

**FARMAKOLOŠKI RECEPTORI NEMATODA KAO CILJNA  
MESTA DELOVANJA ANTIPARAZITSKIH LEKOVA\***  
*PHARMACOLOGICAL RECEPTORS OF NEMATODA AS TARGET  
POINTS FOR ACTION OF ANTIPARASITIC DRUGS*

S. M. Trailović, S. R. Ivanović, Jelena Nedeljković Trailović,  
A. P. Robertson\*\*

*Holinergički receptori parazitskih nematoda jedno su od najznačajnijih mogućih mesta delovanja antiparazitskih lekova. U ovom radu prikazani su neki od rezultata elektrofizioloških i farmakoloških ispitivanja nikotinskog i muskarinskog receptora nematoda, kao i literaturni podaci o novoj klasi antihelmintika koji deluju upravo na holinergičke receptore. Nikotinski acetilholinski receptor (nAChR) se nalazi na somatskim mišićnim ćelijama nematoda i odgovoran je za koordinaciju kretanja parazita. Holinomimetički antihelmintici deluju na ovaj receptor kao i acetilholin, endogeni neurotransmiter, ali nisu osetljivi na enzim acetilholin-esterazu koja razlaže acetilholin. Za razliku od nikotinskog receptora vertebrata, čija je struktura dobro ispitana, stohiometrija nikotinskog receptora nematoda nije u potpunosti poznata. Međutim, u skorije vreme na osnovu dosadašnjih saznanja konstruisan je model potencijalnog sastava jedne vrste nikotinskog receptora nematoda, kao mesta delovanja antihelmintika. Na osnovu ranijih istraživanja postoji pretpostavka da klasični muskarinski receptor postoji i kod nematoda, tako da i on može biti novo farmakološko ciljno mesto za razvoj antinematodnih lekova. Najnovija klasa sintetisanih antihelmintika, nazvana aminoacetonitrili (AAD), deluje preko nikotinskog receptora. Monepantel je prvi lek iz grupe AAD kao najznačajniji kandidat za registraciju u veterinarskoj medicini. Iako se u veterinarskoj kliničkoj praksi već duži niz godina primenjuje nekoliko grupa holinomimetičkih antihelmintika (imidazotiazoli, tetrahidropirimidini, organofosfatni antihelmintici), očigledno je da holinergički receptori nematoda i dalje pred-*

\* Rad primljen za štampu 29. 04. 2010. godine

\*\* Dr sci. med. vet. Saša M. Trailović, vanredni profesor, mr sci. med. vet. Saša R. Ivanović, asistent, dr sci. med. vet. Jelena Nedeljković Trailović, docent, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu; dr sci. med. vet. Alan P. Robertson, docent, Iowa State University, College of Veterinary Medicine

*stavljaju atraktivno mesto u ispitivanju i razvoju novih antinematodnih lekova.*

*Ključne reči: antiparazitski lekovi, nikotinski receptor, muskarinski receptor, aminoacetonitrili (AAD)*

## **Uvod / Introduction**

Infekcije domaćih životinja parazitskim nematodama dovode do smanjene produktivnosti, poremećaja opšteg zdravstvenog stanja, a ponekad i do ugućuća. Antinematodni lekovi podeljeni su u nekoliko grupa: benzimidazoli, imidazoltiazoli, avermektini i milbemicini, tetrahidropirimidini i dr. Benzimidazoli deluju nematocidno tako što inhibišu transport i preuzimanje glukoze ili inhibišu fumarat-reduktazu i vezuju se za  $\beta$ -tubulin u mikrotubulima; imidazoltiazoli i tetrahidropirimidini su agonisti nikotinskog receptora, a piperazin, avermektini i milbemicini agonisti GABA receptora nematoda (Adams, 2001).

Mi smo posebno zainteresovani za holinergićke receptore parazitskih nematoda jer su jedno od najznačajnijih mogućih mesta delovanja antiparazitskih lekova. U ovom radu prikazujemo neke od rezultata sopstvenih elektrofizioloških i farmakoloških ispitivanja nikotinskog i muskarinskog receptora nematoda, ali i publikovane literaturne podatke o potpuno novoj klasi antihelminatika koja deluje upravo na holinerićeke receptore.

