

**THE STUDY OF ANTHELMINTIC'  
TARGET SITES IN THE  
NEUROMUSCULAR SYSTEM OF  
PARASITIC NEMATODES IN ORDER  
TO IMPROVE PHARMACOTHERAPY  
AND DEVELOP OF NEW DRUGS**

**Prof. dr Saša Trailović**

**Fakultet veterinarske medicine**

**UNIVERZITET U BEOGRADU**

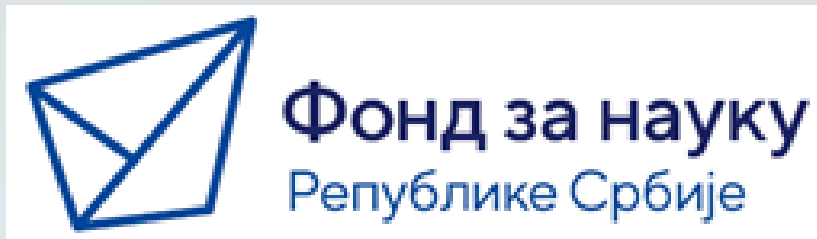


# Фонд за науку Републике Србије



ПРИЗМА

Projekt: **FARMASCA**



- ▶ **1) Prirodne nauke i matematika**
- ▶ **2) Tehničko-tehnološke nauke**
- ▶ **3) Biotehničke nauke**
- ▶ **4) Biomedicinske nauke**
- ▶ **5) Veštačka inteligencija**
- ▶ **6) Društvene i humanističke nauke**

2024-2026. godina

# Fakultet veterinarske medicine



# KATEDRA ZA FARMAKOLOGIJU I TOKSIKOLOGIJU



Конечна листа пројеката одобрених за финансирање у области биомедицинских наука у оквиру Програма ПРИЗМА

