

# Istraživanje odnosa između strukture i djelovanja beta-laktama

---

**Mikulić, Anita**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2016**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:844636>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-20**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**I**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Anita Mikulić**

**ISTRAŽIVANJE ODNOSA IZMEĐU STRUKTURE I DJELOVANJA  
BETA-LAKTAMA**

**Diplomski rad**

**Akademska godina: 2015./2016.**

**Mentorica:**

**Prof. dr. sc. Marica Medić-Šarić**

**Split, listopad 2016.**

**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**I**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Anita Mikulić**

**ISTRAŽIVANJE ODNOSA IZMEĐU STRUKTURE I DJELOVANJA**

**BETA-LAKTAMA**

**Diplomski rad**

**Akadska godina: 2015./2016.**

**Mentorica:**

**Prof. dr. sc. Marica Medić-Šarić**

**Split, listopad 2016.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

## DIPLOMSKI RAD

**Kemijsko-tehnološki fakultet i Medicinski fakultet**  
**Integrirani preddiplomski i diplomski studij FARMACIJA**  
**Sveučilište u Splitu, Republika Hrvatska**

**Znanstveno područje:** Biomedicinske znanosti  
**Znanstveno polje:** Farmacija  
**Nastavni predmet:** **Biokemija lijekova**  
**Tema rada** je prihvaćena na sjednici Vijeća studija Farmacija te potvrđena na 4. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko tehnološkog fakulteta i sjednici fakultetskog vijeća Medicinskog fakulteta  
**Mentor:** **prof. dr. sc. Marica Medić-Šarić**  
**Pomoć pri izradi:** -

### ISTRAŽIVANJE ODNOSA STRUKTURE I DJELOVANJA BETA-LAKTAMSKIH ANTIBIOTIKA

Anita Mikulić, 60

**Sažetak:** cilj ovog diplomskog rada je prikazati utjecaj strukture beta-laktamskih antibiotika prvenstveno penicilina i cefalosporina na njihovo djelovanje. Osnovu strukture penicilina i cefalosporina čine 6-APK i 7-ACK. Penicilini i cefalosporini se međusobno razlikuju u pobočnim lancima. Prikazane su reakcije biotransformacije prolijekova u tijelu, promjene na strukturi penicilina u kiselom i lužnatom mediju te reakcije biotransformacije cefalosporina. Enzim penicilinaza katalizira cijepanje  $\beta$ -laktamskog prstena, meticilin je prvi polusintetički penicilin otporan na *S. aureus*  $\beta$ -laktamazu. Njegov „sterički štit“ čine dvije metoksi- skupine u orto položaju na aromatskom prstenu pobočnog lanca. Problem nestabilnosti penicilina u kiselini je riješen uvođenjem elektron privlačne funkcionalne skupine na  $\alpha$ -poziciji u pobočnom lancu. Hidrolizom cefalosporina nastaju manje aktivni alkoholi. Treća generacija cefalosporina ima povećanu djelotvornost protiv Gram-negativnih bakterija posebice onih rezistentih na druge antibiotike. Penicilini i cefalosporini pokazuju djelomičnu i nepotpunu križnu reaktivnost do 7%. Prolijekovi pivampicilin i cefuroksim aksetil se u tijelu enzimski hidroliziraju u „matične spojeve“ ampicilin i cefuroksim. Povezivanjem lijeka s dihidropiridinskim nosačem omogućuje prolazak kroz krvo-moždanu barijeru. Strukturna jezgra penicilina i cefalosporina je esencijalna za antimikrobnu aktivnost. Varijacijama na pobočnim lancima mijenjaju se fizikalna, kemijska i biološka svojstva. Križne alergijske reakcije mogu se očekivati između penicilina i cefalosporina sa sličnim pobočnim lancima. Prolijek koncept omogućuje povećanje lipofilnosti i farmakoloških svojstava  $\beta$ -laktamskih antibiotika.

**Ključne riječi:** beta-laktami, penicilini, cefalosporini, križne alergijske reakcije, prolijekovi

**Rad sadrži:** 20 slika, 4 tablice, 58 literaturnih citata

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Sastav Povjerenstva za obranu:**

1. prof. dr. sc. Davorka Sutlović   predsjednik
2. doc. dr. sc. Ivana Mudnić       član
3. prof. dr. sc. Marica Medić-Šarić član-mentor

**Datum obrane:** 17. listopada 2016.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen** u knjižnicama Kemijsko-tehnološkog fakulteta Sveučilišta u Splitu, Split, Ruđera Boškovića 35 i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu, Split, Šoltanska 2.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

## GRADUATE THESIS

**Faculty of Chemistry and Technology and School of Medicine  
Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy  
University of Split, Croatia**

**Scientific area:** Biomedical sciences  
**Scientific field:** Pharmacy  
**Course title:** Drug Biochemistry  
**Thesis subject** was approved by Council of Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy, as well as by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 4 and Faculty Council of School of Medicine, session no.  
**Mentor:** **Marica Medić-Šarić, PhD, prof.**  
**Technical assistance:** -

### EXPLORING THE RATIO BETWEEN STRUCTURE AND BETA-LACTAMS ACTIVITY

Anita Mikulić, 60

**Summary:** the objective of this study was to show structure influence on the beta-lactams activity, particularly on the penicillins and cephalosporins activity. 6-APA and 7-ACA form the base of penicillins and cephalosporins structure, penicillins and cephalosporins differ in the side chains. Biotransformations of prodrugs and of cephalosporins and also changes in penicillins structure in acid or alkaline media were observed in this study. Penicillinase enzyme catalyzes the cleavage of  $\beta$ -lactam ring, methicillin is the first semisynthetic penicillin resistant to *S. aureus*  $\beta$ -lactamase. Its "steric shield" is consisted of the two methoxy groups in the ortho position on the aromatic ring of the side chain. Penicillin acid sensitivity is solved by introducing electron-withdrawing groups on the  $\alpha$ -position of the side chain. Cephalosporins acetyloxy group is readily hydrolysed by esterase enzymes to give the less active alcohol. Third-generation cephalosporins show better activity against Gram-negative bacteria, many of which are resistant to other  $\beta$ -lactams. Penicillins and cephalosporins show partial and incomplete cross-reactivity up to 7%. Prodrugs pivampicillin and cefuroxime axetil are enzyme hydrolyzed into "parent compounds" ampicillin and cefuroksim in the body. Linking the drug with dihydropyridine carrier makes the passing through blood-brain barrier possible. Nucleus of penicillins and cephalosporins is essential for antimicrobial activity. Modifications in the side chain change physical, chemical and biological properties. Cross allergic reactions can be expected between penicillin and cephalosporin with similar side chains. Prodrug concept allows increasing lipophilicity and pharmacological properties of  $\beta$ -lactam antibiotics.

**Key words:** beta lactams, penicillins, cephalosporins, cross allergy reactions, prodrugs

**Thesis contains:** 20 figures, 4 tables, 58 references

**Original in:** Croatian

#### Defence committee:

1. Davorka Sutlović-PhD, assistant prof. chair person
2. Ivana Mudnić – PhD, associate prof. member
3. Marica Medić-Šarić – PhD, prof. supervisor

**Defence date:** October 17, 2016.

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of Faculty of Chemistry and Technology University of Split, Split, Ruđera Boškovića 35 and Library of School of Medicine, University of Split, Split, Šoltanska 2.

## Sadržaj

1. UVOD .....	1
1.1. Antimikrobni lijekovi .....	2
1.1.1. Odabir antibiotika .....	2
1.2. $\beta$ -laktamski antibiotici .....	2
1.2.1. Mehanizam djelovanja.....	2
1.2.2. Mehanizmi rezistencije bakterija na $\beta$ -laktame .....	4
1.2.3. Penicilini .....	5
1.2.3.1. Podjela penicilina .....	6
1.2.3.2. Farmakokinetika .....	7
1.2.3.3. Nuspojave .....	7
1.2.3.4. Preosjetljivost na peniciline .....	8
1.2.4. Cefalosporini .....	8
1.2.4.1. Podjela cefalosporina.....	9
1.2.4.2. Farmakoniketika .....	10
1.2.4.3. Nuspojave .....	10
1.2.4.4. Preosjetljivost na cefalosporine .....	10
1.3. Prolijekovi .....	11
1.3.1. Prolijek koncept.....	11
1.3.2. Podjela prolijekova .....	12
1.3.3. Esteri kao prolijekovi.....	12
1.3.4. Prolijekovi $\beta$ -laktamskih antibiotika .....	12
2. CILJ ISTRAŽIVANJA .....	14
3. MATERIJALI I METODE .....	16
3.1. Materijali: .....	17
3.1.1. Strukture istraživanih penicilina .....	17
3.1.2. Strukture istraživanih cefalosporina .....	19
3.2. Metode .....	20
3.2.1. Reakcije hidrolize .....	20
3.2.1.1. Enzimi karboksil-esteraze.....	21
3.2.1.2. Hidroliza estera.....	21
3.2.1.3. Hidroliza amida .....	22
4. REZULTATI.....	23

4.1. Prikaz reakcija hidrolize penicilina .....	24
4.2. Utjecaj strukture na biološku aktivnost penicilina .....	25
4.3. Utjecaj pobočnog lanca penicilina na kinetiku $\beta$ -laktamze .....	27
4.4. Prikaz reakcija hidrolize cefalosporina.....	29
4.5. Utjecaj strukture na biološku aktivnost cefalosporina prve i treće generacije .....	30
4.6. Značaj strukture u križnoj reaktivnosti između penicilina i cefalosporina.....	32
4.7. Prolijekovi .....	33
4.7.1. Hidroliza pivampicilina .....	33
4.7.2. Hidroliza cefuroksim-aksetila.....	33
4.7.3. Povećanje lipofilnosti .....	34
5. RASPRAVA.....	36
5.1. $\beta$ -laktamski antibiotici .....	37
5.1.1. Penicilini.....	37
5.1.1.1. Penicilini stabilni u kiselinama.....	37
5.1.1.2. Penicilini otporni na $\beta$ -laktamazu.....	37
5.1.1.3. Penicilini širokog spektra djelovanja.....	38
5.1.2. Cefalosporini .....	39
5.1.2.1. Cefalosporini prve generacije.....	39
5.1.2.2. Cefalosporini druge generacije.....	40
5.1.2.3. Cefalosporini treće generacije .....	40
5.1.2.4. Cefalosporini četvrte generacije .....	40
5.1.3. Križne alergijske reakcije cefalosporina i penicilina.....	41
5.1.4. Pivampicilin.....	41
5.1.5. Cefuroksim aksetil.....	42
6. ZAKLJUČCI.....	43
7. POPIS CITIRANE LITERATURE.....	45
8. SAŽETAK.....	50
9. SUMMARY .....	52
10. ŽIVOTOPIS .....	54



Zahvala

*Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Marici Medić-Šarić na pruženoj pomoći i strpljenju.*

*Veliko hvala mojim roditeljima i obitelji jer su uvijek tu za mene kao velika podrška i oslonac.*

*Hvala i mojim prijateljima na pomoći, savjetima i nezaboravnim zajedničkim trenucima.*

## **1. UVOD**

## **1.1. Antimikrobni lijekovi**

Zarazne su bolesti od pamtivijeka veliki čovjekov problem. Te su bolesti odnosile mnogobrojne ljudske živote, stoga je pronalazak lijekova kojima se one mogu izliječiti bio prava revolucija u medicini. Ti se lijekovi nazivaju "antimikrobni lijekovi" ili "antimikrobni kemoterapeutici" ili "antibiotici".