### **Nikotinski acetilholinski receptor (nAChR) nematoda kao mesto delovanja antihelminatika / *Nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) of nematodes as site of action of anthelmintics***

U grupu klasićnih holinomimetićkih antihelminatika, za koje je dokazano da deluju kao ligandi nikotinskog acetilholinskog receptora (nAChR) nematoda, spadaju imiodazotiazoli (levamizol i tetramizol) i tetrahidropirimidini (pirantel, morantel, oksantel), dok danas gotovo potpuno napušteni organofosfatni antihelminatici efekat ostvaruju povećavajući koncentraciju endogenog acetilholina na receptorima. Nikotinski acetilholinski receptor se nalazi na somatskim mišićnim ćelijama nematoda i odgovoran je za koordinaciju kretanja parazita. Holinometrićki antihelminatici deluju kao i acetilholin, endogeni neurotransmiter, ali nisu osetljivi na enzim acetilholin-esterazu koja razlaže acetilholin. Generalizovano dejstvo lekova na somatske mišiće parazita izaziva spastićnu paralizu. Na celularnom nivou ova grupa antihelminatika dovodi do povećanja ulazne provodljivosti i posledićne depolarizacije ćelije, nastale otvaranjem neselektivnih katjonskih kanala. Na nivou pojedinaćnih jonskih kanala, levamizol kao tipićni predstavnik ove grupe lekova otvara neselektivni katjonski kanal ćija je provodljivost 18 do 50 pS, a vreme otvorenosti 1 do 5 ms. Efekt levamizola se mođe potpuno blokirati meka-

milaminom ili paraherkvamidom, za koje je dokazano da su specifični blokatori nAChR nematoda (Adams, 2001; Robertson i sar., 2007a; Robertson i sar., 2007b).

Svi nAChR su sastavljeni od 5 proteinskih subjedinica. Najznačajniji podaci o ovom receptoru su dobijeni ispitivanjima na *Torpedo californica* (električna raža), a najverovatnije i nikotinski receptor nematoda ima vrlo sličnu strukturu. Sadrži dve (ili više)  $\alpha$ -subjedinica i tri (ili manje) ne- $\alpha$  subjedinica. One su postavljene u krug oko centralne pore, gradeći transmembranski jonski kanal. Jonsku poru čine drugi transmembranski regioni svake subjedinice (TM2). Negativno naelektrisane amino kiseline (glutamat, aspartat) u ovom TM2 regionu regulišu provodljivost kanala, njegovu katjonsku selektivnost i nivo propustljivosti za kalcijum (Robertson i sar., 2007a).

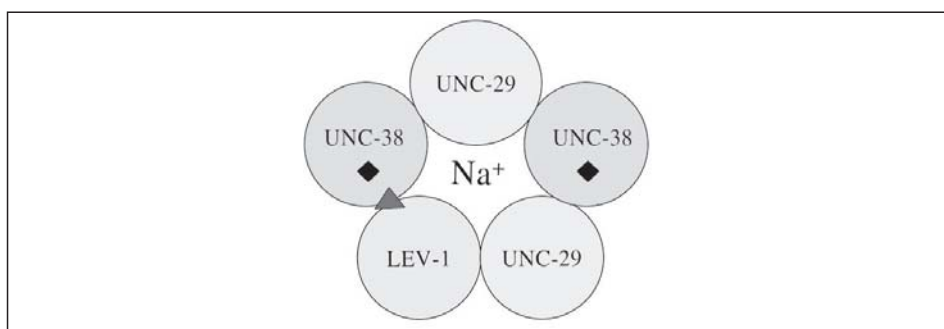
Kod vertebrata nAChR može biti podeljen u dve grupe: nikotinski receptor u skeletnim mišićima, koji je sastavljen iz 2  $\alpha$ -subjedinice i po jedne  $\beta$ ,  $\gamma$  i  $\delta$ -subjedinice kod adultnih organizama. Na  $\alpha$ -subjedinicama se nalazi po jedno mesto za vezivanje liganda (dva mesta na receptoru); neuronski nAChR koji je druga vrsta nikotinskog receptora vertebrata, poseduje nešto složeniju stohiometriju. Dve ili čak više  $\alpha$ -subjedinica sa  $\beta$ -subjedinicama grade pentamerni kanal. Takođe, moguće je da kanal bude pentamerni monomer, koga čine samo  $\alpha$ -subjedinice. Kod vertebrata postoji najmanje 12  $\alpha$ -subjedinica i 3  $\beta$ -subjedinice, ali samo manji broj njih gradi funkcionalne receptore. Samo subjedinice od  $\alpha 7$  do  $\alpha 12$  čine homomerni kanal (bez kombinacije sa  $\beta$ -subjedinicama). Različiti homomerni i heteromerni receptori imaju različite farmakološke karakteristike (Robertson i sar., 2007b).

Za razliku od ovih podataka kod nematoda nije potpuno poznata stohiometrija nikotinskog receptora. Poznato je da veći broj gena enkodira sintezu različitih subjedinica nikotinskog receptora nematoda i nadmašuje po raznolikosti subjedinice vertebrata. Ovo ukazuje na veliki diverzitet tipova nikotinskih receptora nematoda. Farmakološki gledano, nikotinski receptor nematoda je sličniji neuronskom receptoru vertebrata, jer je recimo neosetljiv na blokadu  $\alpha$ -bungarotoksinom. Za razliku od vertebrata, kod adultnih nematoda je dokazano više tipova nAChR na mišićnim ćelijama (Robertson i sar., 2007a).