Р.бр	Шифра	Акроним	Назив пројекта	Руководилац пројекта (PI)	Научно-истраживачка организација (НИО) <sup>1</sup>	Матични број (НИО)	ПИБ (НИО)	Буџет (€)	Буџет (РСД)	Финални Резултат
1	3030	AID*	Anti-inflammatory Dietary intervention in breast cancer patients receiving aromatase inhibitors	Весна Вучић	Институт за медицинска истраживања, Универзитет у Београду Медицински факултет, Универзитет у Београду	07017634 07048137	100222157 100221404	274,800.00	32,426,400.00	A
2	7042	TRACE*	Tracking antimicrobial resistance in diverse ecological niches - one health perspective	Ива Гајић	Медицински факултет, Универзитет у Београду Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду Пољопривредни факултет, Универзитет у Београду Филозофски факултет, Нови Сад, Универзитет у Новом Саду	07048137 07002009 07029845 08055203	100221404 100266509 100198802 100721916	287,470.72	33,921,543.20	A
3	7333	FARMASCA*	The study of anthelmintic target sites in the neuromuscular system of parasitic nematodes in order to improve pharmacotherapy and develop of new drugs	Саша Тривоковић	Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду Медицински факултет, Универзитет у Београду	07002009 07048137	100266509 100221404	279,411.97	32,970,612.00	A
4	7339	TalkToTick**	Tailoring management of tick-borne diseases based on diversity of ticks and tick-borne pathogens	Снежана Томановић	Институт за медицинска истраживања, Универзитет у Београду Медицински факултет, Универзитет у Београду Медицински факултет Војномедицинске академије, Универзитет одбране Биолошки факултет, Универзитет у Београду Филозофски факултет, Универзитет у Београду	07017634 07048137 17862910 07048599 07003269	100222157 100221404 108349590 100043776 100050474	288,716.78	34,068,580.42	AБ
5	7303	BioengineeredTumor*	Biomimetic tumor engineering to enhance drug discovery	Бојана Одратовић	Технолошко-металуршки факултет, Универзитет у Београду Иновациони центар Технолошко-металуршког факултета, Универзитет у Београду Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитет у Београду Медицински факултет, Универзитет у Београду Институт за биолошка истраживања „Оливера Станковић“, Универзитет у Београду Фармацеутски факултет, Универзитет у Београду	07032552 20531992 07093977 07048137 07032609 07001975	100123813 106189098 101736673 100221404 100205381 101746930	281,400.00	33,203,200.00	AБ
6	7338	SINERGY-ACUTE*	Coronary microcirculation status as predictor of left ventricular dysfunction and heart failure in patients with acute myocardial infarction undergoing primary PCI	Горан Станковић	Медицински факултет, Универзитет у Београду	07048137	100221404	277,367.24	32,729,334.30	AБ
7	4242	NIMCHIP*	Immunoglobulin G as an innovative neuro-diagnostic agent	Павле Анђус	Биолошки факултет, Универзитет у Београду Медицински факултет, Универзитет у Београду Институт за вирусологију, вакцине и серуме "Торлак"	07048599 07048137 17078712	100043776 100221404 101739037	287,233.46	33,893,548.39	AБ
8	6795	ReDiMEL*	Detection and quantification of residual disease in patients with high-risk and advanced melanoma as a marker of therapy response and prognosis	Лидија Кандолф Секуловић	Медицински факултет Војномедицинске академије, Универзитет одбране	17862910	108349590	290,908.22	34,327,170.00	AБ
9	3436	ADVANCED*	Inflammation-driven cancer repopulation: seeds of progression and platform for therapy	Данијела Манојковић-Иванић	Институт за биолошка истраживања „Оливера Станковић“, Универзитет у Београду Медицински факултет, Универзитет у Београду	07032609 07048137	100205581 100221404	286,362.38	33,790,761.32	AБ
10	4747	RESCALE-EV*	Advancing REversible Immunocapture toward SCALable EV purification	Милица Поповић	Хемијски факултет, Универзитет у Београду Биолошки факултет, Универзитет у Београду Медицински факултет, Универзитет у Београду Иновациони центар Хемијског факултета у Београду, Универзитет у Београду	07053681 07048599 07048137 20530872	101823040 100043776 100221404 106185388	243,091.38	28,684,782.98	Б
11	7285	Cont4All	Development of portable device for continence preservation	Драгана Живковић	Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду Факултет спорта и физичког васпитања, Универзитет у Новом Саду Факултет техничких наука, Универзитет у Новом Саду Технички факултет Михајло Пуплин у Зрењанини, Универзитет у Новом Саду	08113599 08042101 08067104 08166161	100451043 101692305 100724720 101161200	271,400.00	32,023,200.00	Б
12	7617	CHRONOWOUND*	Multilevel approach to study chronic wounds based on clinical and biological assessment with development of novel personalized therapeutic approaches using in vitro and in vivo experimental models	Саша Стојановић	Медицински факултет, Универзитет у Нишу Машински факултет, Универзитет у Нишу	07215282 07174713	100664516 100662813	290,040.46	34,224,774.38	Б

Р.бр	Шифра	Акроним	Назив пројекта	Руководилац пројекта (PI)	Научно-истраживачка организација (НИО) <sup>1</sup>	Матични број (НИО)	ПИБ (НИО)	Буџет (€)	Буџет (РСД)	Финални Резултат
13	6777	optYmAb	Improving Clinical Outcomes with Precision Dosing in Patients with Inflammatory Bowel Disease Through Investigating Variability of Monoclonal Antibodies Based on Population Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling	Катерина Вучићевић	Фармацеутолог факултет, Универзитет у Београду	07001975	101746950	289,389.39	34,147,948.59	Б
					Медицински факултет, Универзитет у Београду	07048137	100221404			
14	7328	ToxoReTREAT*	Reinvention of the diagnostic algorithm and treatment options for reactivated toxoplasmosis	Тијана Штајнер	Институт за медицинска истраживања, Универзитет у Београду	07017634	100222157	265,000.00	31,270,000.00	Б
					Фармацеутолог факултет, Универзитет у Београду	07001975	101746950			
					Институт за физику Београд, Универзитет у Београду	07018029	100105980			
					Медицински факултет, Универзитет у Београду	07048137	100221404			