### **1.1.1. Odabir antibiotika**

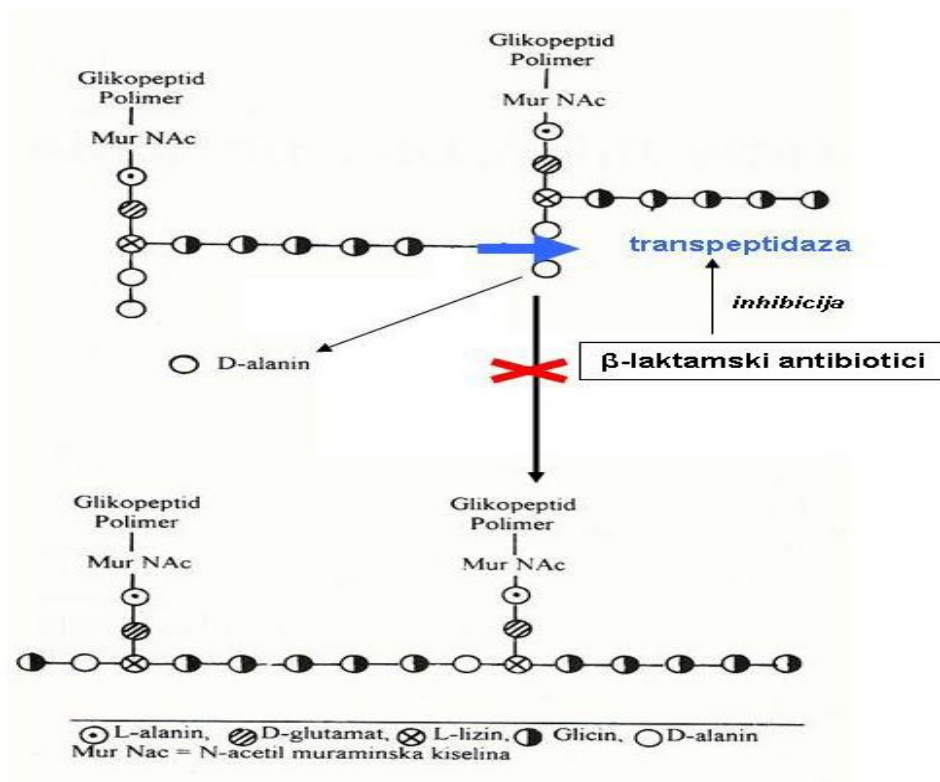
Prilikom odabira antibiotika za liječenje infekcije u bolesnika treba obratiti pažnju na nekoliko čimbenika: spektar djelovanja te *in vitro* djelotvornost pojedinih antibiotika na pojedine bakterije, zatim farmakokinetiku lijeka, farmakodinamiku lijeka, nuspojave antimikrobnih lijekova, interakcije s drugim lijekovima, kontraindikacije za primjenu, individualne osobine bolesnika, te pojedinačne interakcije.<sup>17</sup>

## **1.2. β-laktamski antibiotici**

Kao antibiotici, β-laktami su najraširenija skupina antimikrobnih lijekova koji se zbog vrlo snažnog antimikrobnog djelovanja i vrlo niske toksičnosti najčešće koriste u humanoj i veterinarskoj medicini prilikom liječenja bakterijskih infekcija.

### **1.2.1. Mehanizam djelovanja**

β-laktamski antibiotici djeluju baktericidno, a načelno se smatra da je osnovni mehanizam njihovog baktericidnog učinka inhibicija sinteze stanične stijenke bakterije. Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterije u svojoj građi imaju sloj umreženih polimera, peptidoglikanskih lanaca koji je u Gram-pozitivnih bakterija puno deblji (debljine 50-100 molekula), a u Gram-negativnih bakterija prilično tanak (1 -2 molekule).



Slika 1. Inhibicija sinteze peptidoglikana iz stanične stijenke bakterija pomoću  $\beta$ -laktamskih antibiotika

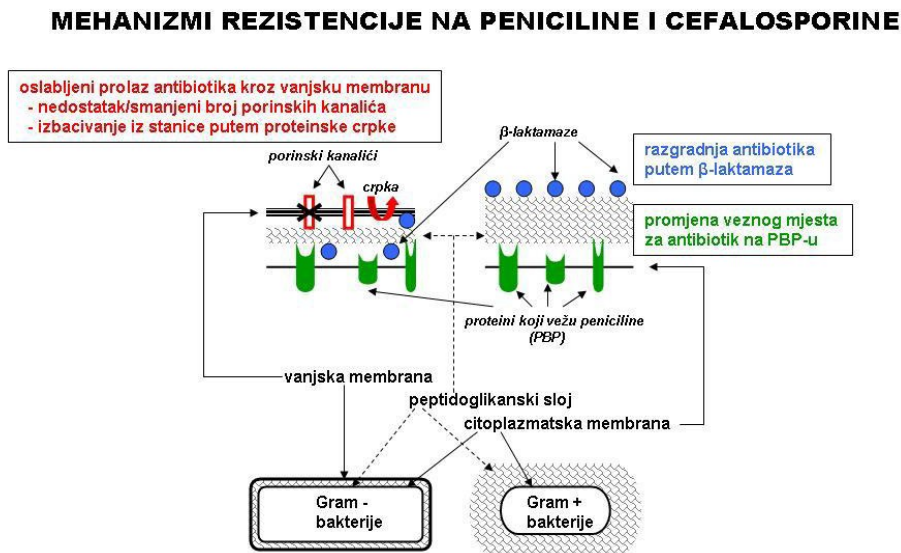
Zajedno s vanjskom membranom, peptidoglikanski sloj čini staničnu stijenku koja u potpunosti obavija citoplazmatsku membranu bakterijske stanice, te na taj način osigurava njenu čvrstoću, sprječava lizu stanice pri visokom osmotskom tlaku te daje stanici oblik. Neophodna je za normalan rast i razvoj bakterija, a nema je u stanicama životinjskog i ljudskog podrijetla.

Glavne komponente peptidoglikana su polisaharidi u kojima se izmjenjuju N-acetilglukozamin i N-acetilmuraminska kiselina te pentapeptid koji se pričvršćuje za N-acetilmuraminsku kiselinu, a završava D-alanil–D-alanin aminokiselinskim ostacima (Slika 1.). Nastajanje i ugradnja pojedinih dijelova peptidoglikana odvija se kroz tri faze i veliki broj enzimskih reakcija, a  $\beta$ -laktamski antibiotici djeluju na samom kraju tog niza. U reakciji transpeptidacije koja se odvija izvan citoplazmatske membrane, pentapeptid pričvršćen za N-acetilmuraminsku kiselinu jednog polisaharidnog lanca veže se za isti takav peptid susjednog lanca, otpuštajući pri tom terminalni aminokiselinski ostatak (D-alanin). Reakciju posreduju transpeptidaze koje pripadaju proteinima koji vežu penicilin (*penicillin-binding proteins*, PBP) (Slika 1.).  $\beta$ -laktamski antibiotici su strukturni analozi D-alanil–D-alanin formacije i kovalentno se vežu za aktivno mjesto PBP-a, inhibirajući time reakciju transpeptidacije u

posljednjoj fazi nastajanja stanične stijenke (Slika 1.). Postoji nekoliko vrsta PBP-a koje se razlikuju po afinitetu vezanja  $\beta$ -laktamskih antibiotika te po svojim dodatnim ulogama: osiguravanju štapićastog oblika bakterije, sprječavanju lize i formiranju septuma.  $\beta$ -laktamski antibiotici postižu baktericidan učinak istovremenom inaktivacijom više različitih vrsta PBP-a i njima posredovanih procesa, djelujući u staničnom ciklusu selektivno na fazu aktivnog rasta i sinteze stanične stijenke te dodatno aktivacijom autolitičkih enzima. Mikroorganizmi koji nemaju staničnu stijenku, na primjer *Mycoplasma*, ili zbog metaboličke neaktivnosti ne sintetiziraju peptidoglikane, nisu ni osjetljivi na  $\beta$ -laktamske antibiotike.

### 1.2.2. Mehanizmi rezistencije bakterija na $\beta$ -laktame

U kliničkoj praksi važna su četiri mehanizma bakterijske rezistencije na  $\beta$ -laktamske antibiotike:



Slika 2. Mehanizmi rezistencije na beta-laktame

1) Najčešće se radi o inaktivaciji antibiotika putem bakterijskih enzima  $\beta$ -laktamaza koje cijepaju  $\beta$ -laktamski prsten, dovode do brze hidrolize te gubitka strukturnog integriteta molekule antibiotika, a time i njegove antibakterijske aktivnosti (Slika 2.).  $\beta$ -laktamaze se razlikuju prema svojoj specifičnosti za inaktivaciju pojedinih vrsta  $\beta$ -laktamskih antibiotika, pa se one specifičnih aktivnosti nazivaju penicilinazama, cefalosporinazama. Gram-pozitivne bakterije proizvode velike količine  $\beta$ -laktamaza koje se nalaze s vanjske strane stanične stijenke, a većina njih su penicilinaze. U Gram-negativnim bakterijama,  $\beta$ -laktamaze se u relativno malim količinama nalaze u periplazmatskom prostoru, uglavnom između citoplazmatske membrane i stanične stijenke, upravo na strateški važnom mjestu gdje

zaštićuju PBP-ove kako se na njih ne bi vezali  $\beta$ -laktamski antibiotici. Nespecifične su obzirom na vrstu  $\beta$ -laktamskih antibiotika koje razgrađuju.

2) Gram-negativne bakterije koje ne luče  $\beta$ -laktamaze mogu biti rezistentne zbog nemogućnosti ili smanjenog prolaza antibiotika kroz vanjsku nepropusnu membranu bakterijske stanice koja se nalazi s vanjske strane stanične stijenke (Slika 2), a nema je u Gram-pozitivnih bakterija. Ukoliko nije praćen drugim mehanizmom, ovaj način nije dovoljan za nastajanje rezistencije.

3) Moguće je da se nakon prolaska kroz vanjsku membranu i dolaska do periplazmatskog prostora  $\beta$ -laktamski antibiotik brzo izbacuje natrag kroz vanjsku membranu putem membranske proteinske crpke.

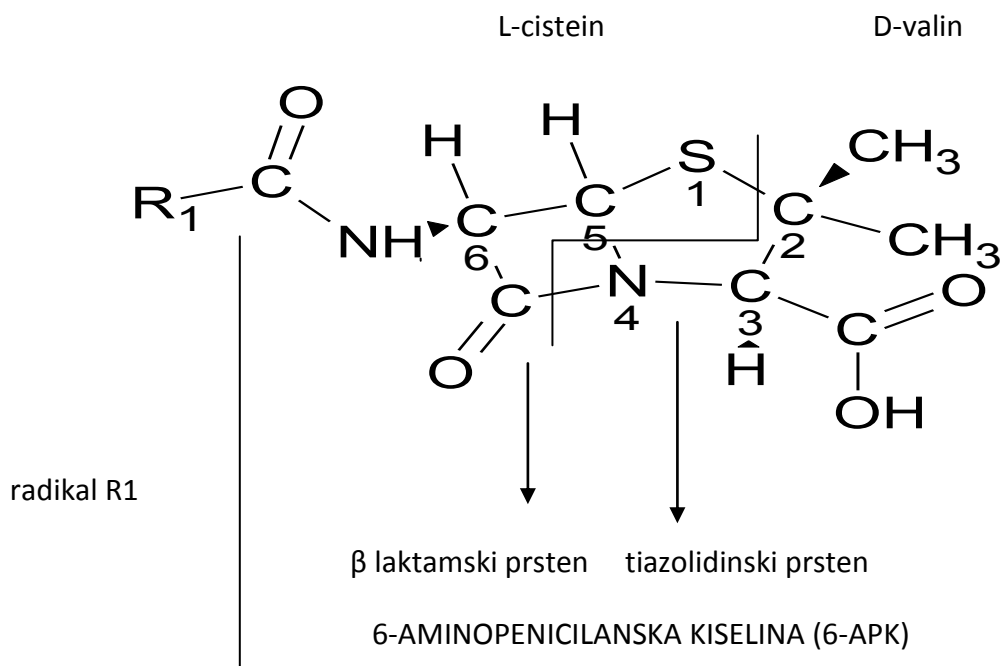
4) Rezistencija može nastati također u slučaju kad je zbog strukturnih promjena PBP-a smanjen afinitet PBP-a za vezanje  $\beta$ -laktamskih antibiotika (Slika 2.), što može biti posljedica mutacije gena za PBP ili prisutnosti PBP-a velike molekularne mase koji imaju izuzetno mali afinitet za vezanje ovih antibiotika. Zbog slabog afiniteta ovakvi PBP-i ne vežu  $\beta$ -laktamske antibiotike, osim u slučaju visokih koncentracija antibiotika koje se obično ne postižu uobičajenom kliničkom primjenom.<sup>18</sup>

### 1.2.3. Penicilini

Slučajnim opažanjem spriječenog rasta bakterija u prisutnosti plijesni iz roda *Penicillium notatum* i *Penicillium chrisogenum*, 1928. g. Alexander Fleming otkrio je penicilin, nakon čega je proteklo prilično vremena do rutinske proizvodnje penicilina u farmaceutskoj industriji.