Kod *Caenorhabditis elegans*, slobodno živeće nematode, mogu se diferencirati dve struje koje nastaju kada acetilholin otvori kanal: prva, nazvana nikotin-osetljiva struja, koja se može blokirati dihidro- $\beta$ -eritroidinom, a preferira nikotin kao agonist; i druga, nazvana levamizol-osetljiva struja, koja je neosetljiva na dihidro- $\beta$ -eritroidin i preferira levamizol kao agonist. Kod velike nematode svi-nja *Ascaris suum*, dokazana su tri tipa nAChR na mišićnoj membrani: L-tip (preferira levamizol kao agonistu), N-tip (preferira nikotin kao agonistu) i B-tip (preferira befinijum kao agonistu). Levamizol aktivira L-tip kanala, ali u manjoj meri otvara i N i B-tip kanala. Befinijum pre svega otvara B-tip kanala, ali i L-tip, dok na N-tip ne deluje. Očigledno da je kod parazitskih nematoda farmakološka diferenciranost

različitih tipova nikotinskog receptora manje izražene nego kod *C. elegans* (Robertson i sar., 2007a; Robertson i sar., 2007b).

Na osnovu dosadašnjih saznanja konstruisan je model potencijalnog sastava jedne vrste nikotinskog receptora nematoda, prikazan na slici 1. Receptor se sastoji iz 5 proteinskih subjedinica koje okružuju centralnu jonsku poru. UNC-38 je subjedinica homologna  $\alpha$ -subjedinici vertebrata, UNC-29 i LEV-1 su subjedinice homologne  $\beta$ -subjedinici vertebrata. Interfejs između  $\alpha$  i ne- $\alpha$  subjedinice gradi mesto vezivanja nikotinskih agonista (trougao). Analogno  $\alpha$ -subjedinici vertebrata svaka UNC-38 može da sadrži mesto vezivanja acetilholina (četvorougao) (KoÈhle, 2001).

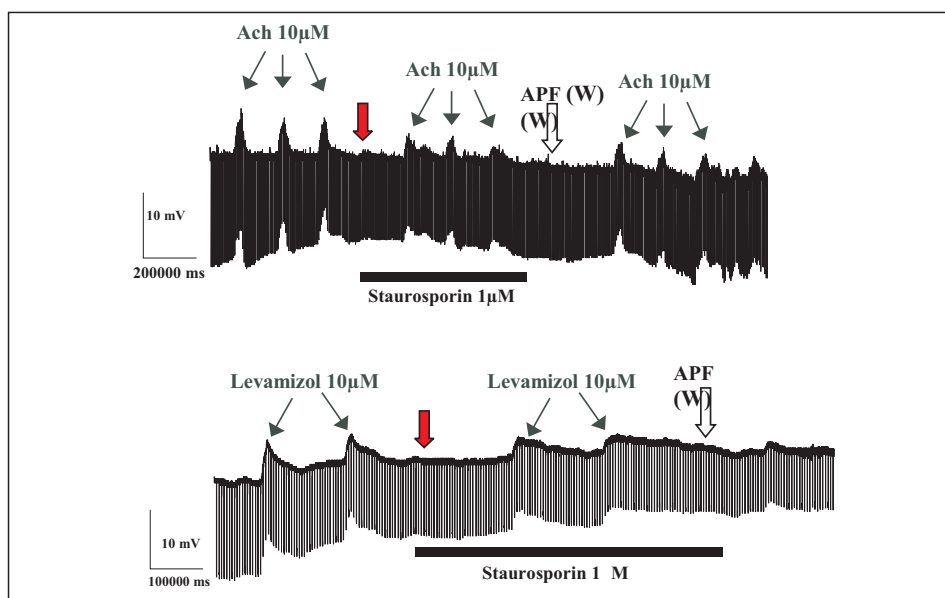


Slika 1. Model katjonskog kanala nematoda koga otvara acetilholin i levamizol  
Figure 1. Model of nematode cation ion-channel, which opens both acetylcholine and levamisole

Jedno od osnovnih pitanja vezanih za sam mehanizam dejstva holinergičkih agonista je njegova selektivna toksičnost. Iz gore navedenog proizilazi da je levamizol puni agonist nAChR na mišićima nematoda. Osnovno pitanje je kako levamizol deluje na isti receptor u mišićima sisara. Elektrofiziološkim metodama ispitivanja (merenjima provodljivosti pojedinačnog kanala) ustanovljeno je da ovaj antiparazitik aktivira nikotinski kanal sisara. Otvaranje pojedinačnog kanala traje kraće u odnosu na efekat klasičnog neurotransmitera acetilholina i ne dolazi do serije otvaranja u obliku klastera, kada se primene više koncentracije leka. Maksimalna struja koja nastaje posle otvaranja kanala levamizolom je svega 3% struje koju izazove acetilholin. Može se zaključiti da levamizol deluje kao slabi agonist nAChR sisara. Takođe, levamizol izaziva blokadu otvorenog kanala AChR. Afinitet kojim izaziva blokadu (190  $\mu$ M, -70 mV) je sličan kao i kod nematodnog receptora što ukazuje na to da se ovde radi o različitoj osetljivosti receptora nematoda i sisara prema levamizolu, a ne o razlikama u kinetici otvaranja kanala. Poznato je da se  $\alpha$ -subjedinica nAChR nematoda i sisara razlikuje. Kada se aminokiselina  $\alpha$  Gly-153 zameni homolognom glutaminskom kiselinom nematoda, u nAChR sisara dolazi do signifikantnog povećanja osetljivosti prema levamizolu. Ovo je pravo objašnjenje selektivnog dejstva levamizola na nikotinski receptor pa-

razita bez značajnijih efekata na nikotinske receptore domaćina (Rayes i sar., 2004).

