

ЭФФЕКТ СЕЛЕГИЛИНА ПРОТИВ СЕЛЕКТИВНЫХ НЕЙРОТОКСИНОВ

К.МАДЬЯР

Кафедра фармакодинамики Семмельвейского Медицинского Университета Будапешт,
Венгрия

(Department of Pharmacodynamics, Semmelweis University of Medicine, Budapest, Hungary)

Сложность фармакологической активности селегилина нельзя рассматривать как результат простого ингибирования МАО-В. Исследовали нейропротекторный эффект против действия норадренергического нейротоксина DSP-4 с использованием (-)-р-фтор-депренила (PFD), химического производного селегилина, а также его возможных метаболитов. Результаты свидетельствуют в пользу того, что эффекты селегилина и, главным образом, его метаболита (-)-метиламфетамина (МА), играли существенную роль в этой защите. МА более эффективно чем селегилин тормозил обратный захват норадреналина и дофамина. Ни селегилин, ни его метаболит не тормозили обратный захват серотонина. PFD и его метаболиты оказывали аналогичный селегилину защитный эффект против индуцированной DSP-4 токсичности, но их действие было более продолжительным, чем у селегилина. После перорального приема селегилин подвергается интенсивному "first pass" метаболизму, который ведет к повышенному образованию МА. Более четкое понимание судьбы селегилина в организме, включая фармакокинетическое поведение и метаболизм, может внести вклад в выяснение сложной фармакологической активности этого препарата.

Представленные здесь результаты могут быть суммированы следующим образом:

- а) Ингибирование МАО-В селегилином является необратимым "hit and run" эффектом, уровень которого после начальной фазы становится независимым от присутствия вещества его вызвавшего.
- б) Ингибирование обратного захвата - обратимый процесс, прямо зависящий от концентрации вещества, обуславливающего этот эффект. Эффективность торможения обратного захвата метаболитами выше, чем у родительского соединения.

Роль обратимого ингибирования обратного захвата в нейропротекции может частично объяснить необходимость ежедневного введения депренила пациентам с болезнью Паркинсона несмотря на необратимое ингибирование МАО-В этим соединением.

Ключевые слова: селегилин, метил-амфетамин, (-)-р-фтор-депренил, метаболиты, нейропротекция, необратимое ингибирование МАО-В, обратимое ингибирование обратного захвата.

ВВЕДЕНИЕ Депренил был синтезирован Ecséri - химиком Chinoïn Pharmaceutical Works (Будапешт, Венгрия) и первая статья о его фармакологической активности опубликовали Knoll e.a. [1]. (-)-Энантиомер депренила (селегилин) является более сильным необратимым ингибитором моноаминоксидазы (МАО; EC 1.4.3.4.), чем (+)-изомер [2]. Селегилин избирательно тормозит МАО-В [3] и является наиболее используемым в терапии болезни Паркинсона ингибитором МАО-В. Его фармакологические эффекты довольно сложны (дофамин-сберегающая активность, нейропротекторный и нейрораспасающий (neuronal rescue) эффекты) и не могут быть объяснены одним лишь ингибированием этого фермента. Выделяют по меньшей мере четыре механизма, посредством которых селегилин мог бы осуществлять нейропротекцию. Во-первых, ингибируя активность МАО-В в центральной нервной системе, он может снижать образование свободных радикалов

(генерация H_2O_2), образующихся в ходе нормального метаболизма биогенных аминов, главным образом, дофамина [4]. Активность MAO-B увеличивается с возрастом и ведет к увеличению образования H_2O_2 , который в свою очередь увеличивает окислительный стресс, повреждая нейроны. Во-вторых, по данным тех же авторов, этот ингибитор может увеличивать захват свободных радикалов в мозге за счет увеличения активности супероксиддисмутазы (SOD) [5,6], правда, другие авторы не наблюдали такого увеличения функции SOD [7]. В третьих, селегилин за счет ингибирования MAO-B может предупреждать отравления токсинами окружающей среды или эндогенного происхождения [8]. Наконец, благодаря свойству тормозить захват, ингибитор может предупреждать селективный захват нейротоксинов в нервные окончания, избегая таким образом повреждения нейронов [3]. Для более детального анализа эффектов селегилина в нейропротекции мы использовали экспериментальные модели на животных. Для индуцирования освобождения норадреналина (NA) из гиппокампа крысам вводили DSP-4 [9], а защитное действие селегилина исследовали при его введении перед токсином.

Способ действия нейротоксинов. Селективное повреждение можно зарегистрировать в нервах, которые инактивируют их естественный нейротрансмисмиттер посредством мембраносвязанного, высоко аффинного, энерго - и натрий-зависимого транспортера моноаминов. Среди этих токсинов есть структурные аналоги нейротрансмисмиттеров, которые могут быть захвачены тем же транспортером. В таблице 1 приведены селективные токсины дофаминергических, норадреналинергических, серотонинергических и холинергических нервов, которые могут вызывать дегенерацию этих нервных окончаний.