Opsežne kemijske i fizikalne studije pokazale su nedvojbenu strukturu penicilina kao spojenog  $\beta$ -laktam-tiazolidin prstena. Molekula penicilina sastoji se od jezgre i pobočnog (R1) lanca. Jezgra je poznata kao 6-aminopenicilanska kiselina koja se sastoji od dvije aminokiseline, L-cisteina i D-valina spojenih u ciklički dipeptid ( Slika 3.). Pobočni lanac R1 doprinosi različitosti penicilina s obzirom na fizikalna, kemijska i biološka svojstva.<sup>2</sup>

Dostupnost 6-aminopenicilanske kiseline omogućilo je sintezu velikog broja novih polusintetičkih penicilina.<sup>16</sup>



Slika 3. Osnovna struktura penicilina

Penicilini su danas jedni od najvažnijih antibiotika koji se odlikuju snažnim antimikrobnim djelovanjem. Uz vrlo malu izravnu toksičnost i relativno veliku terapijsku širinu, prvi su izbor u liječenju infekcija uzrokovanih osjetljivim uzročnicima.<sup>18</sup>

### 1.2.3.1. Podjela penicilina

S obzirom na kemijsku strukturu pobočnog lanca koji se veže za 6-aminopenicilansku jezgru, penicilini se dijele u tri osnovne skupine, a neke od njih dalje u podskupine koje se međusobno razlikuju primarno po svom antimikrobnom spektru:

1. penicilini s klasičnim uskim spektrom (penicilin G, penicilin V)
2. penicilini djelotvorni protiv stafilokoka koji produciraju  $\beta$ -laktamazu (nafcilin, kloksacilin, dikloksacilin, flukloksacilin)
3. penicilini proširenog spektra djelotvorni protiv Gram-negativnih mikroorganizama:
  - a) aminopenicilini: ampicilin i amoksisicilin
  - b) karboksipenicilini: karbenicilin
  - c) ureidopenicilini: azlocilin<sup>19</sup>

### 1.2.3.2. Farmakokinetika

Apsorpcija oralno primijenjenog lijeka u velikoj se mjeri razlikuje za različite peniciline te djelomično ovisi o njihovoj stabilnosti u kiselom mediju i vezivanju za proteine. Hrana smanjuje apsorpciju većine oralnih penicilina (amoksicilin je iznimka), pa se stoga ovi lijekovi moraju primijeniti najmanje 1-2 sata prije ili nakon obroka. Intravenozna primjena preferira se nad intramuskularnom zbog iritacije i lokalne boli koja se pojavljuje nakon intramuskularne primjene velikih doza. Penicilini se široko rasprostranjuju u tkivnim tekućinama i tkivu, uz nekoliko iznimki. S obzirom na to da su polarne molekule, njihova koncentracija u stanicama mnogo je niža od one u izvanstaničnim tekućinama. Koncentracije penicilina u većini tkiva jednake su onoj u serumu. Penicilini se izlučuju u slini i mlijeku u koncentracijama koje čine 3-15% koncentracije lijeka u serumu. Slabo se rasprostiru u oko, prostatu i središnji živčani sustav. Penicilini se brzo izlučuju bubrezima, a male se količine izlučuju drugim putevima.<sup>20</sup>

### 1.2.3.3. Nuspojave

Penicilini su povezani s nekoliko nuspojava. Te se nuspojave dijele prema učincima na pojedine tjelesne sustave.

Gastrointestinalni sustav: možda najčešća nuspojava oralno primijenjenih penicilina. Proljevanje se može pojaviti u 20% i 5% pacijenata koji oralno primaju ampicilin i amoksicilin. Takva incidencija se može povećati na 40% u djece. Također se javljaju i drugi učinci kao što su mučnina, povraćanje i epigastrična bol. Pseudomembranozni kolitis povezan s upotrebom antibiotika kojeg uzrokuje *Clostridium difficile*, može se pojaviti tokom ili odmah nakon terapije penicilina zbog promjene normalne crijevne flore. Iako je *Clostridium difficile* „osjetljiva“ na ampicilin i amoksicilin, ona stvara spore pomoću kojih preživljava.

Koža: osip se može pojaviti kod primjene bilo kojeg penicilina. Veća je vjerojatnost da će pacijent dobiti osip tokom primjene ampicilina ili amoksicilina (5-10%) nego ostalih penicilina (2%). Ampicilinski osip je makulopapularan i često ograničen.

Hematološki sustav: neutropenija se može pojaviti s primjenom bilo kojeg penicilina s incidencijom 3-8%. Čimbenici rizika su visoke doze tijekom duljeg (10 dana) perioda i oštećenje jetre. Mehanizam može biti odlaganje imunokompleksa na stanične membrane neutrofila. Inhibicija agregacije trombocita može doći zbog promjene u odgovoru adenozin difosfata, osobito kod primjene tikarcilina i karbenicilina.<sup>21</sup>



#### 1.2.3.4. Preosjetljivost na peniciline

Reakcije preosjetljivosti su najveći problem primjene penicilina. Alergija na penicilin je rijetka s procjenom učestalosti anafilaksije 1-5 u 10000 slučajeva terapije penicilinom. Naime, preosjetljivost je najvažnija nuspojava koja rezultira mučninom, povraćanjem, svrbežom, urtikarijom, otežanim disanjem, edemom grkljana i konačno kardiovaskularnim kolapsom. Svi oblici prirodnih i polusintetskih penicilina mogu izazvati alergiju, ali to je više uobičajeno nakon parenteralne nego oralne primjene. Penicilin G je najčešći lijek umiješan u alergije na lijekove. Incidencija je vjerojatno najviša s prokainpenicilinom, s obzirom da je prokain sam alergen. Postoje dvije kliničke slike koje nastaju alergijskom reakcijom na peniciline, a to su akutna i subakutna reakcija posredovane IgE i IgG protutijelima. Akutna alergijska reakcija nastaje odmah ili vrlo brzo u roku od nekoliko minuta do jedan ili dva sata i uključuje iznenadnu anafilaksiju s hipotenzijom, bronhospazmom, angioedemom i urtikarijom. Akutna je rezultat stvorenog IgE na penicilin kao posljedica prethodnog izlaganja. Nastaje oslobađanjem histamina i drugih medijatora iz mastocita pri čemu nastaju znakovi i simptomi tipični za pravu anafilaktičku reakciju. Manje dramatična slika može se pojaviti 7 do 10 dana nakon početka terapije penicilinom ili 1-2 dana naokon ponovljenog liječenja. U ovom slučaju klinička slika je subakutna i može uključivati urtikariju ili artritis. Subakutna reakcija uzrokovana je formiranjem IgG protutijela na penicilin kao rezultat prethodnog liječenja penicilinom. To rezultira aktivacijom komplementa pri čemu nastaju prethodno spomenuti simptomi.<sup>22</sup>

#### 1.2.4. Cefalosporini

Godine 1945. izolirana je gljivica *Cephalosporium acwmonium* i otkriveno je da može poslužiti za sintezu nekoliko antibakterijskih spojeva. Za jedan od tih spojeva nazvan cefalosporin C, otkriveno je da inhibira rast mnogih Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija, kao dodatak tome utvrđeno je da je rezistentan na razgradnju preko stafilokokne beta-laktamaze. To svojstvo u kombinaciji sa širenjem penicilin rezistentnih stafilokoka 1950ih bilo je glavni poticaj za razvoj cefalosporinskih antibiotika.<sup>7</sup>

Sličnost cefalosporina C i penicilina je u posjedovanju  $\beta$ -laktamskog prstena, međutim kod cefalosporina,  $\beta$ -laktamski prsten je povezan s šesteročlanim dihidrotiazinskim prstenom umjesto s peteročlanim tiazolidinskim prstenom (Slika 4.).<sup>15</sup> Dostupnost 7-aminocefalosporanske kiseline je omogućilo sintezu velikog broja novih cefalosporina.<sup>16</sup>



#### 1.2.4.2. Farmakoniketika

Zbog različite apsorpcije neki cefalosporini primjenjuju se peroralno, a neki parenteralno. Raspodjela u organizmu slična je onoj kod penicilina, ali cefalosporini treće (cefotaksim, ceftazidim i ceftriakson) i četvrte generacije, kao i cefuroksim (druga generacija) penetriraju u cerebrospinalnu tekućinu u dovoljnim koncentracijama da se mogu primjenjivati u liječenju meningitisa. Cefalosporini prolaze kroz posteljicu, a u velikim koncentracijama nalaze se u sinovijalnoj i perikardijalnoj tekućini. Izlučuju se u velikom postotku nerazgrađeni preko bubrega. Za izlučivanje bitna je kao i kod penicilina, tubularna sekrecija koja se može inhibirati probenicidom. Ceftriakson se pretežito izlučuje putem žuči.<sup>9</sup>

#### 1.2.4.3. Nuspojave

Cefalosporini mogu uzrokovati nekoliko nuspojava. Nefrotoksičnost nije problem s novijim cefalosporinima, iako se mala redukcija bubrežne funkcije može vidjeti kod visokih doza ceftazidima. Neki od novih cefalosporina imaju 3-metil tiotetrazol- pobočni lanac, dio koji daje rizik smanjene sinteze protrombina uz naknadni rizik krvarenja i disulfiram nalik reakcije u bolesnika koji konzumiraju alkohol nakon primanja doze cefalosporina. Ostali cefalosporini npr. ceftriakson i cefoperazon izlučuju se ne samo putem bubrega nego i putem žuči. To može dovesti do visokih koncentracija aktivnog lijeka u bilijarnom traktu što povećava rizik nastanka proljeva koji može biti uzrokovan i selekcijom citotoksina kojeg izlučuje soj *Clostridium difficile*. Laboratorijske nuspojave su rijetke. Eozinofilija i trombocitoza se obično prijavljuju, ali najvjerojatnije nisu nuspojave nego znakovi ozdravljenja od tretiranih infekcija. Druge hematološke reakcije su bile prijavljivane u nekoliko pacijenata, ali se stanje odmah vratilo u normalne vrijednosti nakon prestanka tretmana.<sup>23</sup>

#### 1.2.4.4. Preosjetljivost na cefalosporine

Cefalosporini mogu uzrokovati niz reakcija preosjetljivosti, od blagih odgođenih kožnih reakcija do životno ugrožavajuće anafilaksije u pacijenata s IgE posredovanom alergijom na cefalosporine. Anafilaktičke reakcije na cefalosporine su rijetke (učestalost 0.0001 do 0.1 %) iako se broj takvih reakcija povećao u zadnjem desetljeću 21. st. Bilo koji cefalosporin može uzrokovati anafilaksiju.<sup>3</sup> Makulopapularni ili patološki oblik osipa su uobičajene reakcije na cefalosporine, uglavnom je ograničen i blag te se javlja odgođeno od nekoliko sati do nekoliko dana nakon početka terapije. Urtikarija i/ili angioedem su druge česte reakcije na cefalosporine, kako u djece tako i u odraslih. Međutim, kako su urtikarija i angioedem znakovi alergijskih reakcija tipa 1 (koja može napredovati u anafilaksiju), takvi

pacijenti se moraju testirati na IgE posredovanu alergiju. Oprez treba biti zajamčen i kod pacijenata s preboljelom urtikarijom i/ili edemom.<sup>5</sup>

Moguća je i križna reaktivnost s penicilinima. Naime, pacijenti mogu stvoriti IgE protutijela na antigenske determinante koje su jedinstvene svim cefalosporinima ili determinante koje ih povezuju s ostalim beta-laktamima, posebice penicilinima.<sup>4</sup>

### 1.3. Prolijekovi

Adrien Albert je prvi uveo pojam "prolijek" 1958. god. (Albert, 1958.). Nekoliko desetljeća kasnije ispričao se zbog toga što je izumio takav netočan izraz jer "pred-lijek" bi bio više opisni pojam. Međutim, do tog vremena izvorni izraz se koristio previše da bi se mogao mijenjati. Ipak, koncept proljeka se izumio mnogo prije Albertove objave. Prvi namjerno dizajniran proljek najvjerojatnije je metenamin (ili heksamin), kojeg je predstavio 1899e Schering.<sup>6</sup>

Prolijekovi su inaktivni, bioreverzibilni derivati aktivnih lijekovitih supstanci koji moraju proći enzimsku i/ili kemijsku transformaciju *in vivo* kako bi se oslobodila aktivna matična molekula koja tada može postići željeni farmakološki učinak u tijelu. U većini slučajeva prolijekovi su jednostavni kemijski derivati koji su samo jedan ili dva enzimski ili kemijski koraka od aktivne "roditeljske molekule".<sup>24</sup>

#### 1.3.1. Prolijek koncept

Opravdanost korištenja proljekova je optimizacija apsorpcije, distribucije, metabolizma, sekrecije i neželjene toksičnosti (tzv. ADME parametri) „matične molekule“. Tri su preklapajuća cilja u istraživanju proljekova:

**farmaceutski:** poboljšati topljivost, kemijsku stabilnost i organoleptička svojstva; smanjiti iritaciju i/ili bol nakon lokalne primjene, smanjenje problema vezanih uz farmaceutsku tehnologiju aktivne supstance;

**farmakokinetički:** poboljšati apsorpciju (oralna i neoralna primjena), smanjiti presistemske metabolizam, poboljšati vremenski profil, povećati organsko-tkivnu selektivnost za aktivnu supstancu;

**farmakodinamički:** smanjiti toksičnost, poboljšati terapijski indeks, stvaranje jedne kemijske molekule iz dva lijeka (strategija co-lijekova).<sup>25</sup>

### 1.3.2. Podjela prolijekova

Postoje dvije osnovne skupine prolijekova:

**1) povezani s nosačem:** aktiva molekula je privremeno vezana s nosačem (također poznat kao predjednica) preko bioreverzibilne kovalentne veze. U tijelu prolijek prolazi kroz biotransformaciju otpuštajući aktivnu molekulu i nosač. Idealno, nosač bi trebao biti neimunogen, jednostavan i jeftin za sintezu, stabilan u uvjetima primjene prolijeka, te bi se trebao metabolizirati u neaktivne oblike. Glavne funkcionalne skupine nosač vezanih prolijekova su esterska i amidna.