Ispitivanja sa proteinskim kinazama, odnosno njihovim inhibitorima, donose nove podatke da i postreceptorska modifikacija može promeniti odgovor na lek i kao takva učestvovati u smanjenoj reakciji rezistentnih parazita na antiparazitik. U našim istraživanjima koristili smo selektivne antagoniste enzima kinaza, da bismo ispitali značaj kinaza i procesa fosforilacije u modulaciji funkcije nikotinskog receptora. Naša ispitivanja pokazuju da odgovor mišićne ćelije *Ascaris suum* nije uvek isti već da varira upravo zavisno od stanja fosforilacije nAChR. Dobijeni rezultati ukazuju na mogućnost da rezistencija na levamizol ne zahteva ultimativnu promenu aminokiselina na mestu vezivanja leka za receptor, već da može uključivati regulaciju aktivnosti receptora kroz promene stanja njegove fosforilacije (slika 2) (Trailović i sar., 2002).



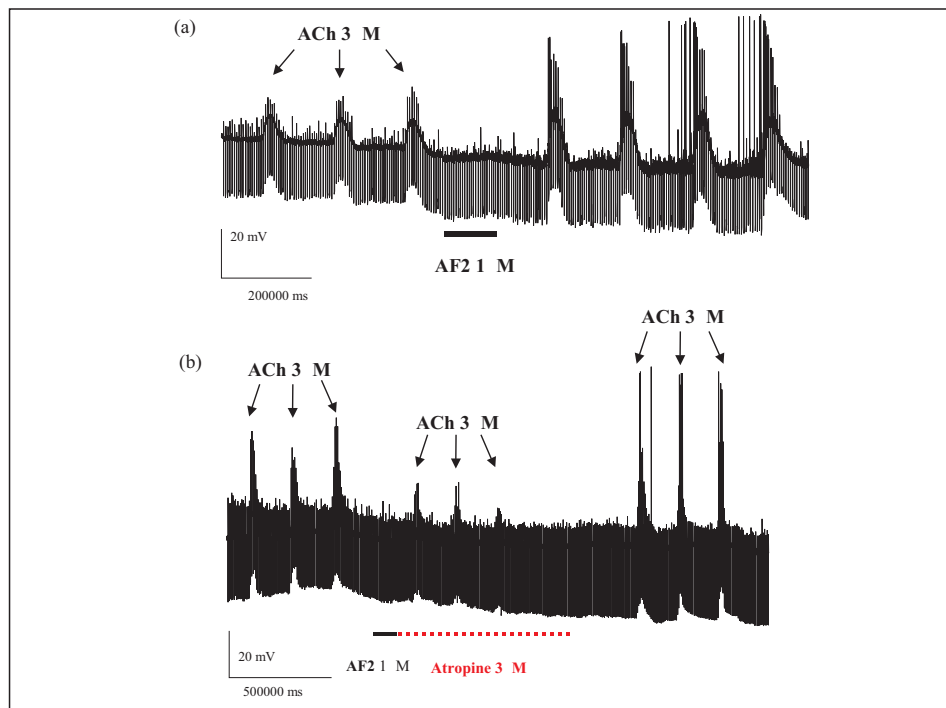
Slika 2. Dejstvo staurosporina, neselektivnog inhibitora proteinskih kinaza (protein kinaze A, C, G i CaM kinaze) na depolarizaciju mišićne ćelije *A. suum* izazvane acetilholinom ili levamizolom

Figure 2. Effects of staurosporine (broad-spectrum kinase inhibitor with activities against PKA, PKG, PKC, myosin light chain kinase (MLCK), CaM kinase and tyrosine kinase) on the depolarization of the *Ascaris suum* muscle cell caused by acetylcholine or levamisole

### Neurotransmisija kod nematoda / Neurotransmission in nematodes

Drugi deo naših ispitivanja odnosi se na značaj neuropeptida nematoda u neurotransmisiji. Neuropeptid AF2 je prvi put otkriven kod *Ascaris suum*, ali

kasnije i kod nekoliko drugih vrsta nematoda: *C. elegans*, *Panagrellus redivivus* i *Haemonchus contortus*. AF2 izaziva dugotrajno potenciranje dejstva acetilholina, ali ne i levamizola. Potenciranje efekta acetilholina pokazuje da nikotinski receptor nematoda poseduje značajan nivo plastičnosti. To navodi na zaključak da je moguće farmakološkim putem prevenirati razvoj rezistencije na holinergičke antihelminthike (slika 3) (Trailović i sar., 2005).