Табл. 1. Селективные нейротоксины

Дофаминергический :	6-ОН-дофамин MPTP
Норадренергический:	DSP-4
Серотонинергический:	5,6-дигидрокситриптамиин
Холинергический:	AF64A

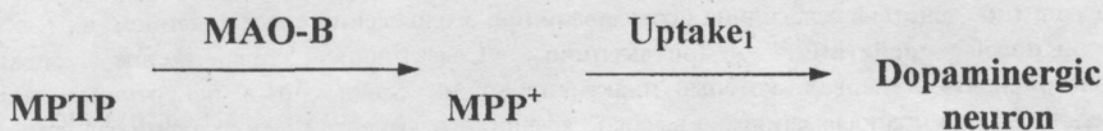
В последние годы стало очевидным, что предварительное введение селегилина может защищать нейроны от разнообразных токсинов, которые стимулируют нейродегенерацию. Многократно продемонстрированы нейропротекторные эффекты селегилина против MPTP (1-метил-4-фенил-1,2,3,6 тетрагидропиридин), 6-гидроксидофамина и DSP-4 [N-(2-хлорэтил)-N-этил-2-бромбензиламин]. Подобное защитное действие предварительного введения селегилина было показано и в случае центрального холинергического нейротоксина, AF64A (метил - β -ацетоксиэтил-2-хлорэтиламин [10]), но предобработка этим ингибитором не предотвращала эффектов серотонинергических нейротоксинов. V-111 (p-бромметиламфетамин) стимулирует длительное уменьшение содержания серотонина (5-HT) в мозге крысы, которое не предотвращается предобработкой селегилином (неопубликованные наблюдения).

Механизм MPTP токсичности был превосходно рассмотрен Glover et al. [11]. Это вещество является преимущественным субстратом MAO-B [12]. Его окисление высоко чувствительно к ингибированию селегилином, который ингибирует окисление MPTP до токсического метаболита MPP⁺ (1-метил-4-фенилпиридиний), главным образом, в глиальных

клетках. MPP^+ выходит из глии и за счет активного транспорта системой обратного захвата дофамина (DA) поступает в дофаминергические нервные окончания [13]. Так как образование нейротоксина MPP^+ из MPTP является MAO-B зависимым процессом, селективный ингибитор MAO-B может потенциально предотвращать MPTP-индуцируемую нейродегенерацию *in vivo*.

Ингибиторы захвата DA, такие как desipramine (DMI) и mazindol также могут предотвращать MPTP-индуцируемую нейродегенерацию. Селегилин оказывает слабое ингибиторное действие на захват DA, который может играть некоторую роль в предупреждении MPTP-индуцированной нейротоксичности, ингибируя процесс обратного захвата [14.15]. Индуцированная MPTP нейротоксичность, все еще остающаяся лучшей моделью синдрома паркинсонизма у приматов, является двухстадийным процессом (рис.1.).

1. Activation of pro-toxin to toxin



2. Selective uptake of toxin

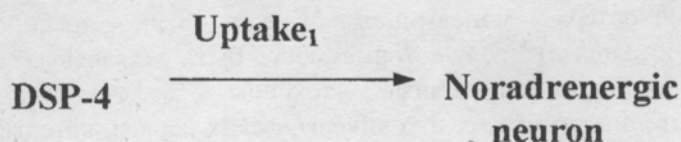


Рис 1. Наиболее частые пути нейротоксических механизмов

Введение 6-гидроксидофамина (6-OH-DA) вызывает нигростриатную дегенерацию, которую можно предотвратить предварительным введением селегилина [16]. Механизм, обуславливающий нейродегенерацию, заключается в образовании 6-гидроксихинона из 6-OH-DA, который затем захватывается в дофаминергические нервные окончания (двухстадийный MAO-B-независимый процесс; рис.1). 6-Гидроксихинон инициирует нейродегенерацию за счет генерации свободных радикалов. Исследования с 6-OH-DA выявили, что ингибирование MAO-B селегилином не играет существенной роли в предотвращении нейротоксичности, вызванной этим токсином [17]. Несмотря на слабый ингибиторный эффект селегилина в отношении захвата NA и DA, нельзя исключить его роли во вклад в протекторное действие этого вещества. Более того, ингибирование обратного захвата, похоже, является наиболее вероятным эффективным процессом против индуцированной 6-OH-DA токсичности.