**2) bioprekursori:** ne sadržavaju predjednicu, nastaju kao rezultat modifikacije same aktivne supstance. Bioprekursorski prolijek se transformira metabolički ili kemijski hidratacijom, oksidacijom ili redukcijom u aktivnu komponentu.<sup>26</sup>

### 1.3.3. Esteri kao prolijekovi

Esteri su najčešće korišteni prolijekovi i procjenjuje se da se otprilike 49% registriranih prolijekova aktivira enzimatskom hidrolizom. Esterski prolijekovi se najčešće koriste za poboljšanje lipofilnosti, a time i pasivnog prolaska kroz membrane hidrofилnih molekula, maskiranjem funkcionalnih skupina kao što su karboksilne i fosfatne. Sinteza esterskih prolijekova obično nije komplicirana. Kada dospije u tijelo esterska veza se lako hidrolizira učinkom esteraza koje su prisutne u krvi, jetrima te ostalim tkivima i organima, uključujući karboksilesteraze, acetilkolinesteraze, butilkolinesteraze i arilesteraze.<sup>10</sup>

### 1.3.4. Prolijekovi $\beta$ -laktamskih antibiotika

Prolijekovi  $\beta$ -laktama priređuju se s različitom svrhom:

- a) u svrhu povećanja lipofilnosti:  $\beta$ -laktamski antibiotici nedovoljno su lipofilni da bi mogli proći lipofilne membrane u mozgu. Kod nekih bolesti krvno-moždanog sustava, gdje je njihova nazočnost neophodna treba povećati lipofilnost ovih lijekova da bi se postigla bolja učinkovitost. To je jedan od razloga priređivanja  $\beta$ -laktama kao prolijekova. Povećanjem lipofilnosti lijeka, odnosno vezanjem  $\beta$ -laktama na dihidropiridinski lipofilni prenositelj postiže se bolja penetracija i velika koncentracija u mozgu pri liječenju npr. bakterijskog meningitisa. Lipofilni prolijek, nakon enzimske oksidacije (aromatizacije piridinskog prstena i hidrolize u mozgu), hidrolizira se u penicilin i N-metilnikotinsku kiselinu koji se brzo eliminiraju iz mozga.

b) u svrhu poboljšanja farmakoloških svojstava (stabilnost, produženo djelovanje): u svrhu produženog učinka penicilina i cefalosporina najčešće se karboksilna skupina na tiazolidinskom prstenu penicilina, odnosno dihidrotiazinskom prstenu cefalosporina, zaštićuje esterskom vezom. Najčešće se priređuju esteri s pivalonskom kiselinom. Tako priređeni prolijekovi lakše se resorbiraju, a ujedno im je povećana lipofilnost.<sup>50</sup>

## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA**

$\beta$ -laktamski antibiotici su najčešće korištena skupina antibiotika. Od otkrića benzilpenicilina 1920-ih otkriveno je mnogo novih derivata penicilina i sličnih  $\beta$ -laktamskih antibiotika kao što su cefalosporini. Svaka nova generacija  $\beta$ -laktama razvijena je u svrhu povećanja spektra djelovanja.

Cilj ovog istraživanja je prikupiti saznanja te pregledom dostupne literature prikazati koliko struktura  $\beta$ -laktamskih antibiotika, prvenstveno penicilina i cefalosporina, utječe na njihovo djelovanje. Osim strukturnih promjena koje su posljedica nestabilnosti beta-laktama u kiselom i alkalnom mediju, razmotrit će se i reakcije biotransformacije kojima se mijenjaju svojstva i učinci ovih lijekova.



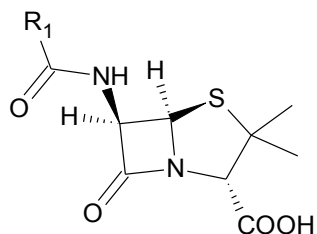
### **3. MATERIJALI I METODE**

### 3.1. Materijali:

#### 3.1.1. Strukture istraživanih penicilina

Strukture istraživanih penicilina pregledno su prikazane u tablici 1.

Tablica 1. Strukture istraživanih penicilina

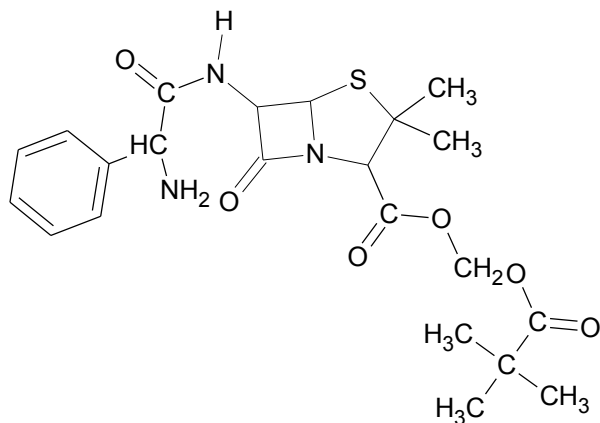
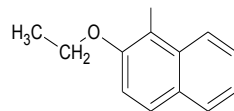


INN	R1
Penicilin G (benzilpenicilin)	
Penicilin V (fenoksimetilpenicilin)	
meticilin	
azlocilin	
ampicilin	
amoksicilin	
karbenicilin	

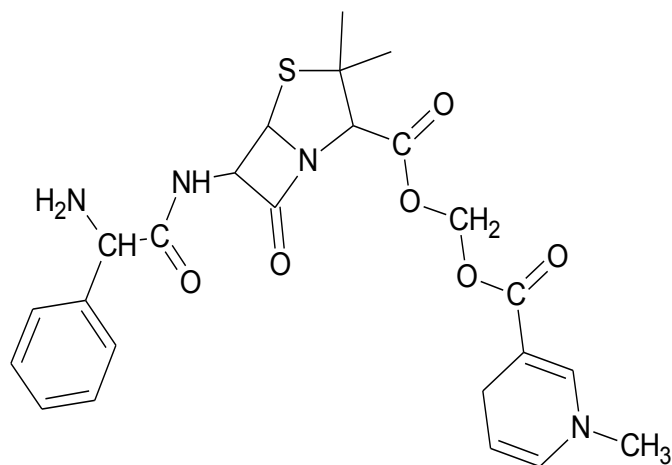
---

**nafcilin**

---



*Slika 5. Struktura pivampicilina*



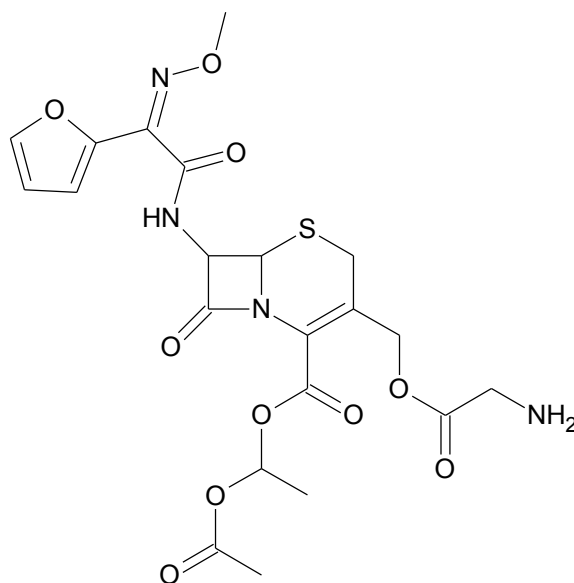
*Slika 6. Struktura ampicilina vezanog za dihidropiridinski lipofilni prenositelj*

### 3.1.2. Strukture istraživanih cefalosporina

Strukture istraživanih cefalosporina pregledno su prikazane u tablici 2.

**Tablica 2. Strukture istraživanih cefalosporina**

INN	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
cefalotin		
cefaleksin		CH <sub>3</sub> —
cefuroksim		
cefamandol		
cefaloglicin		-OCOCH <sub>3</sub>
ceftazidim		
cefepim		



Slika 7. Struktura cefuroksim aksetila

## 3.2. Metode

### 3.2.1. Reakcije hidrolize

Hidrolitičke reakcije su česte reakcije biotransformacije kod metabolizma endogenih tvari i ksenobiotika (lijekova). Hidrolizom lijekova često se djelomično ili potpuno gubi djelovanje lijeka, ali se ovom reakcijom može i osloboditi aktivan oblik iz neaktivnog oblika lijeka (prolijek). Reakcijama hidrolize mijenjaju se fizičko-kemijske osobine lijekova, kao na primjer povećava se topljivost tvari u vodenoj sredini te kiselost. Promjena ovih značajki utječe na ukupnu sudbinu lijeka u organizmu, kroz promjenu distribucije, metabolizma i eliminacije lijeka. Prema opće prihvaćenom načelu, što je neka tvar postojanija prema hidrolitičkoj razgradnji, veće joj je poluvrijeme zadržavanja u organizmu, tj.  $t_{1/2}$  prema tome i dulje djelovanje. Hidroliza se lijekova može odvijati posredovanjem enzima ili neenzimski, što uglavnom ovisi o strukturi supstrata. Enzimi koji kataliziraju hidrolitičke reakcije nazivaju se hidrolaze. Oni se dijele prema strukturnim značajkama i nazivima pretežitih supstrata, a najznačajniji su karboksil-esteraze, kolin esteraze, aril esteraze, sterol esteraze, epoksid-hidrolaze, fosfataze i peptidaze. Najčešći supstrati hidroliza, pri biotransformacijama lijekova su esteri i amidi. Hidrolizom estera i amida nastaju karboksilne kiseline i alkoholi, odnosno amini. Na brzinu hidrolize veliki utjecaj imaju sterički čimbenici u strukturi supstrata

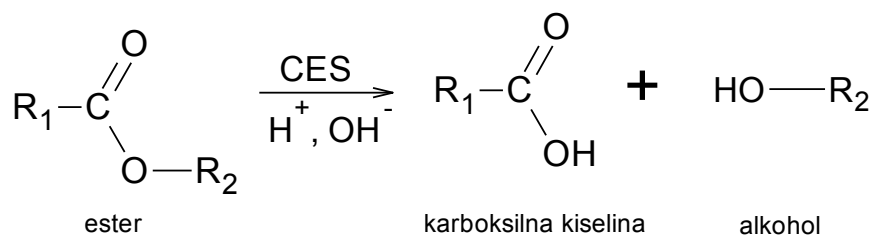
(veličina, položaj i dužina lanca supstituenta u blizini esterske odnosno amidne veze) i elektronska svojstva supstituenta u molekuli supstrata.<sup>50</sup>

### 3.2.1.1. Enzimi karboksil-esteraze

Enzimi karboksil-esteraze CES, spadaju u skupinu tzv. serinskih-hidrolaza, a locirani su u različitim tkivima i serumu sisavaca s najvećom aktivnošću u jetri. Svojom aktivnošću određuju trajanje djelovanja brojnih lijekova, kod osoba koje iskazuju polimorfizam, odnosno smanjenu aktivnost enzima, lijekovi-supstrati enzima mogu imati produženi učinak. Karboksil-esteraze su glikoproteini molekulske mase od oko 60kDa, sadrže otprilike 540 aminokiselinskih ostataka, s oko 70%-tnom sličnošću sekvencije aminokiselina u strukturi enzima među vrstama. Fleksibilnost konformacije ovih enzima objašnjava široku specifičnost u odnosu na različite strukture supstrata. Prema nomenklaturi i klasifikaciji temeljenoj na sličnosti aminokiselinske sekvencije enzima, bez obzira na njihovo porijeklo superporodicu karboksil-esteraza (CES) u sisavaca čini najmanje 5 porodica, od kojih većina pripada najbolje istraženim porodicama CES1 i CES2. Te dvije porodice se međusobno razlikuju po specifičnosti prema supstratima, lokaciji, imunološkim svojstvima i regulaciji ekspresije njihovih gena. Smatra se da enzim CES2 pretežito prepoznaje supstrate s velikom alkoholnom i manjom acilnom skupinom, dok je enzim CES1 selektivan za supstrate s malom alkoholnom i većom acilnom skupinom.<sup>50</sup>

