) na działanie przeciwpadaczkowe wybranych leków w teście drgawek psychoruchowych 6Hz u myszy oraz ocena właściwości neuroprotektoryjnych badanych substancji w modelu *in vitro*” - kierownik projektu.

### 6.4. Najważniejsze dane bibliometryczne

Index Hirscha:

- według bazy Web of Science Core Collection: 12
- według bazy Scopus: 13

Całkowita liczba cytowań

- według bazy Scopus: 415 (304 bez autocytowań)
- według bazy Web of Science Core Collection: 401 (289 bez autocytowań)

Liczba projektów badawczych: 14, w tym:

- Kierownik projektu: 4
- Wykonawca projektu: 10

	Liczba publikacji	Impact Factor	Punkty MNSiW
Publikacje stanowiące osiągnięcie naukowe	5	15,311	285,00
Publikacje opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora <i>(z pominięciem publikacji tworzących osiągnięcie)</i>	48	119,588	2874,00
Publikacje opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora	4	5,039	96,00
<b>Łącznie wszystkie publikacje naukowe</b>	<b>56</b>	<b>139,938</b>	<b>3255,00</b>

.....  
(podpis wnioskodawcy)