DSP-4, впервые описанный Ross и Renui [9], является β -галоэтиламин-производным бензиламина, который (в одну стадию) взаимодействует с пресинаптическими компонентами адренергического синапса (рис.1). Токсин является алкилирующим агентом, который образует ковалентные связи с электрофильными центрами в участке своего действия и вызывает необратимые изменения. В отличие от MPTP DSP-4 не активируется MAO-B. Вначале происходит неферментативное закрытие кольца нейтрального амина DSP-4 до иона азиридиния, который избирательно связывается с тиолами и аминами и необратимо нарушает функцию нейронов (рис.2.). Восстановление от необратимого повреждения, вызванного DSP-4, основано на синтезе нового транспортного белка. Повреждение пресинаптического нервного окончания может быть блокировано совместным с введением ингибиторов захвата, подобно DMI и веществами, имеющими SH группы. Селективность

DSP-4 к норадренергическому синапсу основана на селективном захвате иона азиридиния в норадренергические нервные окончания. Защитный механизм нуждается в функциональной транспортной системе, которую можно затормозить с помощью конкурентного обратимо действующего агента.

Так как вышеупомянутые токсины в окружающей среде не существуют, они не могут рассматриваться, в качестве факторов, способствующих развитию идиопатических нейродегенеративных болезней. Был проведен интенсивный поиск эндогенно образующихся нейротоксинов или протоксинов, которые могут быть активированы MAO-B.

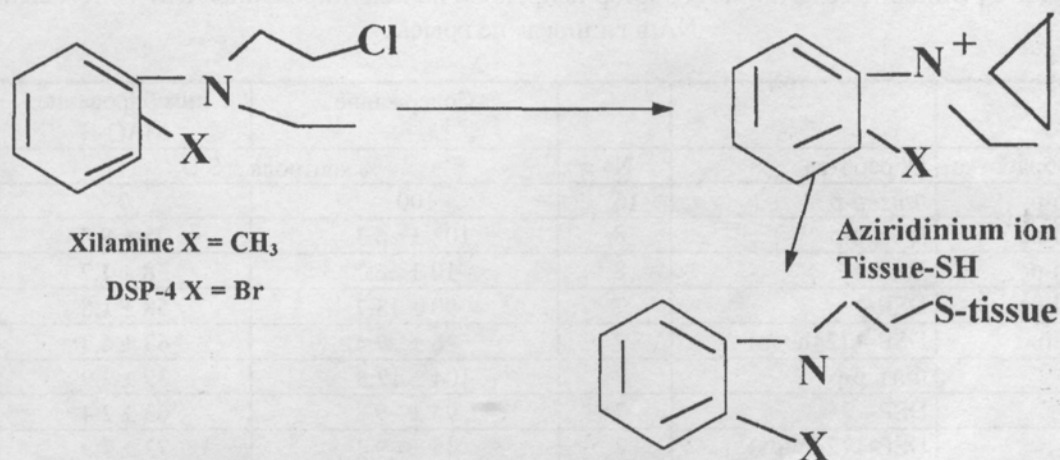


Рис 2.: Химическая структура DSP-4 и его превращения к токсический ион азиридиния, который связывается с SH-группами белков.

Nagatsu e.a. [18] предположили, что тетрагидроизохинолин может быть кандидатом, продуцирующим паркинсонизм. Это вещество метилируется в мозге и продукт реакции является хорошим субстратом MAO-B, который превращает его в N-метил-изохинолин, аналог MPTP [19]. Однако, реальное существование эндогенных токсинов, вызывающих паркинсонизм нуждается в доказательстве.

Влияние предварительной обработки селегилином на нейротоксичность, индуцированную DSP-4. Селегилин (но не MDL 72974/A - другой сильный избирательный ингибитор MAO-B) предупреждал индуцируемое DSP-4 истощение NA в гиппокампе мыши [20]. Поскольку и селегилин, и MDL-72974 вызывают сопоставимое ингибирование MAO-B, представляется сомнительным, что торможение активности этого фермента играет какую-либо роль в защите от индуцируемой DSP-4 нейротоксичности.

Аналогичные результаты были получены в нашей лаборатории в опытах на крысах, которым вводили селегилин и, особенно, его химическое производное (-)-пара-фтор-депренил (PFD; [21]). При введении селегилина и PFD за 1 ч до введения DSP-4 оба соединения оказывали существенные защитные эффекты против высвобождения NA. Селегилин, введенный на 24 ч до DSP-4, был практически неэффективен. В этих же условиях эксперимента PFD в значительной степени защищал от индуцированной DSP-4 нейротоксичности (Табл. 2). Селегилин или PFD (10 мг/кг, в/бр) вводили крысам за 1 или 24 ч до введения DSP-4 (50 мг/кг, в/бр.). Животных декапитировали через 7 дней после введения DSP-4 и в гиппокампе определяли содержание NA ингибирование MAO-B.

Содержание NA в гиппокампе контрольных крыс, принятое за 100% составляло $32 \pm 0,06$ нг/мг ткани \pm S.D.