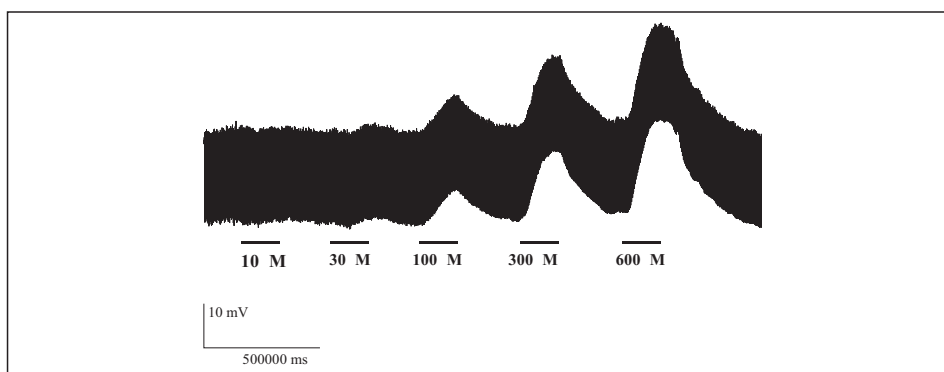
Slika 3. Kratkotrajna aplikacija neuropeptida AF2 dovodi do pojačanja depolarizacionog efekta acetilholina na mišićnoj ćeliji *A. suum* (a); Ovakav efekt AF2 je osetljiv na atropin (b)

Figure 3. Brief application of AF2 produces lasting potentiation of acetylcholine responses (a); this effect is sensitive to atropine (b)

### Muskarinski acetilholinski receptor (mAChR) nematoda kao mesto delovanja antihelminthika / Muscarinic acetylcholine receptor (mAChR) of nematodes as site of action of anthelmintics

Muskarinski receptor reguliše funkcije neurona i mišićnih ćelija preko G-kuplovanih kaskadnih reakcija. Na osnovu ranijih rezultata pošli smo od pretpostavke da klasični muskarinski receptor postoji kod nematoda i da on može biti novo farmakološko ciljno mesto za razvoj novih antinematodnih lekova. Na osno-

vu dobijenih rezultata istraživanja efekta muskarinskog agonista metilfurmetiodida na potencijal membrane mišićne ćelije *Ascaris suum* je dozno-zavisan i osetljiv na klasične muskarinske antagoniste atropin i 4-DAMP. Ove receptorske strukture zahtevaju dalja detaljna ispitivanja radi definisanja njihove uloge u nervno-mišićnom sistemu nematoda i određivanja mogućnosti da budu iskorišćene u razvoju novih antinematodnih lekova (slika 4) (Trailović i sar., 2008)



Slika 4. Dozno zavisni efekti muskarinskog agonista metilfurmetijodida na depolarizaciju membrane mišićne ćelije *A. suum*  
Figure 4. Dose-dependent effect of muscarinic agonist 5-methylurmethiodide on the *A. suum* muscle cells membrane depolarization

Da su holinergički receptori nematoda atraktivna ciljna mesta za anti-nematodne lekove govori i činjenica da najnovija klasa antihelmintika, nazvana aminoacetonitrili (AAD), deluje upravo na nikotinski receptor. AAD su klasa jedinjenja male molekulske mase, koji se relativno lako dobijaju alkilacijom fenola hloracetonom. Do sada je sintetisano preko 600 jedinjenja sa različitim ariloksi ili aroil grupama u aminoacetonitrilnom jezgru.

Inicijalna ispitivanja efikasnosti kod preživara pokazala su da neki od testiranih AADs efikasno eliminišu larve 4. stadijuma (L4) *H. contortus* i *Teladorsagia spp.* kod ovaca i *Cooperia oncophora* kod goveda (Stein i sar., 2010). Pri tome, pojedini predstavnici AADs su se izdvojili po izrazitoj efikasnosti, koja se kreće od 90 do 100%, protiv *Nematodirus spathier*, *H. contortus*, *Teladorsagia circumcincta* i *Trichostrongylus columbiformis* kod ovaca (Sager i sar., 2009).