<sup>1</sup> Називи НИО означени "Болд" фактом представљају НИО које су Носиоци пројекта

\* Пројекти условно одобрени за финансирање због потребе за изградом Environmental and Social Management Plan Checklist (ESMP Checklist) према препоруци експерата за утицај на животну средину и социјални утицај, а у складу са ENVIRONMENTAL AND SOCIAL MANAGEMENT FRAMEWORK доступни на веб страници [http://projezakn.gov.rs/np-content/uploads/2022/03/ESMP\\_Updated-March-2022.pdf](http://projezakn.gov.rs/np-content/uploads/2022/03/ESMP_Updated-March-2022.pdf)

\*\* Пројекти условно одобрени за финансирање због потребе за изградом Environmental and Social Management Plan (ESMP) према препоруци експерата за утицај на животну средину и социјални утицај, а у складу са ENVIRONMENTAL AND SOCIAL MANAGEMENT FRAMEWORK доступни на веб страници [http://projezakn.gov.rs/np-content/uploads/2022/03/ESMP\\_Updated-March-2022.pdf](http://projezakn.gov.rs/np-content/uploads/2022/03/ESMP_Updated-March-2022.pdf)

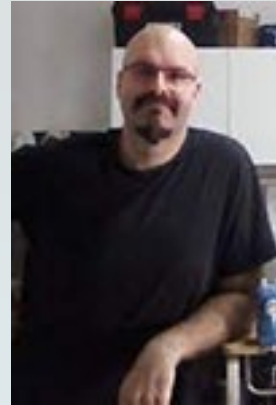
# Istraživački tim



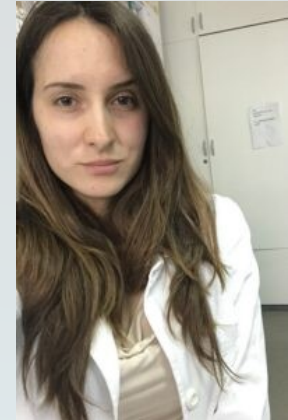
**Prof. dr Saša Trailović**



**Prof. dr Mirjana Milovanović**



**Asist. dr Đorđe Marjanović**



**Asist. Dragana Medić**

**Prof. dr Darko Marinković**



**Doc. dr Milan Aničić**



**Asist. Maja Stojković**



**Prof. dr Alan Robertson**



- **Cilj našeg projekta je dobijanje novih podataka za unapređenje i inoviranje antinematodne farmakoterapije.**
- **Glavna ciljna mesta za anthelmintičke lekove nalaze se u neuromuskularnom sistemu parazitskih nematoda.**
- **Mnogi anthelmintici deluju na „cys-loop“ ligand-zavisne jonske kanale, koji se nalaze na ćelijskoj membrani usmereni prema ekstracelularnom matriksu. To ih čini lako dostupnim molekulima leka i stoga su atraktivne mete.**
- **Mi ćemo istražiti mogućnost potenciranja dejstva anthelmintika na postojeća ciljna mesta i ukazati na potencijalno nova mesta za delovanje lekova.**
- **Ispitivanja su podeljeni u 4 dela:**

# I deo projekta

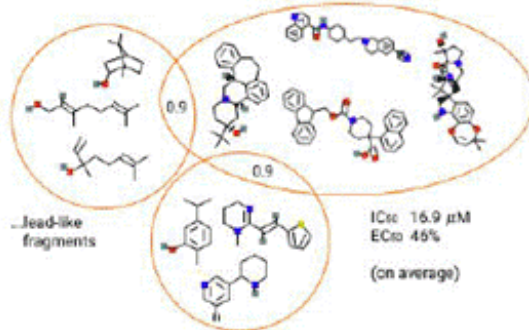
**-Mogućnost poboljšanja efikasnosti antihelmintičkih lekova koji su agonisti ili antagonisti GABA i nikotinskih acetilholinskih receptora (nAChRs) kod parazitskih nematoda.**