### 3.2.1.2. Hidroliza estera

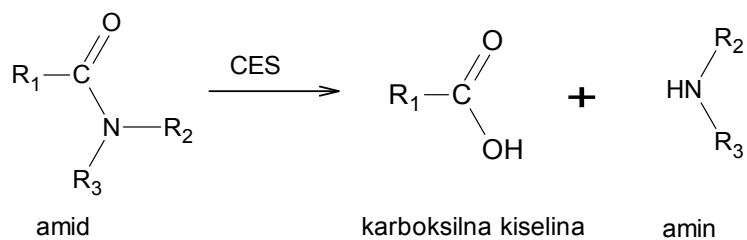
Esteri se preferirano hidroliziraju enzimskom reakcijom kada je karbonil u konjugaciji s  $\pi$ -sustavom. Međutim, hidroliza se estera može odvijati i neenzimski. Ako se u susjedstvu esterske veze nalazi skupina koja privlači elektrone, preferirana je neenzimska hidroliza. Hidrolizom estera nastaju karboksilne kiseline i alkoholi. Hidrolizu estera kataliziraju enzimi karboksil-esteraze, CES. Brojni lijekovi koji su po svojoj strukturi esteri karboksilnih kiselina se hidroliziraju enzimima karboksil-esterazama (Slika 8.).<sup>50</sup>



Slika 8. Prikaz hidrolize estera

### 3.2.1.3. Hidroliza amida

Amidi su podložni reakciji hidrolize pod katalitičkim učinkom amidaza (karboksil-esteraza). Amidna veza se hidrolizira sporije od esterske veze. Ako se u susjedstvu amidne veze nalazi skupina koja privlači elektrone, preferirana je neenzimska hidroliza. Supstrati u reakciji hidrolize amida su uglavnom primarni, sekundarni i tercijarni amidi, a podložni su joj i ureidi, hidrazini i laktami. Hidrolizom amida nastaje karboksilna kiselina i odgovarajući amin, a odvija se katalitičkim učinkom karboksil-esteraza (Slika 9).<sup>50</sup>



Slika 9. Prikaz hidrolize amida

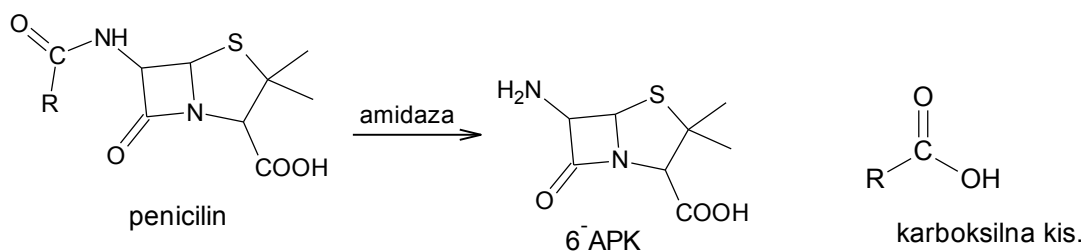
#### **4. REZULTATI**



## 4.1. Prikaz reakcija hidrolize penicilina

### Enzimska hidroliza penicilina i nastajanje 6-APK

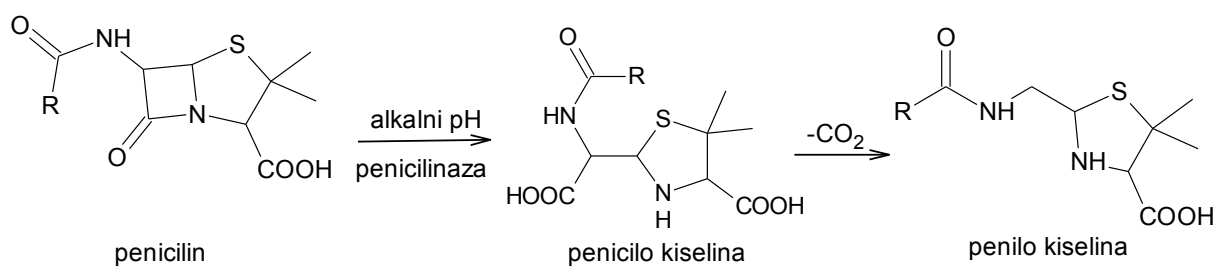
Kiseli radikal na aminoskupini (R-NH)  $\beta$ -laktamskog prstena može se odcijepiti pomoću enzima amidaze. Tako nastaje 6-aminopenicilanska kiselina koja je polazna supstancija za sintezu polusintetskih penicilina (Slika 10.).<sup>51</sup>



Slika 10. Enzimska hidroliza penicilina i nastajanje 6-APK

### Stabilnost penicilina u lužnatom mediju

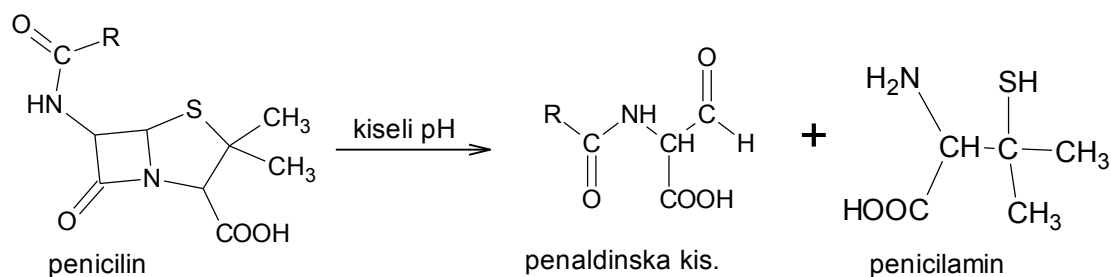
Penicilini se brzo razgrađuju u lužnatim uvjetima pri čemu se otvara amidna veza i nastaje penicilo kiselina, koja dekarboksilacijom prelazi u penilo kiselinu (Slika 11.), čime dolazi do potpune inaktivacije.<sup>28</sup> Penicilini pod utjecajem  $\beta$ -laktamaze (penicilinaze) u bakterijama prelaze u inaktivnu penicilo kiselinu (Slika 11.).<sup>50</sup>



Slika 11. Razgradnja penicilina u lužnatom mediju

### Stabilnost penicilina u kiselom mediju

Napeti  $\beta$ -laktamski prsten i amidna veza pucaju u kiselom mediju, dajući niz kompleksnih produkata. Konačni razgradni produkti su penaldinska kiselina i penicilamin (Slika 12.).<sup>28</sup>



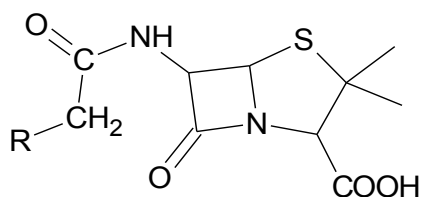
*Slika 12. Razgradnja penicilina u kiselom mediju*

Tri su značajke penicilina G odgovorne za nestabilnost u kiselom mediju:

- *prstenasta struktura*: postoji velika torzijska napetost zbog bicikličke strukture penicilina, a ta napetost se smanjuje u kiseloj sredini jer dolazi do kiselinom kataliziranog otvaranja više napetog  $\beta$ -laktamskog prstena.
- *visoko reaktivna karbonilna skupina  $\beta$ -laktamskog prstena*: karbonilna skupina  $\beta$ -laktamskog prstena podložna je nukleofilnom napadu i ne ponaša se tipično za terciarni amid jer je terciarni amid stabilan prema nukleofilnom napadu zbog susjednog dušikova atoma. Dušikov atom i karbonilna skupina terciarnog amida stvaraju dipolarnu rezonantnu strukturu s kutem od  $120^\circ$  između veza. Takva stabilizacija nije moguća u  $\beta$ -laktamskom prstenu jer bi došlo do povećanja kutne napetosti i stvaranja dvostruke veze unutar prstena. Kao rezultat slobodan elektronski par ostaje na dušikovu atomu  $\beta$ -laktamskog prstena, zbog čega je karbonilna skupina  $\beta$ -laktamskog prstena puno elektrofilnija nego što bi se očekivalo za terciarni amid.<sup>57</sup>
- *acilni pobočni lanac*: susjedna acilna skupina u strukturi penicilina G, aktivno sudjeluje u mehanizmu otvaranja  $\beta$ -laktamskog prstena.<sup>45</sup>

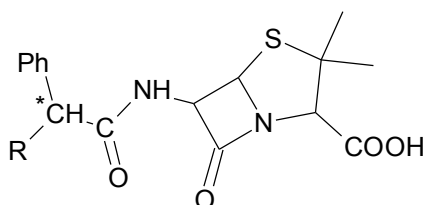
#### 4.2. Utjecaj strukture na biološku aktivnost penicilina

Monosupstituirani metilpenicilini (Slika 13.) općenito imaju dobru aktivnost protiv većine Gram- pozitivnih bakterija, kao što su streptokoki i mnogi stafilokoki. Koncentracije od 0,01  $\mu\text{g/mL}$  ili manje postaju inhibitorne kada se u pobočnom lancu nalazi fenilna skupina (penicilin G), heterociklička skupina slične veličine ili fenoksi- skupina (penicilin V). Nažalost, ovi penicilini nisu učinkoviti protiv sve učestalijih rezistentnih sojeva stafilokoka koji proizvode  $\beta$ -laktamazu, enzim koji katalizira hidrolitičko otvaranje  $\beta$ -laktamskog prstena dajući pri tome biološki neaktivnu penicilo kiselinu.



Slika 13. Monosupstituirani metilpenicilin

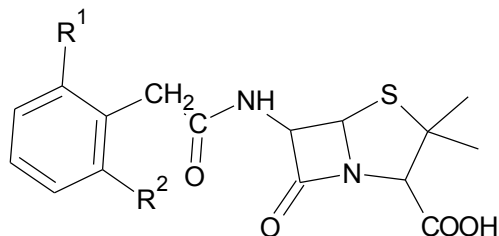
Značajnije promjene antibakterijske aktivnosti su dobivene kod penicilina koji sadržavaju drugi supstituent na  $\alpha$ -poziciji (Slika 14.). Blaga aktivnost penicilina G protiv Gram-negativnih organizama poboljšana je uvođenjem hidrofilnih neioniziranih  $\alpha$ -supstituenata, kao što su hidroksi- i ureido- skupine. Međutim, uvođenjem amino- (ampicilin) ili aminometilne skupine kao  $\alpha$ -supstituenta postiže se puno veće poboljšanje aktivnosti. Ipak, aktivnost ovih penicilina je ograničena samo na neke Gram-negativne bakterije kao što su *Salmonella*, *Shigella*, *Haemophilus* i neke vrste *Escherichia coli* te *Proteus*. Ampicilin i slični aminopenicilini su osjetljivi na stafilokokne  $\beta$ -laktamaze. Anionski  $\alpha$ -supstituenti kao što su karboksil- (karbenicilin) ili sulfatne skupine povećavaju spektar djelovanja na ampicilin rezistentne vrste *Proteusa* i *Pseudomonasa*. Aktivnost većine penicilina iz ove skupine protiv Gram-pozitivnih bakterija je dobra.



Slika 14.  $\alpha$ -supstituirani benzilpenicilin

Preostala važna skupina penicilina je ona u kojoj je karbonilna skupina amidne veze povezana direktno s karbocikličkim ili heterocikličkim prstenom. Fenilpenicilin, prvi penicilin iz ove skupine je manje aktivan od benzilpenicilina i neaktivan protiv Gram-negativnih bakterija. Međutim, uvođenje orto supstituenta na fenilnu skupinu dovodi do steričke smetnje oko amidne veze što uvelike smanjuje afinitet za aktivno mjesto  $\beta$ -laktamaze. Jedan orto supstituent, ako je odgovarajuće duljine kao npr. karboksil- ili fenil- skupina, omogućuje aktivnost protiv rezistentnih stafilokoka, ali najbolji rezultati su dobiveni s dva orto supstituenta (Slika 15.). Prvi dobiveni penicilin s dobrom aktivnošću protiv rezistentnih staflokoka *in vitro* kao i *in vivo* je 2-6-dimetoksifenilpenicilin, odnosno meticilin. Sterički

lanac može biti biciklički (kao kod nafcilina) ili heterociklički, no razina antibakterijske aktivnosti se znatno razlikuje između različitih prstenova.<sup>56</sup>

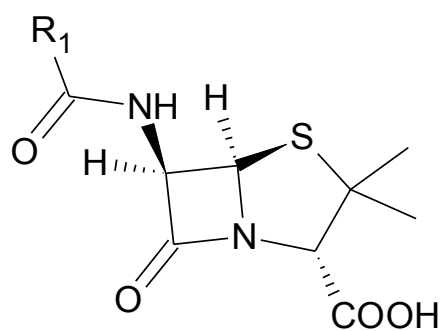


Slika 15. Supstituirani fenilpenicilin

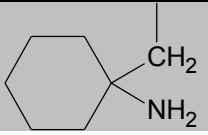
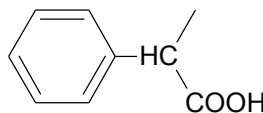
#### 4.3. Utjecaj pobočnog lanca penicilina na kinetiku $\beta$ -laktamaze