При внутривенном введении энантимеров МА (1 мг/кг за 1 ч до DSP-4), которые рассматривают в качестве потенциальных метаболитов депренила, оба оптических изомера ингибировали индуцированное DSP-4 высвобождение NA из гиппокампа крысы (рис.3 [22-24]). Уровень защиты, вызываемый введением 1 мг/кг изомеров МА, был сопоставим с эффектом, оказываемым дозой селегилина 10 мг/кг. Это свидетельствует в пользу того, что метаболиты являются более эффективными в защите, чем родительское вещество.

Таблица 2. Влияние селегилина и р-фтор-депренила на индуцированное DSP-4 истощение NA в гиппокампе крысы.

			Содержание	ингибирование MAO-B
Предобработка	Обработка	N	% контроля \pm S.D.	
Физ. р-р	Физ. р-р	16	100	0
Selegiline	Физ. р-р	8	108 ± 6.3	75 ± 8.5
Физ. р-р	DSP-4	8	10 ± 6.7	8 ± 1.7
Selegiline	DSP-4	7	90 ± 13.7	58 ± 1.8
Selegiline	DSP-4 (24h ч/з)	7	26 ± 7.4	63 ± 6.3
PFD	Физ. р-р	7	104 ± 12.8	39 ± 2.9
PFD	DSP-4	7	95 ± 9.8	63 ± 2.4
PFD	DSP-4 (24h ч/з)	7	45 ± 9.1	72 ± 3.9

Совместное внутрибрюшинное введение изомеров МА (в дозе 5 мг/кг) и DSP-4 (в дозе 50 мг/кг) оказывалось столь токсическим, что все животные погибали. Тем не менее, при комбинации 30 мг/кг DSP-4 с изомерами МА или р-фтор-метиламфетамина (PFMA) (5 мг/кг) была 100% защита против индуцированного DSP-4 высвобождения NA из гиппокампа крысы (табл. 3).

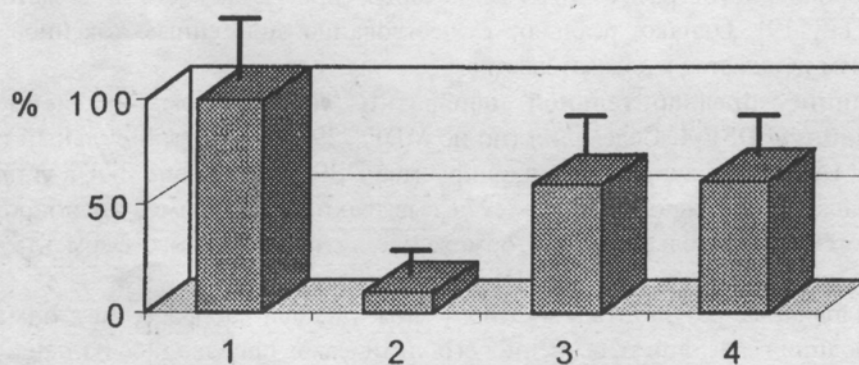


Рис.3.: Влияние предварительного введения метиламфетамина (1 мг/кг, в/бр) на высвобождение NA из гиппокампа, индуцированное DSP-4 (50 мг/кг, в/бр). Столбики обозначают: 1. контроль; 2. DSP-4; 3. и 4. введение (+) and (-)-метиламфетамина за 1 ч перед введением DSP-4. Животных декапитировали через 7 дней после введения DSP-4. (n=5).

Токсическое взаимодействие изомеров МА и DSP-4 показало, что концентрация МА является критической. В одном случае МА оказывает более мощный защитный эффект на индуцированное DSP-4 высвобождение NA, чем селегилин, но при превышении оптимальной концентрации, начинает преобладать более высокая токсичность. Для нейротропной поддержки необходимо достичь определенного уровня МА в тканях, который как саморегулирующий процесс, зависит от вводимой дозы селегилина. МА и PFMA (5 мг/кг, в/бр) вводили за 1 ч до введения DSP-4 (30 мг/кг, в/бр). Через 7 дней после введения DSP-4 крыс декапитировали и в гиппокампе определяли содержание NA и степень торможения активности MAO. Содержание NA в гиппокампе контрольных крыс, принятое за 100%, было $32 \pm 0,06$ нг/мг ткани \pm S.D.

Таблица 3. Влияние предварительного введения изомеров метиламфетамина (МА) и р-фтор-метиламфетамина (PFMA) на индуцируемое DSP-4 истощение NA в гиппокампе крысы.

