

Követve az OTKA 100155 kutatási támogatás eredeti tervét, három vegyület-csoport vér-agy gát (BBB) átjárhatóságának vizsgálatát végeztük el.

1): Organofoszfát mérgezések antidotumaként használt piridium-aldoxim (pralidoxim, K027, K048 és K203) vegyületekkel végeztünk *in vitro* és *in vivo* kísérleteket.

(2): Parkinson-kór kezelésében használt Jumex és analógjaival (azaz (-)-deprenillel, p-fluordeprenillel és rasagilinnel) végeztünk *in vitro* és *in vivo* kísérleteket.

(3): Fehérje-beépülés fokozását végző ekdiszteroiddal és analógjaival (20-hidroxiiekdizonnal, 20-hidroxiiekdizon-monoacetoniddal és 20-hidroxiiekdizon-diacetoniddal) végeztük előzetes kísérleteinket.

In vitro vizsgáltuk, és számítógépes programmal modelleztük bizonyos molekulák lipofilitását [Petroianu et al, 2014; Kalász et al, 2015a; Petroianu et al, 2015]. Előállítottuk a (-)-deprenyl-liposzóma formáját a heti egyszeri adagolást lehetőségének vizsgálatára. Vizsgáltuk a metabolikus átalakulások számos típusát, melyek állítanak elő jelentős mértékben aktív metabolitot, azaz melyek azok az esetek, melyekben nem az anya-vegyület, hanem a metabolit vér-agy gát penetrációját kell vizsgálni [Tekes et al, 2011; Hartyánszky et al, 2012; Ram et al, 2012; Kalász et al, 2013a]. Az általunk vizsgált vegyületeknél erre utaló jel nem volt.

Állatkísérletes vizsgálataink *in vivo* körülmények között, főleg patkányon, esetenként pedig egéren, kutyán vagy nyúlön történtek. A kezelés intraperitoneális (i.p.), intravénás (i.v.) illetve szájon keresztüli (p.o.) volt. A megfelelő "felszívódási" idő eltelte után validált HPLC módszerrel vizsgáltuk az állatok számos test-kompartimentjében az adagolt anyag szintjét [Szegei et al, 2010; Csömör et al, 2014; Pöstényi et al, 2015; Kalász et al, 2016]. HPLC vizsgálataink eredményeit esetenként egyéb analitikai módszerekkel is ellenőriztük.

Pralidoxim esetében dózisfüggő, azaz limitált vér-agy penetrációt tapasztaltunk, hiszen a mono-piridinium aldoxim vegyület erősen poláris. Ilyen limitáló tényezőt a K027, K048 és K203 vegyületeknél nem tapasztaltunk, bár ez a

három vegyület is jelentősen poláris (mind számításokkal, mind pedig rétegekromatográfiás vizsgálatok alapján). A K027, K048 és K203 azonban bis-piridinium vegyületek, és a kvaterner nitrogént valószínűleg “szendvicsként eltakarja” a molekula többi része [Kalász et al, 2013; Kalász et al, 2015b]. Vizsgáltuk, milyen hatással van a piridinium aldoxim adagolás az agy biogén amin szintjére [Hashemi, 2014].

Legutóbbi vizsgálataink a piridinium aldoximok alkalmazásának egy jelentős potenciális veszélyét mutatták ki. Vemhes egerek esetében mind a pralidoxim mind pedig a K027 a placentában feldúsul, és a magzat igen nagy dózist kap, azaz ezen típusú antidotum alkalmazása vemhesség – terhesség esetén elkerülendő [Nurulain et al, 2017; Ojha et al, 2016].

A Jumex vizsgálata kimutatta, hogy a gyógyszerként használt vegyület a (patkány) szervezet minden részébe eljut. Jelentős kezdeti feldúsulás történik azokban a szervekben, szövetekben és testfolyadékokban, melyek a testidegen vegyületek szervezetből való eltávolítását szolgálják (máj, vese, tüdő és könny) [Kalász et al, 2014], ez a magas koncentráció időben gyorsan csökken [Kalász et al, 2016]. Szignifikáns feldúsulás következett be az agyban és a herében, ezt a jelenséget patkányon egésztest autoradiográfiás vizsgálatainkkal is szemléltettük [Tekes et al, 2015]. Az agyban és a herében való jelentős feldúsulás a (-)-deprenil, azaz a Jumex monoamine-oxidáz enzimhez való kötődés következménye [Pöstényi et al, 2015; Tekes et al, 2015; Kalász et al, 2016]. Rasagilin és J-508 vegyületek szervezeten belüli eloszlásának vizsgálata megtörtént, a vizsgálatok kiértékelése és az eredmények közzlése folyamatban van. Radiojelzett Jumex orális adagolásnál az egyes test-kompartmentekben való eloszlás hasonló, mint i.p. adagolásnál, de magasabb szinteket mértünk [Kalász et al, 2016].

p-Fluordeprenil esetében ez a kötődés/feldúsulás még jelentősebb, mint az anyavegyület esetében [Pöstényi et al, 2015]. A para-helyzetű halogént tartalmazó vegyület alkalmazása számos előnnyel járhat. Vizsgálataink megerősítették azt a feltételezést, hogy a p-fluordeprenil agyi kumulációja (és in vivo MAO kötődése) a Jumexnél ((-)-deprenil) jelentősebb [Pöstényi et al, 2015].