Promjene na pobočnim lancima (R1) penicilina mogu drastično promjeniti lipofilna i hidrofilna svojstva molekule i svojstva kinetike enzima  $\beta$ -laktamaze. Penicilini koji imaju najveći afinitet za  $\beta$ -laktamazu su oni koji posjeduju aromatski benzil- (pen. G), fenoksialkil- i 1-4-dihidrofetilmetil- (skupina 1) kao pobočni lanac. Uvođenjem polarne skupine (pozitivne ili negativne) u strukturu pobočnog lanca znatno se smanjuje afinitet za  $\beta$ -laktamazu. Unatoč malom afinitetu  $\alpha$ -aminopenicilina za  $\beta$ -laktamazu njihova je najveća brzina hidrolize ipak dva puta veća od brzine hidrolize penicilina G i fenoksimetilpenicilina (Tablica 3.). Kinetički parametri karbenicilina su još više neuobičajeni, naime izgleda da njegov jako mali afinitet nema utjecaj na njegovu osjetljivost prema enzimu, dok ciklacilin koji ima relativno mali afinitet pokazuje i malu osjetljivost. Adicijom metilenske skupine između acikličke skupine i peptidne veze u strukturi ciklacilina (skupina 2) povećava se osjetljivost prema enzimu. Različita kinetika karbenicilina i skupine 2 od one penicilina G i ciklacilina bez sumnje je povezana sa steričkim utjecajem njihovih pobočnih lanaca. Promjene na pobočnim lancima više utječu na  $K_m$  (Michaelisova konstanta- numerički izražava afinitet enzima prema supstratu) nego na  $V_{max}$  (maksimalna brzina enzimski katalizirane reakcije) u kinetici  $\beta$ -laktamaze. Pravi primjeri te razlike su penicilin G, fenoksimetilpenicilin i karbenicilin, njihove  $V_{max}$  su u suštini identične dok se njihove  $K_m$  razlikuju za faktor 50-80 (Tablica 3.). Ampicilin i skupine 2,3 koji spadaju u skupinu  $\alpha$ -aminopenicilina imaju slična biološka svojstva i jednaku osjetljivost prema  $\beta$ -laktamazi. Inaktivirani su 2-3 puta brže (veća  $V_{max}$ ) od penicilina G unatoč njihovom manjem afinitetu (veća  $K_m$ ) za aktivno mjesto enzima (Tablica 3.).<sup>46</sup>

Tablica 3. Hidroliza penicilina katalizirana *S. aureus*  $\beta$ -laktamazom pri 25°C i pH 7



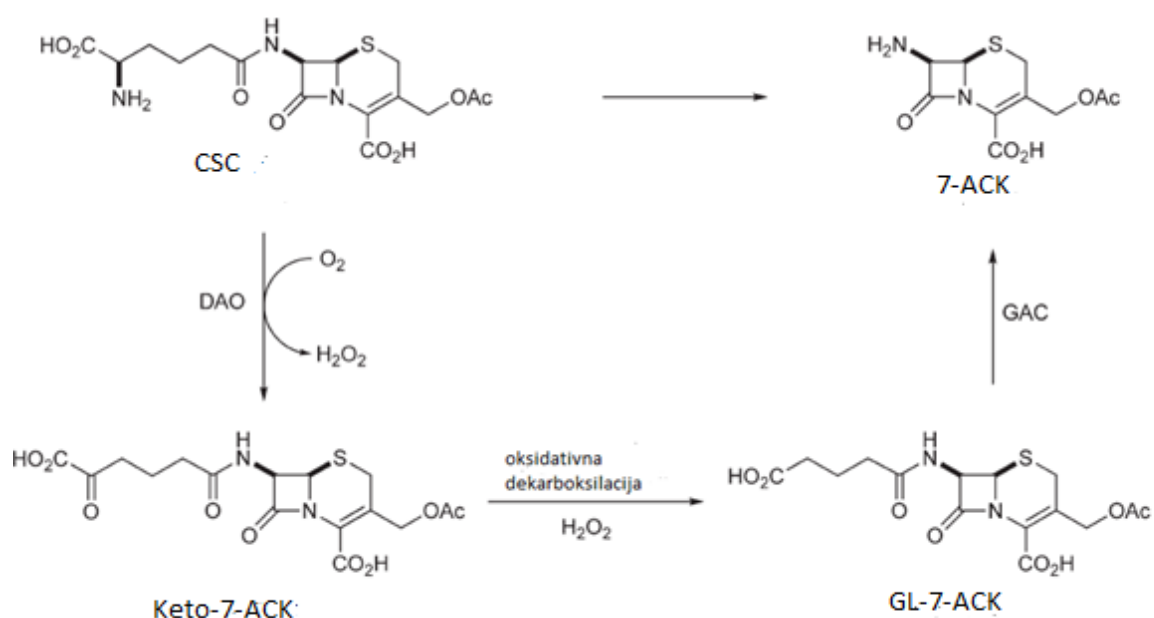
Penicilin	R1	$K_m$ ( $\mu\text{M}$ )	$V_{\text{max}}$ ( $\mu\text{M}/\text{min}$ )	Odnos prema $V_{\text{max}}$ penG
Penicilin G		50	130	1.00
Fenoksimetilpenicilin		150	165	1.27
Feneticilin		100	113	0.87
Skupina 1		150	85	0.65
Ampicilin		550	303	2.33
Skupina 4		500	292	2.24
Skupina 3		650	320	2.46
Ciklacilin		750	78	0.60

Skupina 2		900	320	2.46
Karbenicilin		4200	160	1.23

#### 4.4. Prikaz reakcija hidrolize cefalosporina

##### Enzimsko dobivanje 7-ACK iz Cefalosporina C

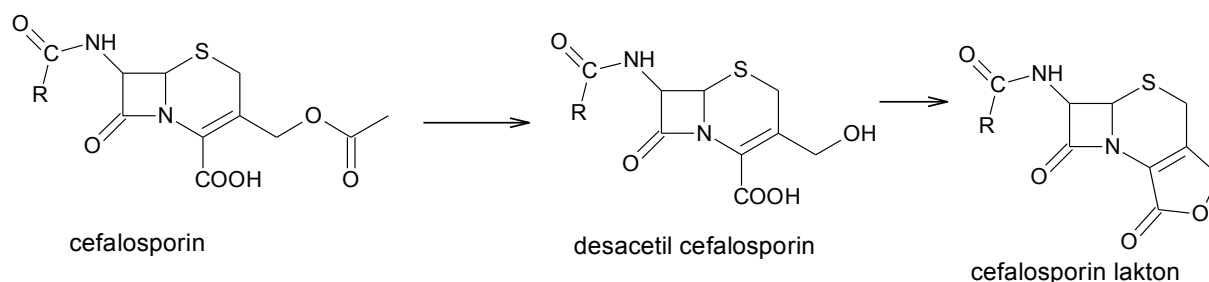
Danas postoje učinkoviti enzimski procesi dobivanja 7-aminocefalosporanske kiseline iz cefalosporina C ( CSC ) što je drastično smanjilo cijenu dobivanja cefalosporina. Početni korak procesa je reakcija  $\alpha$ -aminoadipinske skupine s enzimom DAO (diaminooksidaza) i dobivanje glutaril-7-ACK ( GL-7-ACK ) (Slika 16.). Početni korak ide preko keto-7-ACK intermedijera koji prolazi kroz oksidativnu dekarboksilaciju u prisustvu vodikova peroksida. Enzim glutaril acilaza se koristi za cijepanje glutaril lanca pri čemu nastaje 7-ACK (Slika 16.).<sup>58</sup>



Slika 16. Enzimsko dobivanje 7-ACK iz cefalosporina C

## Hidroliza cefalosporina

Metaboliti nastali biotransformacijom cefalosporina značajni su samo za neke cefalosporine. Specifične esteraze cijepaju acetatni ester na položaju 3 dihidrotiazinskog prstena cefalosporina, pri čemu dolazi do ciklizacije i stvara se inaktivni lakton (Slika 17.).<sup>69</sup> Deacetilirani cefalosporini imaju smanjenu antimikrobnu aktivnost. Tako je na primjer, deacetilirani cefotaksim koji je samo 4 do 8 puta slabije aktivan protiv *Enterobacteriaceae* nego cefotaksim još uvijek aktivniji od prve generacije cefalosporina.<sup>44</sup>



Slika 17. Hidroliza cefalosporina

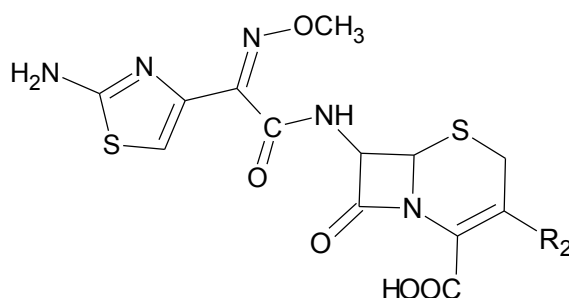
### 4.5. Utjecaj strukture na biološku aktivnost cefalosporina prve i treće generacije

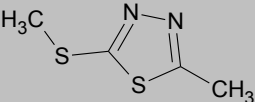
Cefalosporin C je manje aktivan od penicilina G protiv Gram-negativnih i Gram-pozitivnih bakterija. Uvođenje fenilacetil-, 2-furilacetil-, 3-tienilacetil-, aril- ili alkilmerkptoacetilnih skupina kao pobočnih lanaca rezultiralo je velikim porastom biološke aktivnosti cefalosporinskih antibiotika. Općenito derivati 7-ACK su nešto manje aktivni od sličnih derivata 6-APK protiv stafilokoka, ali su nekoliko puta aktivniji protiv Gram-negativnih bakterija.<sup>39</sup> Cefalotin, sličan furan-2-acetamido-derivatima u antibakterijskoj aktivnosti, klinički je aktivan protiv različitih mikroorganizama. Cefaloridin je jednako učinkovit protiv osjetljivih i rezistentnih stafilokoka, njegova inhibitorna sposobnost je 8-26 puta veća od inhibitorne sposobnosti metecilina. Iako su sintetizirani mnogi drugi deacetoksi derivati cefalosporina, nijedan se nije pokazao aktivnijim od cefaloridina, naročito protiv Gram-negativnih bakterija. Bilo kakva supstitucija na piridinskom prstenu cefaloridina rezultira smanjenjem aktivnosti.  $\alpha$ -aminocefalosporini (cefaloglicin) su širokog spektra djelovanja, stabilni su u kiselinama i dobro se apsorbiraju iz gastrointestinalnog sustava. Između cefalotina, cefaloridina i cefaloglicina, cefaloridin je najaktivniji protiv osjetljivih Gram-pozitivnih organizama, njegova aktivnost slična je onoj penicilina, ali cefaloglicin je najučinkovitiji protiv Gram-negativnih bakterija. Cefaleksin se razlikuje od cefaloglicina samo po nedostatku esterske acetoksi-skupine na dihidrotiazinskom prstenu, iako je cefaleksin manje aktivan protiv nekoliko mikroorganizama i relativno sporije djeluje u odnosu

na cefaloridin. Međutim, aktivniji je od cefaloridina protiv *N. gonorrhoeae* i aktivniji je od ampicilina kod penicilin rezistentnih stafilokoka. Aktivnost cefaleksina nije značajno pod utjecajem pH medija, za razliku od cefaloglicina koji postaje inaktivan pri većim vrijednostima pH. Cefazolin je cefalosporin koji je *in vitro* djelotvoran protiv većine Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija, a također je rezistentan na stafilokokne  $\beta$ -laktamaze. Njegova ukupna aktivnost je slična onoj cefaloridina, ali nakon intramuskularne primjene postiže dvostruko veće koncentracije u krvi od cefalordina kod iste doze i primjene.<sup>39</sup>

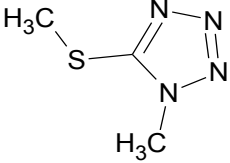
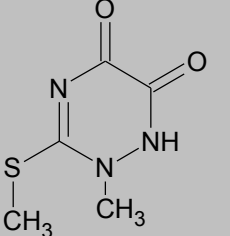
Značajno smanjenje minimalne inhibitorne koncentracije (MIC-najmanja koncentracija antibiotika koja sprječava rast i razmnožavanje bakterija) 2-aminotiazolnih analoga protiv Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija dobiveno je zamjenom  $\alpha$ -metilne skupine s metoksimino- skupinom na pobočnom lancu kao u slučaju cefmenoksima (Tablica 4.). Prisutnost metoksimino- skupine povećala je stabilnost prema  $\beta$ -laktamazama. Kada je 3-supstituent ( $R_2$ ) acetoksimetil- ili heterociklički tiometil- primjećene su manje aktivnosti *in vitro*. Cefvizoksime, koji posjeduje samo vodikov atom na 3-poziciji pokazuje dobru minimalnu inhibitornu koncentraciju (Tablica 4.). Kada je  $R_2$  metilna skupina kao u cefaleksina ili klorov atom kao u cefakloru, dolazi do smanjene aktivnosti protiv *S. aureus* i *Ps. Aeruginosa* (Tablica 4.).<sup>40</sup>