**-Interakcija agonista i antagonista benzodiazepinskih receptora sa hloridnim kanalom nematoda i mogućnost njihove kombinacije sa GABA-ergičkim lekovima.**

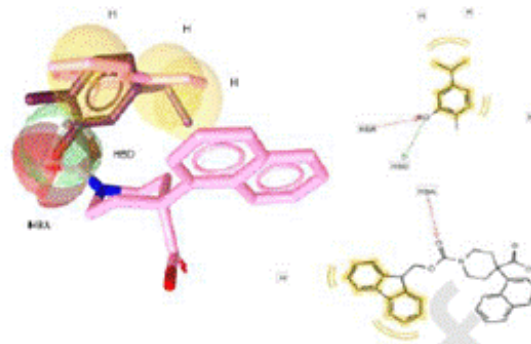
**-Testiraćemo izoksazoline kao antagoniste receptora GABA-ergičnih hloridnih kanala kod insekata i akarina i ispitaćemo njihovu interakciju sa nematodnim GABA receptorima.**

# Stevanović i sar., 2021

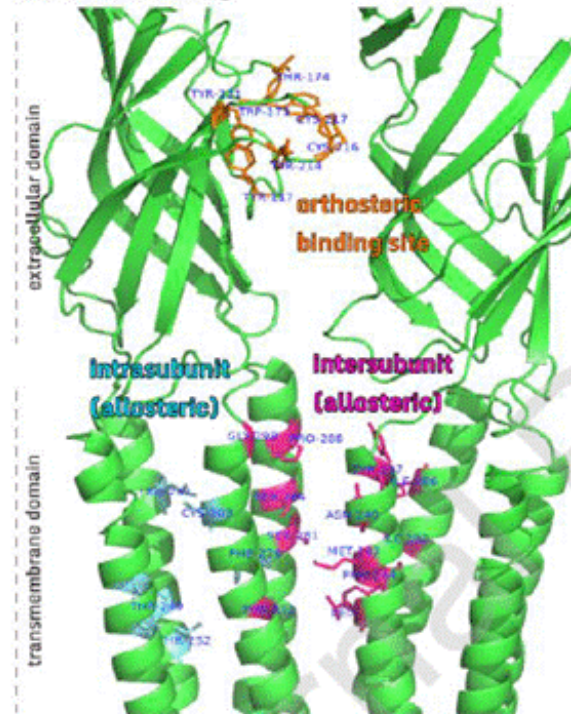