Ekdiszteroidok esetén a 20-hidroxiiekdizon nem jut be az agyba, a 20-hidroxiiekdizon monoacetonid illetve 20-hidroxiiekdizon diacetonid származékai azonban bejutnak.

Vizsgálataink bizonyították, hogy mind a (-)-deprenil, mind p-fluordeprenil adagolás után feldúsul a herében [Pöstényi et al, 2015; Tekes et al, 2015; Kalász et al, 2016]. A Jumexszel történő kezelés (herébe jutás, és a herében lévő MAO bénítása) alapvető szerepet játszik a patkány spermium “mennyiségének és minőségének, és az utódok számának” jelentős növelésében. Közleményünk publikálásra való leadásával egyidőben megjelent szlovák szerzők által írt cikk [Mihalik et al, 2015] a Jumex hatását egyértelműen bizonyítja.

Piridinium aldoximok esetében a K203, deprenil analogoknál a p-fluoro(--)-deprenil, ekdiszteroidoknál pedig a 20-hidroxiiekdizon-monoacetonid az agyi penetrálhatóság szempontjából optimális vegyület.

Elméleti szempontból fontos kérdés, milyen molekuláris mechanizmus szerint történik a spermiumok megtermékenyítő képességének fokozása. Mi a MAO bénításon kívüli, vagy amellet a molekuláris analógia vagy hasonlóság a Parkinson kórnak a dopaminerg tónus fokozásával való kezelése [Kalász et al, 1990; Magyar et al, 2004; Kalász et al, 2014] és a reprodukciós képesség fokozása között.

Az etikai alapok tisztázását követően felvetődik, hogy a Jumex illetve analóg vegyületek hogyan és milyen mértékben használhatók az egyre gyengébb minőségű spermiumot produkáló human férfi populáció reprodukciós képességének javítására, azaz az európai lakosság csökkenésének ellensúlyozása érdekében.

Referenciák:

Csömör, V.; Laufer, R.; Pöstényi, Z.; Kalász, H.; Adeghate, E.; Nurulain, S.M.; Tekes, K.; Adem, A.: HPLC analysis and detection of L-deprenyl. *Acta Chromatog.*, 26(4), 649-656 (2014).

- Hashemi, F.; Laufer, R.; Szegi, P.; Csomor, V.; Kalász, H.; Tekes, K. HPLC determination of brain biogenic amines following treatment with bispiridinium aldoxime K203. *Acta Physiol. Hung.*, 101(1):40-46 (2014).
- Hartyánszky, I.; Kalász, H.; Adeghate, E.; Gulyás, Z.; Hasan, M.Y.; Tekes, K.; Adem, A.; Sótonyi, P. Active metabolites resulting from decarboxylation, reduction and ester hydrolysis of parent drugs. *Curr. Drug Metab.*, 13, 835-862 (2012).
- Kalász, H.; Kerecsen, L.; Knoll, J.; Pucsok, J. Chromatographic studies on the binding, action and metabolism of (-)-deprenyl. *J. Chromatogr.* 499, 589-599 (1990).
- Kalász, H.; Petroianu, G.; Hosztafi, S.; Darvas, F.; Csermely, T.; Adeghate, E.; Siddiq, A.; Tekes, K. Medicinal chemistry of drugs with active metabolites following conjugation. *Mini Rev. Med. Chem.*, 13, 1550-1563 (2013a).
- Kalász, H.; Szegi, P.; Jánoki, G.; Balogh, L.; Pöstényi, Z.; Musilek, K.; Petroianu, G.A.; Siddiq, A.; Tekes, K. Study on medicinal chemistry of K203 in Wistar rats and Beagle dogs. *Curr. Med. Chem.*, 20, 2137-2144 (2013).
- Kalász, H.; Magyar, K.; Szőke, É.; Adeghate, E.; Abdu, A.; Hasan, M.Y.; Nurulain, S.M.; Tekes, K.. Metabolism of selegiline [(-)-deprenyl)]. *Curr. Med. Chem.*, 21, 1522-1530 (2014).
- Kalász, H.; Doležal, R.; Tekes, K.; Magyar, K.; Csermely, T.; Hosztafi, S. Comparative lipophilicity of morphine derivatives. *J. Planar Chromatogr.*, 28, 126–132 (2015a).
- Kalász, H.; Nurulain, S.M.; Veress, G.; Antus, S.; Darvas, F.; Adeghate, E.; Adem, A.; Hashemi, F.; Tekes, K. Mini review on blood-brain barrier penetration of pyridinium aldoximes. *J. Appl. Toxicol.*, 35, 116-123 (2015b).
- Kalász, H.; Tekes, K.; Faigl, E.B.; Pöstényi, Z.; Berekméri, E.; Magyar, K.; Karvaly, G. Monitoring the level of ¹⁴C-labelled selegiline following oral administration. Submitted, (2016).