**Tablica 4. Učinak na antibakterijsku aktivnost varijacijom 3-supstituenta ( $R_2$ )**



$R_2$	MIC (mg/L)			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Pr. vulgaris</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>
-H (cefvizoksime)	6.3	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	25
-CH <sub>2</sub> OCOCH <sub>3</sub> (cefotaksim)	3.1	0.05	$\leq 0.025$	12.5
	1.6	0.2	$\leq 0.025$	50



 <b>(cefmenoksim)</b>	3.1	0.025	0.025	50
 <b>(ceftriakson)</b>	1.6	0.05	≤0.025	6.3
<b>-CH<sub>3</sub></b>	50	0.4	0.2	800
<b>-Cl</b>	12.5	0.4	≤0.025	100

#### 4.6. Značaj strukture u križnoj reaktivnosti između penicilina i cefalosporina

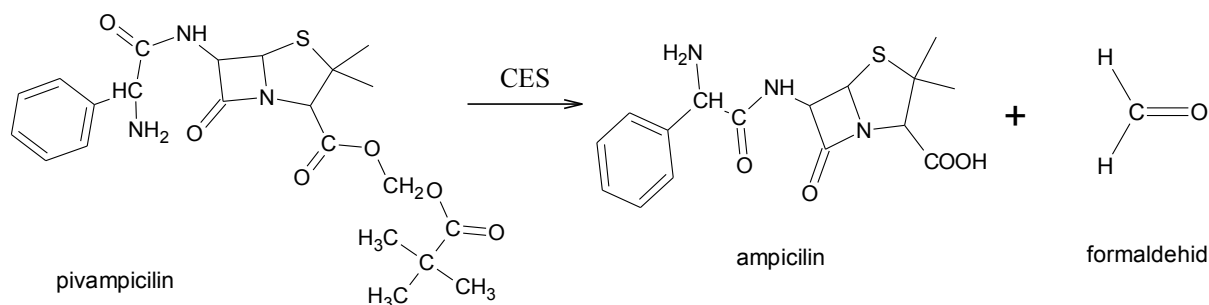
Struktura cefalosporina slična je strukturi penicilina, ali postoje dvije bitne razlike. Prva razlika je vezana za strukturu jezgre antibiotika, naime  $\beta$ -laktamski prsten penicilina je spojen s peteročlanim tiazolidinskim prstenom, dok je kod cefalosporina taj isti  $\beta$ -laktamski prsten spojen s šesteročlanim dihidrotiazinskim prstenom. Drugu razliku čine pobočni lanci, naime za jezgru cefalosporina su vezana dva pobočna lanca dok je kod penicilina samo jedan. Uočeno je da će navedene razlike omogućiti primjenu cefalosporina u penicilin alergičnih pacijenata, odnosno da protutijela na penicilinske značajke neće imati afinitet prema cefalosporinima. No, križne alergijske reakcije između penicilina i cefalosporina se ipak događaju<sup>34</sup>. IgE protutijela koja vezivanjem za alergen potiču imunološku reakciju usmjerena su na  $\beta$ -laktamsku strukturu. U početku se smatralo da bi ta sličnost između penicilina i cefalosporina mogla biti značajna, no čini se da križna reaktivnost najviše ovisi o sličnosti u pobočnim lancima same strukture. Najveći postotak križne reaktivnosti je pronađen između penicilina i prve te druge generacije cefalosporina s pobočnim lancem sličnim onom od benzilpenicilina (cefalotin i cefalordin). Mali postotak je pronađen između penicilina i cefalosporina s različitim pobočnim lancima (cefuroksim, cefotaksim). Može se pretpostaviti da je *in vivo* križna reaktivnost penicilina i cefalosporina s različitim pobočnim lancima manja od 10%. Ta reaktivnost može porasti do više od 30% ako su lanci identični. Križna reaktivnost s drugom i trećom generacijom cefalosporina može biti čak i manja.<sup>33</sup>

## 4.7. Prolijekovi

Kod oralne primjene koja se preferira kod većine lijekova, apsorpcijski putevi su otežani, nespecifični pasivni mehanizmi. Lipofilnost lijekova je važan parametar koji govori o njihovom prolasku kroz staničnu membranu. Lipofilnost se može povećati zamjenom ugljikohidratnih lanaca s lipofilnijim supstancijama. U tu svrhu se često pripremaju prolijekovi. Poboljšanje lipofilnosti je najuspješnije područje u istraživanju prolijekova, a postiže se maskiranjem polarnih ioniziranih i neioniziranih funkcionalnih skupina. Hidrofilne hidroksil-, tiol-, karboksil-, fosfatne- i amino- skupine matične molekule se modificiraju u lipofilnije alkil- ili aril- estere, a nastali prolijekovi se lako prevode u aktivne spojeve posredovanjem esteraza prisutnih u cijelom tijelu. Prednost ovog principa je da se duljina alkilnog lanca može modificirati do željene lipofilnosti.<sup>49</sup> Takav princip je korišten i kod prolijekova  $\beta$ -laktamskih antibiotika, jednostavni alkilni i arilni esteri karboksilne skupine tiazolidinskog prstena su sintetizirani kako bi se povećala oralna apsorpcija, no ispalo je da su ti esteri stabilni u tijelu, a budući da je tiazolidin karboksilna skupina bitna za antibakterijsku aktivnost, hidroliza se mora dogoditi. Taj problem je riješen sintezom dvostrukih estera ( $R-CO-O-CH_2-O-CO-CH_3$ , R  $\beta$ -laktamska jedinica) gdje je druga hidroksilna skupina prvog estera esterificirana karboksilnom kiselinom. Takav ester brzo prelazi enzimskom hidrolizom u matičnu molekulu.<sup>54</sup>

### 4.7.1. Hidroliza pivampicilina

Pivampicilin (pivaloiloksimetil-aminobenzilpenicilin) je ester ampicilina. Pretvorba pivampicilina u ampicilin tijekom i/ ili nakon apsorpcije iz intestinalnog trakta provodi se enzimskom hidrolizom pivaloil estera pri čemu nastaju ampicilin i formaldehid.(Slika 18.).<sup>27</sup>

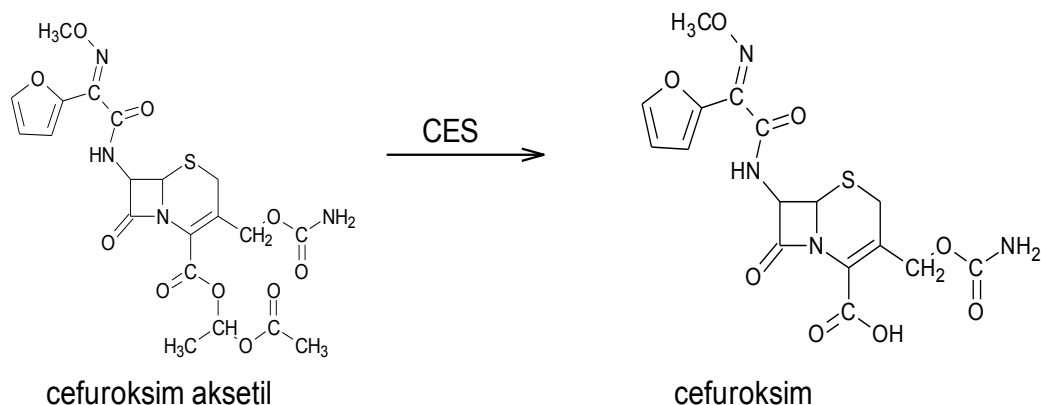


Slika 18. Hidroliza pivampicilina

### 4.7.2. Hidroliza cefuroksim-aksetila

Cefuroksim aksetil (1-acetoksietil ester) je prolijek cefuroksima koji omogućuje oralnu primjenu tog parenteralnog,  $\beta$ -laktamaza stabilnog, cefalosporina. Esterska skupina se

brzo cijepa nespecifičnim esterazama do cefuroksima (Slika 19.), a ta se hidroliza vjerojatno odvija u intestinalnoj sluznici ili krvi jer se ester ne može dokazati u krvi.<sup>53</sup>

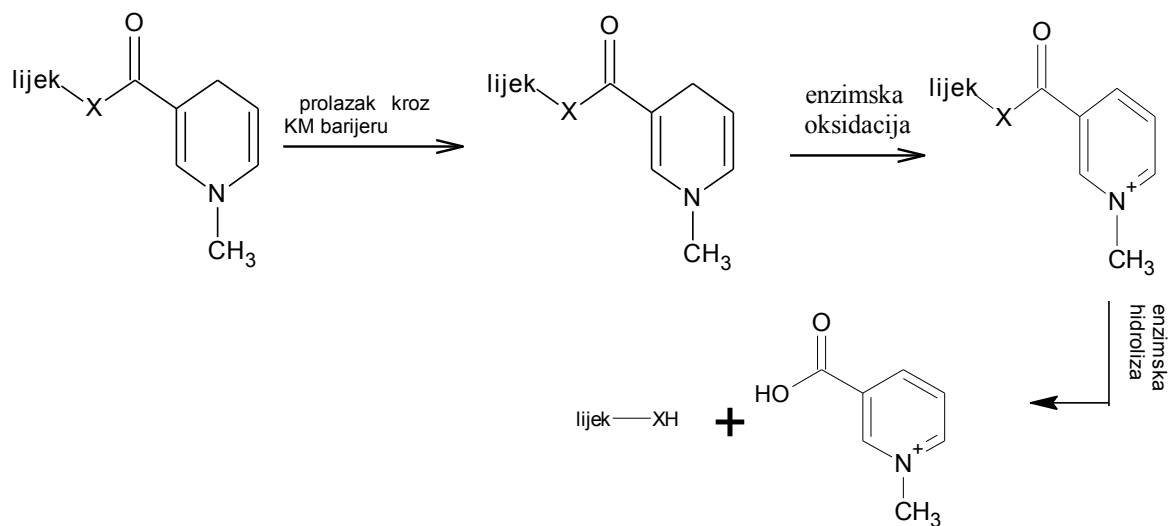


Slika 19. Hidroliza cefuroksim aksetila

#### 4.7.3. Povećanje lipofilnosti

Postoji nekoliko primjera prolijejkova koji su dizajnirani kako bi se nakupljali u specifičnim tkivima.<sup>49</sup> Naime, u krvno-moždanoj barijeri je bitna membrana koja štiti mozak od štetnih hidrofilnih polarnih molekula pa je razvijen sistem dostave lijeka u centralni živčani sustav i spriječavanja njegova pasivnog izlaska. Sistem se bazira na povezivanju hidrofilnog lijeka s lipofilnim nosačem. Lipofilni dihidropiridinski prenositelj čini molekulu dovoljno lipofilnom da može pasivno proći kroz krvno-moždanu barijeru. Što je više dušikov atom konjugiran s metilnom skupinom, to dodatno pridonosi lipofilnosti.<sup>55</sup>

Povećanjem lipofilnosti lijeka, odnosno vezanjem  $\beta$ -laktama na dihidropiridinski lipofilni prenositelj, postiže se bolja penetracija i velika koncentracija u mozgu pri liječenju npr. bakterijskog meningitisa. Lipofilni prolijek se, nakon enzimske oksidacije (aromatizacije piridinskog prstena i hidrolize u mozgu) hidrolizira u penicilin i N-metilnikotinsku kiselinu (Slika 20.) koji se brzo eliminiraju iz mozga.<sup>50</sup>



Slika 20. Biotransformacija lijeka vezanog za dihidropiridinski lipofilni prenositelj



## 5.1. $\beta$ -laktamski antibiotici

$\beta$ -laktamski lijekovi čiji je mehanizam djelovanja inhibicija sinteze bakterijske stijenke, najveća su skupina antimikrobnih lijekova i najčešće se koriste u kliničkoj praksi. Ovi lijekovi imaju sporu i o vremenu ovisnu baktericidnu aktivnost, kao i dobru raspodjelu u tijelu i nisku toksičnost. Modifikacije originalne molekule dovele su do novih spojeva s poboljšanom antibakterijskom aktivnosti, međutim upotreba i uspješnost  $\beta$ -laktama je ipak ograničena u nekim kliničkim uvjetima zbog sve veće pojave rezistencije. Unatoč tom problemu penicilini su i dalje lijekovi izbora u liječenju velikog broja infekcija, a cefalosporini imaju široki spektar indikacija.<sup>36</sup>

### 5.1.1. Penicilini

Penicilini su danas jedni od najvažnijih antibiotika koji se odlikuju snažnim antimikrobnim djelovanjem uz vrlo malu izravnu toksičnost i relativno veliku terapijsku širinu, zbog čega su lijekovi prvog izbora u infekcijama uzrokovanim osjetljivim uzročnicima.<sup>18</sup>