#### **Monepantel – novi antihelmintički lek / Monepantel – new anthelmintic drug**

Monepantel je prvi lek iz grupe aminoacetonitrila koji se pojavio kao najozbiljniji kandidat za registraciju u veterinarskoj medicini. Kako je Evropska agencija za lekove (EMA) već odredila vrednosti maksimalno dozvoljenih koncentracija rezidua monepantela u mesu ovaca i koza, očekuje se vrlo brza cen-



tralna registracija ovog leka u EU (Kaminsky i sar., 2008). Izrazita efikasnost monepantela (skoro 100%-tna) potvrđena je i kod prirodnih i kod veštački izazvanih infekcija ovaca gastrointestinalnim nematodama (Sager i sar., 2009). Kao efektivna peroralna doza monepantela određena je doza od 2,5 mg/kg telesne mase (Hosking i sar., 2008; Kaminsky i sar., 2009; Hosking i sar., 2009a). Pojedini izolati gastrointestinalnih nematoda korišćenih za izazivanje eksperimentalnih infekcija imali su razvijenu rezistenciju na benzimidazole ili levamizol, što je bilo izuzetno važno za procenu efikasnosti monepantela. Za većinu testiranih nematoda (*Haemonchus contortus*, *Teladorsagia circumcincta*, *Trichostrongylus axei*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Trichostrongylus vitrinus*, *Cooperia curticei*, *Cooperia oncophora*, *Nematodirus battus*, *Nematodirus spathiger*, *Nematodirus filicollis*, *Oesophagostomum venulosum*, *Chabertia ovina*), posle veštačke infekcije, efikasnost monepantela iznosila je preko 98%, izuzev za *Oesophagostomum venulosum* gde je redukcija broja parazita iznosila 88%. Sličnu efikasnost monepantel je ispoljio i kod ovaca koje su bile prirodno inficirane, pa je i u ovom slučaju za većinu vrsta nematoda efikasnost ovog aminoacetontrila iznosila preko 99% (Hosking i sar., 2009b; Hosking i sar., 2010a; Bustamante i sar., 2009; Mason i sar., 2009).

U farmakokinetičkim ispitivanjima, kao potencijalno novi lek monepantel je ispoljio dobre farmakokinetičke osobine, kao i većina ostalih testiranih derivata aminoacetonitrila. Međutim, uprkos ovoj činjenici karenca će najverovatnije biti relativno dugačka (Karadzovska i sar., 2009; Hosking i sar., 2010b).

Do sada se često dešavalo da potencijalno perspektivne antihelminičke supstance ne prođu dalje od pretkliničkih ispitivanja zbog toksičnosti za sisare. Ovaj put svi AAD su ispoljili nisku toksičnost kod glodara i preživara. Oralna letalna doza derivata aminoacetonitrila kod pacova iznosi preko 2 g/kg telesne mase. Ispitivanja podnošljivosti različitih AAD, takođe su pokazala da se radi o jedinjenjima koja sisari dobro podnose (Malikides i sar., 2009a; Malikides i sar., 2009b; Malikides i sar., 2009c; Hosking i sar., 2009c).

#### **Zaključak / Conclusion**

U veterinarskoj kliničkoj praksi već duži niz godina primenjuje se nekoliko grupa holinomimetičkih antihelmintika, kao što su: imiodazotiazoli (levamizol, tetramizol), tetrahidropirimidini (pirantel, morantel, oksantel) i organofosfatni antihelmintici. Mehanizam antihelmintičkog delovanja sve tri navedene grupe lekova je isti. Oni deluju kao direktni ili indirektni agonisti nikotinskog acetilholinskog receptora (nAChR) nematoda. U međuvremenu, primena nekih od ovih antihelmintika je gotovo potpuno napuštena (organofosfatna jedinjenja), dok je prema ostalima zbog dugotrajnije upotrebe, u većoj ili manjoj meri, došlo do razvoja rezistencije. Otuda se nametnula potreba za novim efikasnim antihelmintikom. Istraživanja koja se sprovode u tom pravcu očigledno pokazuju da je



nikotinski receptor nematoda i dalje atraktivno mesto za delovanje antinematodnih lekova. U prilog tome govori i najnovija klasa sintetisanih antihelmintika – aminoacetonitrila (AAD), koji takođe deluju preko ovog receptora. Monepantel je prvi lek iz grupe AAD, kao najozbiljniji kandidat za registraciju u veterinarskoj medicini.