## 1: Dataset assembly



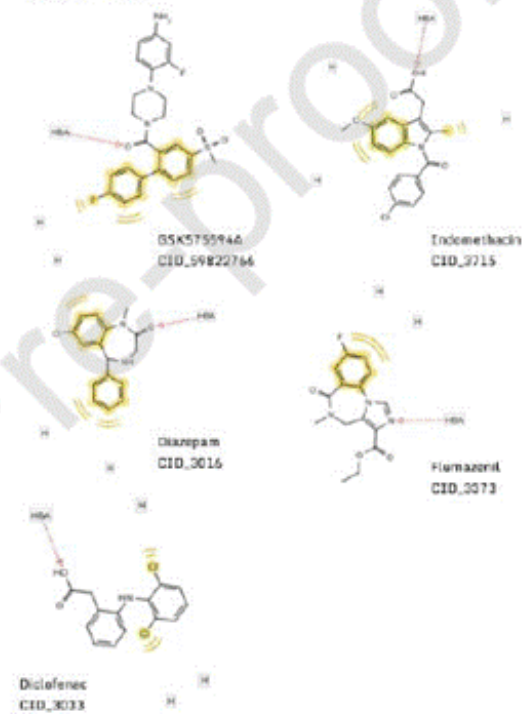
## 2: Ligand-based pharmacophore model



## 3: Molecular docking

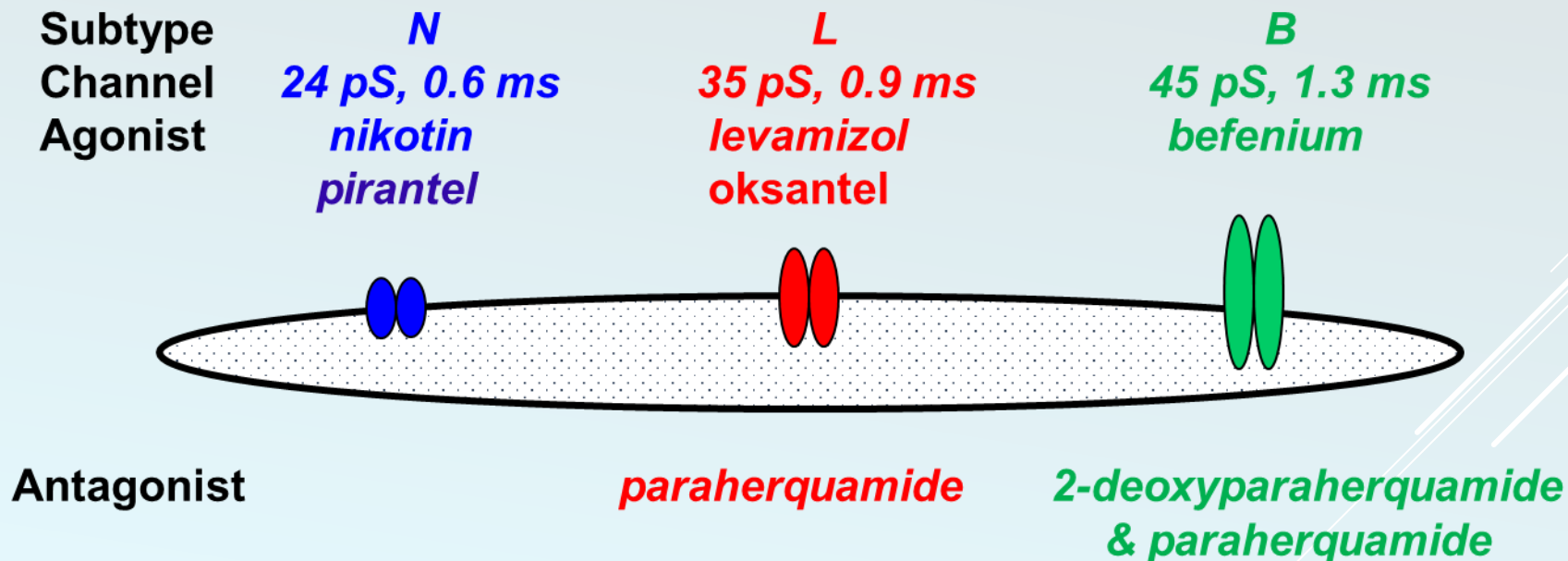


## 4: Hit results



**-Činjenica je da postoje najmanje tri podtipova nACh receptora kod parazitskih nematoda (N, L i B).**

**-Ispitaćemo antinematodne efekte kombinacija anthelmintičkih lekova sa agonističkim dejstvom na različite podtipove nAChR nematoda.**