			NA содержание	ингибирование MAO-B
Предобработка	Обработка	N	in % контроля \pm S.D.	
Физ. р-р	Физ. р-р	16	100	0
Физ. р-р	DSP-4	7	$42 \pm 5,8$	$16 \pm 4,4$
(+)-МА	DSP-4	7	$105 \pm 1,3$	$16 \pm 2,3$
(-)-МА	DSP-4	7	$116 \pm 2,1$	$16 \pm 1,3$
(+)-PFMA	DSP-4	7	$147 \pm 8,4$	$18 \pm 4,9$
(-)-PFMA	DSP-4	7	$130 \pm 9,8$	$16 \pm 2,1$

Мы изучили влияние депренила и PFD и их потенциальных метаболитов на синаптосомальный захват [3 H]-NA, [3 H]-DA и [3 H]-серотонина ([3 H]-5-HT) в гипоталамусе, стриатуме и гиппокампе, соответственно, используя метод Snyder и Coyle *in vitro* [25]. Как показывают величины IC₅₀, приведенные в табл. 4, ни одно из вводимых веществ не ингибировало пресинаптического захвата [3 H]-5-HT в приемлемой концентрации. Изомеры депренила и PFD слабо ингибировали захват и [3 H]-NA и [3 H]-DA, но их метаболиты были более эффективны.

Таблица 4. Влияние оптических изомеров депренила, PFD, метиламфетамина и его производных на синаптосомальный захват *in vitro* у крыс

Соединения	IC ₅₀ (M)		
	NA гипоталамус	DA стриатум	5-HT гиппокамп
(-)-депренил	$5,1 \times 10^{-5}$	$1,0 \times 10^{-4}$	$5,0 \times 10^{-3}$
(+)-депренил	$1,7 \times 10^{-5}$	$2,4 \times 10^{-5}$	$3,6 \times 10^{-2}$
(-)-PFD	$1,3 \times 10^{-5}$	$2,9 \times 10^{-5}$	$1,4 \times 10^{-3}$
(+)-PFD	$6,1 \times 10^{-6}$	$1,6 \times 10^{-5}$	$6,0 \times 10^{-4}$
(-)-МА	$3,5 \times 10^{-6}$	$4,2 \times 10^{-5}$	-
(+)-МА	$3,5 \times 10^{-7}$	$6,0 \times 10^{-7}$	$1,9 \times 10^{-2}$
(-)-PFMA*	$7,5 \times 10^{-6}$	$3,0 \times 10^{-4}$	-
(+)-PFMA*	$7,7 \times 10^{-6}$	$2,3 \times 10^{-5}$	$1,7 \times 10^{-3}$

*PFMA фтор-метиламфетамин

Еще в 1972 году мы показали, что депренил и его оптические изомеры ингибируют захват [3 H]-NA срезами коры головного мозга мыши [3] синаптосомальной фракцией мозга

крысы [26]. Недавно проведенные эксперименты показали, что не только родительские соединения, но и их метаболиты ответственны за ингибирование синапсосомального захвата NA и DA [21]. В отношении высвобождения нейромедиаторных аминов (+)-изомеры амфетамин-подобных метаболитов более эффективны, однако по ингибиторной эффективности в отношении захвата аминов эти стереоизомеры существенно не различаются.

Метаболизм селегилина. Метаболическое превращение селегилина подробно изучено на животных и человеке (см. обзор [27]). Более эффективное ингибиторное действие метаболитов и их возможной роли в нейропротекции подчеркивало важность исследования метаболизма селегилина. Было подтверждено, что этот ингибитор метаболизируется до МА, (-)-десметил-депренила и амфетамина (А). Все эти метаболиты могут гидроксильроваться в пара-положении и конъюгироваться с глюкуроновой кислотой. Reynolds и сотрудники [28] впервые сообщили о биотрансформации селегилина у человека; они доказали что и МА, и А можно обнаружить в посмертной мозговой ткани. Neiponen также подтвердил подобный метаболизм ингибитора у людей [29]. При введении селегилина в дозе, достаточной для избирательного ингибирования MAO-B, образование амфетамина не приводило к появлению признаков психостимулирующей активности [30; 31]. Несмотря на образование амфетаминов, селегилин не увеличивал высвобождения биогенных аминов [3].

Недавно фармакокинетику селегилина у крыс *in vivo* исследовали, используя два радиоизомера этого соединения: селегилин-пропаргил- ^{14}C and селегилин-фенил- ^3H . Животным перорально вводили смесь обоих радиоизомеров и радиоактивность этих двух меток измеряли одновременно в плазме и 15 областях мозга. Концентрации селегилина рассчитывали, исходя из удельной радиоактивности радиоизомеров и введенной дозы. Изменения соотношений этих меток (^3H and ^{14}C) обеспечивали установление метаболической дезинтеграции молекулы [21,32].

Основываясь на результатах этих исследований, во время наивысшего уровня вещества после перорального приема селегилина в дозе 1,5 мг/кг, концентрация амфетаминов в областях мозга может достигать 1-2 мкМ. Такая концентрация МА может значительно затормозить захват амина. Результаты, полученные с помощью метода двойных меток указывают на интенсивный "first pass" препарата после перорального введения. Это предполагает, что только небольшая порция орально введенного препарата участвует в торможении MAO-B, для которого необходима целостность этой ингибиторной молекулы.