#### **Literatura / References**

1. Adams R. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 8<sup>th</sup> Ed. Iowa State University Press Iowa, USA. 2001.
2. Bustamante M, Steffan EP, Morlán BJ, Echevarria F, Fiel AC, Cardozo H, Castells D, Hosking CB. The efficacy of monepantel, an amino-acetonitrile derivative, against gastrointestinal nematodes of sheep in three countries of southern Latin America. *Parasitol Res* 2009; 106(1): 139-44
3. Hosking CB, Stein AP, Mosimann D, Seewald W, Strehlau G, Kaminsky R. Dose determination studies for monepantel, an amino-acetonitrile derivative, against fourth stage gastro-intestinal nematode larvae infecting sheep. *Vet Parasitol* 2008; 157(1-2): 72-80.
4. Hosking CB, Dobson PD, Stein AP, Kaminsky R, Bapst B, Mosimann D, Mason CP, Seewald W, Strehlau G, Sager H. Dose confirmation studies for monepantel, an amino-acetonitrile derivative, against fourth stage gastro-intestinal nematode larvae infecting sheep. *Vet Parasitol* 2009a; 160: 251-7.
5. Hosking CB, Griffiths MT, Woodgate GR, Besier BR, Le Feuvre AS, Nilon P, Trengove C, Vanhoff JK, Kaye-Smith GB, Seewald W. Clinical field study to evaluate the efficacy and safety of the amino-acetonitrile derivative, monepantel, compared with registered anthelmintics against gastrointestinal nematodes of sheep in Australia. *Aust Vet J* 2009b; 87(11): 455-62.
6. Hosking CB, Stein AP. Effect of fasting sheep for a short period on the efficacy and safety of monepantel. *Vet Rec* 2009c; 165: 50-2.
7. Hosking CB, Kaminsky R, Sager H, Rolfe FP, Seewald W. A pooled analysis of the efficacy of monepantel, an amino-acetonitrile derivative against gastrointestinal nematodes of sheep. *Parasitol Res* 2010a; 106(2): 529-32.
8. Hosking CB, Stein AP, Karadzovska D, House KJ, Seewald W, Giraudel MJ. Effect of route of administration on the efficacy and pharmacokinetics of an experimental formulation of the amino-acetonitrile derivative monepantel in sheep. *Vet Rec* 2010b; 166: 490-4.
9. Kaminsky R, Gauvry N, Schorderet Weber S, Skripsky T, Bouvier J, Wenger A, Schroeder F, Desaulles Y, Hotz R, Goebel T, Hosking BC, Pautrat F, Wieland-Berghausen S, Ducray P. Identification of the amino-acetonitrile derivative monepantel (AAD 1566) as a new anthelmintic drug development candidate. *Parasitol Res* 2008; 103(4): 931-9.
10. Kaminsky R, Mosimann D, Sager H, Stein P, Hosking B. Determination of the effective dose rate for monepantel (AAD 1566) against adult gastro-intestinal nematodes in sheep. *Int J Parasitol* 2009; 39(4): 443-6.
11. Karadzovska D, Seewald W, Browning A, Smal M, Bouvier J, Giraudel MJ. Pharmacokinetics of monepantel and its sulfone metabolite, monepantel sulfone, after intravenous and oral administration in sheep. *J Vet Pharmacol Ther* 2009; 32(4): 359-67.

12. Kočehlep P. The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. *Int J Parasitol* 2001; 313: 36-345.
13. Malikides N, Helbig R, Roth DR, Alexander A, Hosking CB, Strehlau GA. Safety of an amino-acetonitrile derivative (AAD), monepantel, in weaned lambs following repeated oral administration. *N Z Vet J* 2009a; 57(1): 10-5.
14. Malikides N, Helbig R, Mahoney R, George B, Baker K, Vanhoff K, Spencer K, Hall C, Debenedetti R, Strehlau GA. Reproductive safety of an amino-acetonitrile derivative (AAD), monepantel, in rams following repeated oral administration. *N Z Vet J* 2009b; 57(1): 16-21.
15. Malikides N, Spencer K, Mahoney R, Baker K, Vanhoff K, Hall C, Debenedetti R, Strehlau GA. Safety of an amino-acetonitrile derivative (AAD), monepantel, in ewes and their offspring following repeated oral administration. *N Z Vet J* 2009c; 57(4): 193-202.
16. Mason PC, Hosking CB, Nottingham RM, Cole DJ, Seewald W, McKay CH, Griffiths TM, Kaye-Smith BG, Chamberlain B. A large-scale clinical field study to evaluate the efficacy and safety of an oral formulation of the amino-acetonitrile derivative (AAD), monepantel, in sheep in New Zealand. *N Z Vet J* 2009; 57(1): 3-9.
17. Rayes D, De Rosa MJ, Bartos M, Bouzat C. Molecular basis of the differential sensitivity of nematode and mammalian muscle to the anthelmintic agent levamisole. *J Biol Chem* 2004; 279(35): 36372-81.
18. Robertson AP, Martin RJ. Ion-channels on parasite muscle: pharmacology and physiology. *Invert Neurosci* 2007a; 7: 209-17.
19. Robertson AP, Martin RJ. Mode of action of levamisole and pyrantel, anthelmintic resistance, E153 and Q57. *Parasitology* 2007b; 134: 1093-104.
20. Sager H, Hosking B, Bapst B, Stein P, Vanhoff K, Kaminsky R. Efficacy of the amino-acetonitrile derivative, monepantel, against experimental and natural adult stage gastro-intestinal nematode infections in sheep. *Vet Parasitol* 2009; 159: 49-54.
21. Stein AP, Rolfe FP, Hosking CB. The control of inhibited fourth-stage larvae of *Haemonchus contortus* and *Teladorsagia spp.* in sheep in Australia with monepantel. *Vet Parasitol* 2010; 169: 358-61.
22. Trailovic SM, Robertson AP, Clark CL, Martin RJ. Levamisole receptor phosphorylation: effects of kinase antagonists on membrane potential responses in *Ascaris suum* suggest that CaM kinase and tyrosine kinase regulate sensitivity to levamisole. *J Exp Biol* 2002; 205(24): 3979-88.
23. Trailovic SM, Clark CL, Robertson AP, Martin RJ. Brief application of AF2 produces long lasting potentiation of nAChR responses in *A. suum*. *Mol Biochem Parasitol* 2005; 139: 51-64.
24. Trailovic SM, Verma S, Clark CL, Robertson AP, Martin RJ. Effects of the muscarinic agonist, 5-methylfurmethiodide, on contraction and electrophysiology of *Ascaris suum* muscle. *Int J Parasitol* 2008; 38(8-9): 945-57.