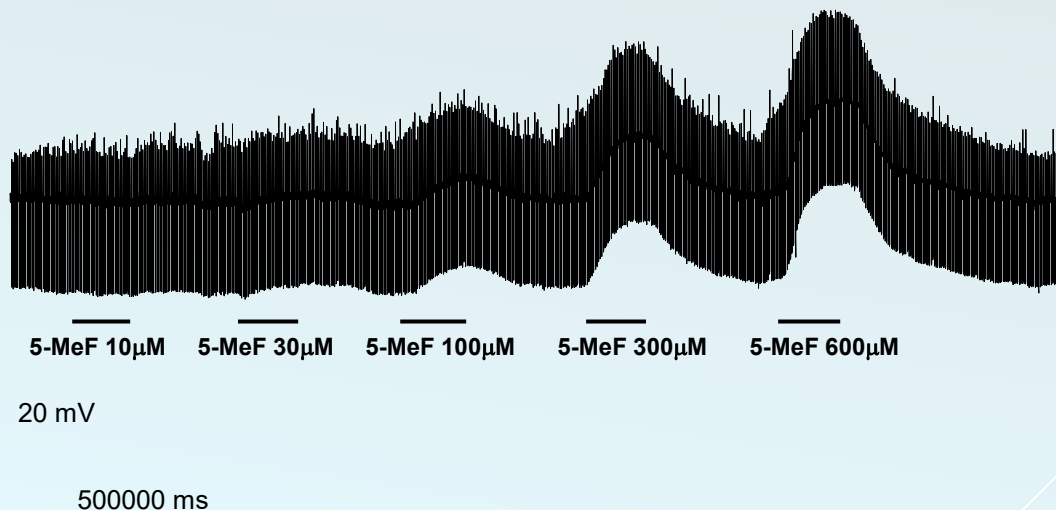
- **Mi predviđamo da se dalje ispita neuromišićni sistem na modelima parazitske nematode *Ascaris suum* i slobodnoživuće nematode *Caenorhabditis elegans*.**
- **Ispitaćemo kombinaciju novih (muskarinski i serotoninski receptori) i prethodno potvrđenih potencijalnih ciljnih mesta (jonotropni nACh i GABA receptori).**
- **Predlažemo da se odredi lokalizacija ovih receptora u somatskim mišićima *A. suum* metodom RNA-scope *in situ* hibridizacije.**

## II deo projekta

**-Odnosi se na ispitivanje novih potencijalnih meta lekova u neuromuskularnom sistemu nematoda.**

**-Fokusiraće se istraživanje na farmakološke karakteristike muskarinskog acetilholinskog receptora (mAChR) kod parazitskih nematoda.**

**-U prethodnom istraživanju smo utvrdili da agonist mAChR izaziva sporu depolarizaciju membrane mišićne ćelike *A. suum* (Trailović i sar., 2008).**



- ▶ **Jedan od nedavno otkrivenih farmakoloških receptora u neuromuskularnom sistemu nematoda je MOD-1 receptor.**
- ▶ **Ovi receptori regulišu otvaranje hloridnih kanala i slični su sa 5-HT grupom receptora kod kičmenjaka.**
- ▶ **Kanal MOD 1 se ne može blokirati jonima kalcijuma ili antagonistima specifičnim za 5-HT<sub>3a</sub>, ali ga inhibiraju miasetrin i metiotepin (triciklični antidepresivi).**

# III deo projekta

- **Odnosiće se na prenamenu postojećih lekova sa potencijalnim anthelmintičkim svojstvima.**
- **Alternativni pristup razvoju novih lekova je skrining lekova koji su već odobreni za lečenje drugih bolesti i njihova prenamena za anthelmintičko lečenje.**
- **Skrining biblioteke jedinjenja, malih molekula, korišćenja u kliničkim ispitivanjima kod ljudi na modelu *C. elegans* otkrio je anthelmintičku aktivnost neuromodulatornih lekova sertralina, paroksetina i hlorpromazina.**
- **Na osnovu naših prethodnih rezultata, dobijenih korišćenjem in silico alata za predikciju, ispitaćemo efekte već pomenutih agonista i antagonista benzodiazepinskih receptora i GSK575594A na neuromišićni sistem parazitskih nematoda.**



## **IV deo projekta**

- ▶ **Četvrti deo našeg projekta odnosi se na ispitivanje anthelmintičkih svojstava aktivnih sastojaka eteričnih biljnih ulja.**
- ▶ **Biljke proizvode prirodna ili eterična ulja kao organske proizvode sekundarnog metabolizma.**
- ▶ **Fokus istraživanja su terpenoidni aktivni sastojci (AI) biljnih eteričnih ulja.**
- ▶ **Naši prethodni rezultati pokazuju antinematodne efekte sa mehanizmom delovanja karvakrola (biljnog monoterpenoida) koji uključuje inhibiciju kontrakcija mišića parazita.**





## OPEN ACCESS

EDITED BY  
Larissa G. Pinto,  
King's College London, United Kingdom

REVIEWED BY  
Stève Hervé Thiry,  
Université d'Orléans, France  
Fabrício Souza Silva,  
Federal University of São Francisco Valley, Brazil