Селегилин метаболизируется микросомальными ферментами, которые можно индуцировать фенobarбиталом, а затормозить введением SKF-525A. Внутривентрикулярное введение крысам фенobarбитала снижало ингибирование окисления фенилэтиламина (PEA) в мозге и печени, вызванное пероральным введением селегилина. Эти данные указывают, что только селегилин ответственен за торможение MAO-B. В соответствии с упомянутым выше, предварительное внутривентрикулярное введение SKF-525A крысам приводило к увеличению ингибирования окисления PEA, измеренного в безядерном гомогенате мозга и печени, приготовленных после перорального введения 0,25 мг/кг селегилина (рис. 4).

Предварительное введение SKF-525A снижало защитный эффект селегилина против истощения NA, вызванного норадренергическим нейротоксином; само по себе введение SKF-525A не влияло на уровень NA в гиппокампе [22; 23; 24]. На основании этих результатов можно заключить, что ингибирование метаболизма селегилина снижает защитное действие этого соединения против индуцированного DSP-4 высвобождения NA. Последнее предполагает, что метаболит селегилина более эффективно тормозит захват по сравнению с самим селегилином. Пероральное введение дозы селегилина 0,5-1,0 мг/кг вызывает существенную защиту от токсичности DSP-4 [22], сопоставимую с таковой,

которую дает внутрибрюшинное введение 10 мг/кг селегилина [20]. Это могло бы быть за счет более интенсивного ("first pass") метаболизма селегилина, приводящего к образованию большого количества МА, которое происходит после перорального введения по сравнению с внутрибрюшинным введением.

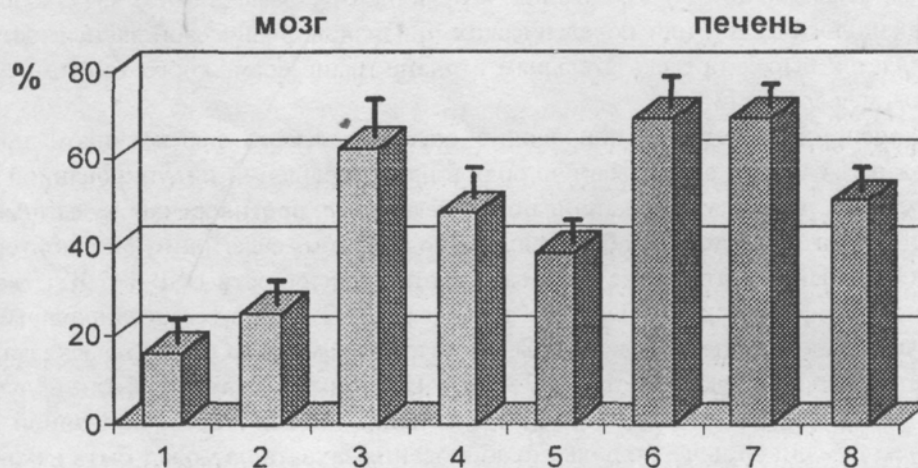


Рис. 4.: Влияние предварительного введения фенобарбитала и SKF-525A на ингибирование MAO-B селегилином в безъядерном гомогенате мозга и печени крыс. Селегелин (п/о) 0.25 мг/кг (1, 5), 5мг/кг (3, 7); SKF -525A (в/бр) 50 мг/кг за 1 час до селегина (2, 6); фенобарбитал (в/бр) 80мг/кг ежедневно в течении 3 дней (4,8). Животных декапитировали спустя 1 час после введения селегина.

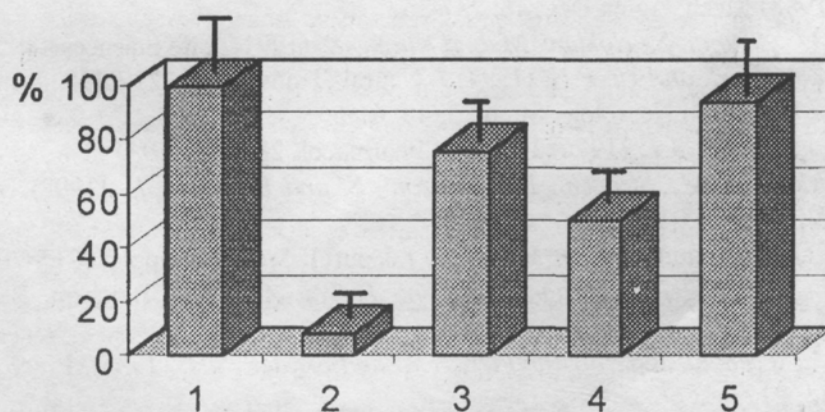


Рис.5.: Влияние предварительного введения селегина и SKF-525A на высвобождение NA из гиппокампа крысы, индуцированного DSP-4 . DSP-4, (50 мг/кг, в/бр), и SKF-525A, (50 мг/кг, в/бр), вводили за 1 час до перорального введения селегина (5 мкг/кг), который вводили за 1 час до введения DSP-4 . 1. контроль; 2. DSP-4; 3. DSP-4 + селегелин; 4. DSP-4 + селегелин + SKF-525A; 5. SKF-525A. Животных декапитировали через 7 дней после введения DSP-4 (n=5).