ENGLISH

**PHARMACOLOGICAL RECEPTORS OF NEMATODA AS TARGET POINTS FOR ACTION OF ANTIPARASITIC DRUGS**

**S. M. Trailović, S. R. Ivanović, Jelena Nedeljković Trailović, A. P. Robertson**

Cholinergic receptors of parasitic nematodes are one of the most important possible sites of action of antiparasitic drugs. This paper presents some of our own results of electrophysiological and pharmacological examinations of nicotinic and muscarinic receptors of nematodes, as well as data from literature on a new class of anthelmintics that act precisely on cholinergic receptors. The nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) is located on somatic muscle cells of nematodes and it is responsible for the coordination of parasite movement. Cholinomimetic anthelmintics act on this receptor, as well as acetylcholine, an endogenous neurotransmitter, but they are not sensitive to enzyme acetylcholinesterase which dissolves acetylcholine. As opposed to the nicotinic receptor of vertebra, whose structure has been examined thoroughly, the stoichiometry of the nicotinic receptor of nematodes is not completely known. However, on the grounds of knowledge acquired so far, a model has been constructed recently of the potential composition of a type of nematodes nicotinic receptor, as the site of action of anthelmintics. Based on earlier investigations, it is supposed that a conventional muscarinic receptor exists in nematodes as well, so that it can also be a new pharmacological target for the development of antinematode drugs. The latest class of synthesized anthelmintics, named aminoacetonitriles (AAD), act via the nicotinic receptor. Monepantel is the first drug from the AAD group as a most significant candidate for registration in veterinary medicine. Even though several groups of cholinomimetic anthelmintics (imidazothiazoles, tetrahydropyrimidines, organophosphat anthelmintics) have been in use in veterinary practice for many years now, it is evident that cholinergic receptors of nematodes still present an attractive place in the examinations and development of new antinematode drugs.

Key words: antiparasitic drugs, nicotinic receptor, muscarinic receptor, aminoacetonitriles (AAD)

РУССКИЙ

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ РЕЦЕПТОРЫ НЕМАТОДОВ КАК ЦЕЛЕВЫЕ МЕСТА ДЕЙСТВИЯ АНТИПАРАЗИТАРНЫХ ЛЕКАРСТВ**

**Саша М. Траилович, Саша Р. Иванович, Елена Неделькович Траилович, Алан П. Робертсон**

Холинергические рецепторы паразитарных нематодов одно из самых значительных возможных мест действия антипаразитарных лекарств. В этой работе показаны некоторые из собственных результатов электрофизиологических и фармакологических испытаний никотинового и мускаринового рецепторах нематод, словно и литературные данные о новом классе антигельминтиков, действующие как раз на холинергические рецепторы. Никотиновый ацетилхолиновый рецептор (НАЦХР) находится на соматических мышечных клетках нематод и ответственный

для координации движения паразитов. Холиномиметические антигельминтики действуют на этот рецептор словно и ацетилхолин, эндогенный нейротрансмитер, но не чувствительные к энзиму ацетилхолин-эстераз, расщепляющий ацетилхолин. В отличие от никотинового рецептора *vertebrata*-позвоночные, чья структура хорошо испытана, стехиометрия никотинового рецептора нематод не полностью известна. Между тем, в предстоящее время на основе бывших до сих пор познаний построена модель потенциального состава одного вида никотинового рецептора нематод, как места действия антигельминтиков. На основе более ранних исследований существует предположение, что классический мускариновый рецептор существует и у нематод, так, что и он может быть новой фармакологической целью - таргет для развития антинематодных лекарств. Наиболее новый класс синтетических антигельминтиков, названный аминацетонитрилы (ААН), действует через никотиновый рецептор. Монепантел первое лекарство из группы ААН как самый значительный кандидат для регистрации в ветеринарной медицине. Хотя ветеринарной клинической практике уже более долгий ряд лет применяется несколько групп холиномиметических антигельминтиков (имидазотиазолы, тетрагидропиримидины, органофосфатные антигельминтики), очевидно, что холинергические рецепторы нематод и дальше представляет собой атрактивное место в испытании и развитии новых антинематодных лекарств.

Ключевые слова: антипаразитарные лекарства, никотиновый рецептор, мускариновый рецептор, аминацетонитрилы (ААН)