Magyar, K.; Pálfi, M.; Tábi, T.; Kalász, H.; Szende, B.; Szökő, É. Pharmacological aspects of (-)-deprenyl. *Curr. Med. Chem.*, 11(15) 2017-2031 (2004).

Mihalik, J.; Mašlanková, J.; Solár, P.; Horváthová, F.; Hubková, B.; Almášiová, V.; Šoltés, M.; Švaňa, M.; Rybárová, S.; Hodorová, I. The effect of R-(-)-deprenyl administration on reproductive parameters of rat males. *Eur. J. Pharmacol.* 754, 148-152 (2015).

Nurulain, S.M.; Kalász, H.; Szegi, P.; Kuca, K.; Adem, A.; Hasan, M.Y.B.; Hashemi, F.; Tekes, K.: HPLC analysis in drug level monitoring of K027. *Acta Chromatogr.*, 25, 703-710 (2013a).

Nurulain, S.M.; Petroianu, G.; Shafiullah, M.; Kalász, H.; Oz, M.; Saeed, T, Adem, A.; Adeghate, E. Sub-chronic exposure to paraoxon neither induces nor exacerbates diabetes mellitus in Wistar rat. *J. Appl. Toxicol.*, 33(10), 1036-1043 (2013b).

Nurulain, S.M.; Ohja, S.; Dharensekaran, S.; Kuca, K.; Nalin, N.; Sharma, C.; Adem, A.; Kalász, H. HPLC determination of K027 in the body of pregnant mice. *Acta Chromatogr*, in press (2017).

Ojha, S.; Nurulain, S.M.; Dhanasekaran, S.; Nalin, N.; Adem, A.; Sharma, C.; Kalász, H. Blood-fetus penetration of pralidoxime. Submitted, *Med. Sci. Lett.*, (2016).

Petroianu, G.A.; Athauda, G.; Darvas, F.; Kalasz, H.; Lorke, D.E. K-oxime (K-27) phosphorylation-induced changes in logP. *Med. Sci. Lett.*, 83, 1-7 (2014).

Petroianu, G.A.; Lorke, D.E.; Athauda, G.; Darvas, F.; Kalasz, H. Pralidoxime and obidoxime: Phosphorylation-induced changes in logP (partition coefficient). *J. Environm. Immunol. Toxicol.*, 10, 10-16 (2015).

Pöstényi, Z.; Tekes, K.; Tóth-Molnár, E.; Kalász, H. HPLC analysis of blood-brain barrier penetration of 4-fluorodeprenyl. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 102. 529-534 (2015).

Ram, N.; Kalász, H.; Adeghate, E.; Darvas, F.; Hashemi, F.; Tekes, K. Medicinal chemistry of drugs with active metabolites (N-, O-, and S-desalkylation and some specific oxidative alterations). *Curr. Med. Chem.*, **19**, 5683-5704 (2012).

Szegi, P.; Kalász, H.; Laufer, R.; Kuca, K.; Tekes, K. Pyridinium aldoxime analysis by HPLC: the method for studies on pharmacokinetics and stability. *Anal. Bioanal. Chem.* **397**(2), 579-586 (2010).

Tekes, K.; Kalász, H.; Hasan, M.Y.; Adeghate, E.; Darvas, F.; Ram, N.; Adem, A. Aliphatic and aromatic oxidations, epoxidation and S-oxidation of prodrugs that yield active drug metabolites. *Curr. Med. Chem.*, **18**, 4885-4900 (2011).

Tekes, K., Pöstényi, Z., Faigl, E.B., Magyar, K., Polyák, A., Trencsényi, Gy., Balogh, L., Kalász, H. Distribution of N-methyl-¹⁴C-labeled selegiline in the rat. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **111**, 147-152 (2015).

Tekes, K.; Kalász, H.; Hasan, M.Y.; Adeghate, E.; Darvas, F.; Ram, N.; Adem, A. Aliphatic and aromatic oxidations, epoxidation and S-oxidation of prodrugs that yield active drug metabolites. *Curr. Med. Chem.*, **18**, 4885-4900 (2011).