Стереоселективность метаболитов очень важна для фармакологических эффектов изомеров [33]. Из селегилина образуются (-)изомеры, причем рацемической трансформации обнаружено не было [34-37]. Отсутствие рацемизации может объяснить отсутствие психостимулирующей активности при введении селегилина. Об этом свидетельствуют следующие данные: после прекращения хронического (в течение нескольких недель) введения крысам селегилина и (-)амфетамина, в отличие от (+)амфетамина и (+)депренила, не вызывало физиологических или поведенческих признаков физической зависимости. Это наблюдение является высокопредсказательным в плане возможного злоупотребления этим препаратом у человека [38].

Хотя общепринято, что ингибирование осуществляемого переносчиком процесса обратного захвата NA играет существенную роль в предотвращении индуцированной DSP-4 нейротоксичности, в литературе накапливаются некоторые противоречащие данные [17]. Gibson сообщил, что хлоргилин, обладающий подобными селегилину ингибиторными эффектами на обратный захват NA, не защищает против токсичности DSP-4 [39]. Некоторые короткоцепочные алифатические вещества, такие как N-2-гексил-N-метилпропаргиламин (2-HxMP), являющиеся сильными селективными ингибиторами MAO-B но не захвата, были способны защитить против токсичности DSP-4 [40]. Подобные результаты были получены с 2-HxMP и в нашей лаборатории. Очевидно, что механизм токсичности, вызванной DSP-4 более сложен, чем думали раньше, но роль ингибирования захвата не может быть исключена.

REFERENCES

1. Knoll, J., Ecseri, Z., Kelemen, K., Nievel, J. and Knoll, B. (1965) Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 155:154-164.
2. Magyar, K., Vizi, E.S., Ecseri, Z. and Knoll, J. (1967) Acta Physiol Hung 32:377-87.
3. Knoll, J. and Magyar, K. (1972) In: Costa E, Sandler M eds. Monoamine Oxidases - New Vistas Adv. in Biochem. Psychopharmacol. Raven Press New York 5: 393-408.
4. Cohen, G. and Spina, M.B. (1989). Ann Neurol 26: 689-690
5. Knoll, J. (1988) Mech. Aging Dev. 46: 237-262.
6. Carrillo, M.C., Kanai, S., Nokubo, M. and Kitani, K. (1991). Life Sciences 48: 517-521.
7. Lai, C.T., Zuo, D.M. and Yu, P.H. (1994) J. Neural. Transm. 41: 221-229.
8. Langston, J.W. (1990) Neurology Suppl. 3, 40: 61-66.
9. Ross, S.B. and Renyi, A.L. (1976) J. Pharm. Pharmacol. 28: 458-459.
10. Ricci, A., Mancini, M., Strocchi, P., Bongrani, S. and Bronzetti, E. (1992) Drugs Exptl. Clin. Res. VIII(5): 163-171.
11. Glover, V., Gibb, C. and Sandler, M. (1986) J. Neural. Transm. Suppl XX 65-76.
12. Salach, J.I., Singer, T.P., Castagnoli, N. and Trevor, A. (1984) Biochem. Biophys. Res. Comm. 125: 831-835.
13. Javitch, J.A., d'Emato, R.J., Strittmatter, S.M. and Snyder, S.H. (1985). Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82: 2173-2177.
14. Harsing, L.G., Magyar, K., Tekes, K., Vizi, E.S. and Knoll, J. (1979) Pol. J. Pharmacol. Pharm. 31: 297-307.
15. Magyar, K. (1991) Pan-European Society of Neurology, Second Congress, Vienna, 26.
16. Knoll, J. (1987) J. Neural. Transm. 25: 45-66.
17. Berry, M.D., Juorio, A.V. and Paterson, I.A. (1994). Neurobiology 44: 141-161.
18. Nagatsu, T. and Hirata, Y. (1987). Europ. Neurol. 26 [Suppl 1]: 11.