\*CORRESPONDENCE  
Saša M. Trailović,  
sasa@vet.bg.ac.rs

RECEIVED 23 October 2023  
ACCEPTED 10 January 2024  
PUBLISHED 22 January 2024

CITATION  
Stojković M, Todorović Z, Protić D, Stevanović S,  
Medić D, Charvet CL, Marjanović DS,  
Nedeljković Trailović J and Trailović SM (2024),  
Pharmacological effects of monoterpene  
carveol on the neuromuscular system of  
nematodes and mammals.  
*Front. Pharmacol.* 15:1326779.  
doi: 10.3389/fphar.2024.1326779

COPYRIGHT  
© 2024 Stojković, Todorović, Protić,  
Stevanović, Medić, Charvet, Marjanović,  
Nedeljković Trailović and Trailović. This is an  
open-access article distributed under the terms  
of the Creative Commons Attribution License  
(CC BY). The use, distribution or reproduction in  
other forums is permitted, provided the original  
author(s) and the copyright owner(s) are  
credited and that the original publication in this  
journal is cited, in accordance with accepted  
academic practice. No use, distribution or  
reproduction is permitted which does not  
comply with these terms.

# Pharmacological effects of monoterpene carveol on the neuromuscular system of nematodes and mammals

Maja Stojković<sup>1</sup>, Zoran Todorović<sup>1</sup>, Dragana Protić<sup>1</sup>,  
Strahinja Stevanović<sup>2</sup>, Dragana Medić<sup>3</sup>, Claude L. Charvet<sup>4</sup>,  
Djordje S. Marjanović<sup>5</sup>, Jelena Nedeljković Trailović<sup>5</sup> and  
Saša M. Trailović<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Toxicology, Faculty of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia, <sup>2</sup>IR CMMAB, Belgrade, Serbia, <sup>3</sup>Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia, <sup>4</sup>INRAE, Université de Tours, SIF-37380, Nouzilly, France, <sup>5</sup>Department of Nutrition and Botany, Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

The control of parasitic nematode infections relies mostly on anthelmintics. The potential pharmacotherapeutic application of phytochemicals, in order to overcome parasite resistance and enhance the effect of existing drugs, is becoming increasingly important. The antinematodal effects of carveol was tested on the free-living nematode *Caenorhabditis elegans* and the neuromuscular preparation of the parasitic nematode *Ascaris suum*. Carveol caused spastic paralysis in *C. elegans*. In *A. suum* carveol potentiated contractions induced by acetylcholine (ACh) and this effect was confirmed with two-electrode voltage-clamp electrophysiology on the *A. suum* nicotinic ACh receptor expressed in *Xenopus* oocytes. However, potentiating effect of carveol on ACh-induced contractions was partially sensitive to atropine, indicates a dominant nicotine effect but also the involvement of some muscarinic structures. The effects of carveol on the neuromuscular system of mammals are also specific. In micromolar concentrations, carveol acts as a non-competitive ACh antagonist on ileum contractions. Unlike atropine, it does not change the EC<sub>50</sub> of ACh, but reduces the amplitude of contractions. Carveol caused an increase in Electrical Field Stimulation-evoked contractions of the isolated rat diaphragm, but at higher concentrations it caused an inhibition. Also, carveol neutralized the mecamylamine-induced tetanic fade, indicating a possibly different pre- and post-synaptic action at the neuromuscular junction.

## KEYWORDS

carveol, *C. elegans*, *Xenopus* oocytes, *A. suum*, AChR

## 1 Introduction

Parasitic nematode infections are widespread in nature, affecting humans as well as animals. The most common nematodes in humans and animals are ascarids, pinworms, trichinella, and hookworm. Control of these infections relies mostly on chemotherapeutics (anthelmintics), but resistance has developed against most of these broad-spectrum drugs in many parasite species. The problem is that after the introduction of avermectins, most of the



# POMOĆ!



*Ascaris suum* i *Parascaris equorum*



*Parascaris equorum*