19. Naoi, M., Matsuura, S., Takahashi, T. and Nagatsu, T. (1989). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 161: 1213-1219
20. Finnegan, K.T., Skratt, J.S., Irwin, I., DeLanney, L.E. and Langston, J.W. (1990). *Eur. J. Pharmacol.* 184: 119-126.
21. Magyar, K. (1994) Behaviour of (-)-deprenyl and its analogues. *J. Neural. Transm.* 41: 167-175.
22. Magyar, K., Szende, J., Lengyel, J. and Tekes, K. (1996) *J. Neural. Transm. (Suppl)* 48, 43-57.
23. Magyar, K. (1996). *J Neurochem* 66 [Suppl. 2]: S20 D.
24. Magyar, K. (1996). In: Teelken, A.W. and Korf, J. (ed) *Proceedings of the 11th ESN Meeting. Neurochemistry* In press.
25. Snyder, S.R. and Coyle, J.T. (1969) *J Pharmacol Exp Ther* 165: 78-86
26. Tekes, K., Tythfalusi, L., Gábi, J. and Magyar, K. (1988) *Pol. J. Pharmac. Pharm.* 40: 653-658.
27. Magyar, K. (1993). In: *Inhibitors of monoamine oxidase B*. Ed.: Szelényi I, Birkhauser Verlag, Basel 125-143.
28. Reynolds, G.P., Elsworth, J.D., Blau, K., Sandler, M., Lees, A.J. and Stern, G.M. (1978). *Br. J.Clin. Pharmac.* 6:542-544.
29. Heinonen, E.H., Myllyla, V., Sotaniemi, K., Lammintausta, R., Salonen, J.S., Anttila, M., Savijärvi, M., Kotila, M. and Rinne, U.K. (1989) *Acta Neurol. Scand.* 126:93-99.
30. Magyar, K. and Széts, T. (1982) In: *Proceedings of the International Symposium on (-)-Deprenyl, Jumex*. Szombathely, Hungary 25-31.
31. Magyar, K. and Tythfalusi, L. (1984). *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* 36:373-384.
32. Magyar, K., Lengyel, J., Szatmári, I. and Gábi, J. (1995) In: Yu PM, Tipton KF, Boulton AA (eds) *Current neurochemical and pharmacological aspects of biogenic amines. Progress in brain research* Elsevier Sci. 106:143-153.
33. Ariens, E.J. (1986). *Med. Res. Rev.* 6, 451-466.
34. Schachter, M., Marsden, C.D., Parkes, J.D., Jenner, P. and Testa, B. (1980). *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* 43: 1016-1021.
35. Meeker, J.E. and Reynolds, P.C. (1990) *J. Anal. Toxicol.* 14, 330-331.
36. Szoko E. and Magyar, K. (1995). *J Chromatography A* 709:157-162.
37. Szoko E. and Magyar, K. (1996) *Int. J. Pharm. Adv.* 1:320-328.
38. Yasar, S., Winger, G., Nickel B., Schulze, G and Goldberg, S.R. (1993). In: *Inhibitors of monoamine oxidase B*. Ed.: Szelényi I, Birkhauser Verlag, Basel 215-233.
39. Gibson, C.J. (1987) *Eur. J. Pharmacol.* 141: 135-138.
40. Yu, P.H., Davis, B.A., Fang, J. and Boulton, A.A. (1994) *J. Neurochem.* 63: 1820-1828.

THE EFFECT OF SELEGILINE AGAINST SELECTIVE NEUROTOXINS

K. MAGYAR

Department of Pharmacodynamics, Semmelweis University of Medicine, Budapest, Hungary

The complexity of the pharmacological activity of selegiline cannot be considered only as a result of a simple MAO-B inhibition. The mechanism of its neuroprotective action against the noradrenergic neurotoxin DSP-4 was widely studied. (-)-p-fluoro-deprenyl (PFD), the chemical derivative of selegiline, with its possible metabolites were also involved into these studies. The results suggested that the uptake inhibitory effect of selegiline, and mainly that of its metabolite (-)-methylamphetamine (MA), played an

essential role in the protection. MA was more potent to inhibit the uptake of noradrenaline and dopamine, than the parent compound. Neither selegiline nor its metabolite inhibited the reuptake of serotonin. In respect of the protection against DSP-4 induced toxicity PFD and its metabolites behaved similarly to selegiline, but their effects were more lasting than that of selegiline. After oral treatment selegiline undergoes an intensive "first pass" metabolism, which leads to an enhanced formation of MA. The better understanding of the fate of selegiline in the body, including its pharmacokinetic behaviour and metabolism, may contribute to a better knowledge of the complex pharmacological activity of the drug.

The results could be summarised as follows.

- a) MAO-B inhibition - which is due to the parent compound - is an irreversible "hit and run" effect, the level of which after an initial phase is independent of the presence of the substance which caused it.
- b) The uptake inhibition is a reversible process and strictly proportional to the concentration of the substance responsible for the effect. In this respect the uptake inhibitory action of the metabolites exceeds that of the parent compounds.

The role of the reversible uptake inhibition in neuroprotection may partly explain the need of the daily administration of selegiline to parkinsonian patients in spite of the irreversible MAO-B inhibitory action of the drug.

Key Words: selegiline, methyl-amphetamine, (-)-p-fluoro-deprenyl, metabolites, neuroprotection, irreversible MAO-B inhibition, reversible uptake inhibition