#### 5.1.1.1. Penicilini stabilni u kiselinama

Smanjena osjetljivost penicilina u kiselom mediju veliki je izazov, s obzirom da su dvije od tri značajke penicilina koje su uzrok toj nestabilnosti esencijalne za aktivnost. Kao rješenje ostaje modifikacija treće značajke odnosno smanjenje sudjelovanja susjednih skupina u mehanizmu otvaranja  $\beta$ -laktamskog prstena. To se postiže uvođenjem skupina u pobočni lanac koje imaju svojstvo privlačenja elektrona s karbonilnog kisika pri čemu se smanjuje njegova nukleofilnost. Fenoksimetilpenicilin (penicilin V) posjeduje kisik koji ima svojstva privlačenja elektrona na acilnom pobočnom lancu. Njegova molekula se pokazala stabilnijom u kiselinama od penicilina G što je omogućilo i oralnu primjenu tog penicilina. Također, penicilini koji posjeduju supstituent koji privlači elektrone na  $\alpha$ -ugljikovom atomu pobočnog lanca su pokazali stabilnost prema hidrolizi u kiselinama i mogu se primjenjivati oralno, kao na primjer ampicilin. Može se zaključiti da je rješenje za nestabilnost penicilina u kiselinama uvođenje elektron privlačne skupine na acilni pobočni lanac u sutukturi penicilina.<sup>57</sup>

#### 5.1.1.2. Penicilini otporni na $\beta$ -laktamazu

Otpornost penicilina prema  $\beta$ -laktamazama najviše ovisi o strukturi pobočnog lanca.<sup>45</sup> Strategija „steričke smetnje“ se koristila uspješno za spriječavanje vezanja penicilina za aktivno mjesto enzima, a bazirala se na postavljanju velike skupine u pobočni lanac

strukture penicilina. Skupina je morala biti tolike veličine da ne ometa vezanje penicilina na ciljani enzim (transpeptidazu) i da onemogući vezanje  $\beta$ -laktamaze. Meticilin je prvi dobiveni polusintetički penicilin otporan na *S. aureus*  $\beta$ -laktamazu. Njegov „sterički štiti“ čine dvije metoksi- skupine u orto položaju na aromatskom prstenu pobočnog lanca. Ali, meticilin nije idealan lijek, ne posjeduje elektron privlačnu skupinu u pobočnom lancu zbog čega je osjetljiv na kiselinu i mora se parenteralno primjenjivati. U novije vrijeme postoje mnogo bolji antibiotici pa meticilin nije više u kliničkoj upotrebi. Nafcilin je također otporan na  $\beta$ -laktamaze, sadrži naftalenski prsten kao „sterički štiti“. Nažalost, 96% bolničkih sojeva *S. aureus* je rezistentno na ove peniciline zbog sposobnosti mutacije enzima transpeptidaze. Te su bakterije poznate kao MRSA, to jest, meticilin rezistentni *S. aureus*.<sup>57</sup>

### 5.1.1.3. Penicilini širokog spektra djelovanja

Spektar djelovanja penicilina ovisi o njihovoj strukturi, sposobnosti prolaska kroz staničnu membranu Gram-negativnih bakterija, osjetljivosti prema  $\beta$ -laktamazama i afinitetu za transpeptidaze. Svaki od tih čimbenika je od različite važnosti za različite bakterijske vrste što pokazuje da ne postoji jedinstvena metoda za poboljšanje spektra djelovanja. Ipak su varijacijama pobočnih lanaca dobiveni određeni rezultati. Prisutnost hidrofobne skupine preferira aktivnost protiv Gram-pozitivnih bakterija, dok je aktivnost protiv Gram-negativnih minimalna. Ako se povećava hidrofobni karakter molekule lijeka, smanjuje se i aktivnost protiv Gram-pozitivnih bakterija. Hidrofilne skupine nemaju značaj za Gram-pozitivnu aktivnost ili je smanjuju, no znatno povećavaju Gram-negativnu aktivnost. Prisustvo hidrofilne skupine vezane za ugljik na  $\alpha$ -poziciji prema karbonilnoj skupini pobočnog lanca povećava Gram-negativnu aktivnost.<sup>57</sup>

Penicilini koji posjeduju Gram-pozitivnu i Gram-negativnu aktivnost su poznati kao penicilini širokog spektra djelovanja i dijele se u tri skupine od kojih svaka posjeduje  $\alpha$ -hidrofilnu skupinu u pobočnom lancu:

Aminopenicilini: amoksicilin i ampicilin imaju sličnu strukturu i spektar djelovanja, aktivniji su od penicilina G protiv Gram-negativnih koka i enterobakterija.<sup>20</sup> Zbog prisustva elektron privlačne amino skupine, stabilni su u kiselinu i mogu se primjenjivati oralno, no slabo se apsorbiraju zbog prisustva hidrofilne amino i karboksilne skupine, s tim da se amoksicilin bolje apsorbira.<sup>57</sup> Imaju jednaki antibakterijski spektar i aktivnost te se koriste kao prva linija u liječenju infekcija.<sup>20</sup>

Karboksipenicilini: karbenicilin je prvi primjer ove skupine, posjeduje široku atibakterijsku aktivnost zbog hidrofilne karboksilne skupine u pobočnom lancu, nestabilan je u kiselinama i mora se primjeniti parenteralno.<sup>57</sup> Prvi je penicilin aktivan protiv *P. aeruginosa*, ako se usporedi s ampicilinom aktivniji je protiv Gram-negativnih bakterija, ali zahtjeva veće doze. U primjeni je najviše njegov prolijevak indanil karbenicilin koji se primjenjuje oralno za urinarne infekcije.<sup>20</sup>

Ureidopenicilini: najnovija skupina penicilina širokog spektra djelovanja koja posjeduje urea funkcionalnu skupinu na  $\alpha$ -poziciji. Moraju se primjenjivati parenteralno, ali zbog dobre antibakterijske aktivnosti zamijenili su karboksipeniciline u kliničkoj praksi. Ureidopenicilin azlocilin je 2-4 puta aktivniji protiv *P. aeruginosa* od karbenicilina i primarno se koristi za tretiranje infekcija tog uzročnika.<sup>57</sup>

### **5.1.2. Cefalosporini**

Cefalosporinski antibiotici se sve više upotrebljavaju od njihova upoznavanja s kliničkom praksom. Dostupnost novijih cefalosporina, bilo oralnih ili parenteralnih oblika s poboljšanom antibakterijskom aktivnošću je povećalo broj kliničkih indikacija za primjenu tih antibiotika.<sup>8</sup>

#### **5.1.2.1. Cefalosporini prve generacije**

Iako cefalosporini prve generacije imaju široki spektar djelovanja i relativno su netoksični, malokad su lijekovi prvog izbora pri bilo kojoj infekciji, općenito su manje aktivni od usporedivih penicilina. Većina se slabo apsorbira iz stijenke crijeva zbog čega se moraju primjenjivati parenteralno. Kao i kod penicilina, problem za ove cefalosporine predstavlja pojava rezistentih bakterija, posebice onih Gram-negativnih.<sup>20</sup>

Cefalotin je jedan od najčešće korištenih cefalosporina prve generacije, s esterskom skupinom na položaju C-3 dihidrotiazinskog prstena, podložnom hidrolizi posredstvom enzima esteraza pri čemu nastaje manje aktivan alkohol. Cefalotin ima bolju Gram negativnu aktivnost i manju incidenciju izazivanja alergijskih reakcija od penicilina G.<sup>57</sup>

Cefaleksin posjeduje metilnu skupinu na poziciji C-3, što je dobro za oralnu apsorpciju, ali ne pogoduje aktivnosti. Prisustvo hidrofilne amino skupine na  $\alpha$ -ugljikovu atomu pobočnog lanca pogoduje aktivnosti čime se smanjuje negativan učinak metilne skupine<sup>57</sup>. Cefaleksin je jedan od nekoliko cefalosporina koji se mogu primjenjivati oralno, koristi se kod urinarnih infekcija u slučaju nedjelotvornosti drugih antibiotika ili u trudnoći.<sup>20</sup>



### 5.1.2.2. Cefalosporini druge generacije

Radi se o heterogenoj skupini lijekova sa značajnim individualnim razlikama u djelotvornosti, farmakokinetici i toksičnosti. Načelno, ti su lijekovi djelotvorni protiv organizama na koje djeluju cefalosporini prve generacije, ali su dodatno još djelotvorniji protiv Gram-negativnih organizama.<sup>20</sup>

Oksimino cefalosporini predstavljaju veliki napredak u razvoju cefalosporina, njihova struktura sadrži iminometoksi- skupinu na  $\alpha$ -poziciji pobočnog lanca što je uveliko povećalo stabilnost cefalosporina prema rezistentnim organizmima koji proizvode  $\beta$ -laktamaze. Prvi korisni cefalosporin iz ove skupine je cefuroksim koji ima široki spektar djelovanja koji uključuje Gram-pozitivne, neke Gram-negativne i neke anaerobne bakterije. Ima povećanu stabilnost prema  $\beta$ -laktamazama i jako dobru djelotvornost protiv uzročnika respiratornih infekcija. U primjeni je njegov prolijek cefuroksim aksetil koji se može primjeniti oralno.<sup>57</sup>

### 5.1.2.3. Cefalosporini treće generacije

Zamjenom furanskog prstena prethodno spomenutih oksimino cefalosporina s aminotiazolnim prstenom, povećava se prolazak cefalosporina kroz vanjsku membranu Gram-negativnih bakterija i afinitet za transpeptidaze. Time treća generacija cefalosporina ima povećanu djelotvornost protiv Gram-negativnih bakterija, posebice onih rezistentih na druge antibiotike. Ne propisuju se rutinski već se čuvaju kao rezervni antibiotici za teže infekcije.<sup>57</sup>

Ceftazidim je cefalosporin treće generacije koji je djelotvoran protiv *P. aeruginosa* kao i protiv mnogih drugih Gram-negativnih bakterija<sup>20</sup>. U usporedbi s ostalim aminotiazolnim strukturama, ceftazidim je djelotvorniji protiv streptokoka, ali gubi aktivnost protiv MRSA zbog smanjenog afiniteta za transpeptidaze *S. aureus*-a<sup>57</sup>. Primjenjuje se parenteralno odnosno mora se injektirati, a zbog mogućnosti prolaska kroz krvno-moždanu barijeru odobren je za liječenje meningitisa.<sup>20</sup>

### 5.1.2.4. Cefalosporini četvrte generacije

Cefepim je oksimino cefalosporin smješten u četvrtu generaciju, njegova molekula je amfoterna s pozitivno nabijenom skupinom na položaju C-3 i negativno nabijenom karboksilnom skupinom na položaju C-4 dihidrotiazinskog prstena. Takvo svojstvo omogućuje dobar prolazak kroz vanjske membrane Gram-negativnih bakterija i mali afinitet za različite  $\beta$ -laktamaze. Primjenjuje se parenteralno i koristi kod infekcija uzrokovanih Gram- pozitivnim i Gram-negativnim bakterijama.<sup>57</sup>

### 5.1.3. Križne alergijske reakcije cefalosporina i penicilina

Penicilini i cefalosporini pokazuju djelomičnu i nepotpunu križnu reaktivnost do 7%, što bi moglo biti povezano s generacijama cefalosporina.<sup>48</sup> Najveći postotak križne reaktivnosti je pronađen između penicilina i prve te druge generacije cefalosporina.<sup>33</sup> U kliničkoj praksi nije rijetkost da se cefalosporini propisuju pacijentima s alergijom na peniciline posebice kod onih s blažim oblicima alergije, no teško je dati odgovor na to da li je sigurna primjena cefalosporina u penicilin alergičnih pacijenata. Veća je vjerojatnost da će pacijenti s uočenom alergijom na peniciline imati reakciju na cefalosporine nego li oni bez uočene alergije. Smatra se da su protutijela specifična za pobočne lance cefalosporina odgovorna za alergijske reakcije prije nego li protutijela na jezgru  $\beta$ -laktamskog prstena što objašnjava križne alergijske reakcije penicilina i cefalosporina sa sličnim pobočnim lancima, kao npr. amoksicilin i cefaleksin te benzilpenicilin i cefalotin. Dok je rizik ozbiljnih reakcija na cefalosporine kod penicilin alergičnih pacijenata malen ipak se događaju ozbiljne reakcije uključujući i fatalne. Prije propisivanja cefalosporina razumno bi bilo proučiti prirodu alergije na peniciline te prirodu uključenog lijeka. Savjetuje se izbjegavanje propisivanja lijekova s istim ili sličnim pobočnim lancem posebice ako postoji alternativni lijek koji ne spada u skupinu  $\beta$ -laktama.<sup>48</sup>

### 5.1.4. Pivampicilin

Pivampicilin (pivaloiloksimetil-aminobenzilpenicilin) je ester ampicilina.<sup>11</sup> Budući da se apsorbirani pivampicilin gotovo u potpunosti hidrolizira u ampicilin, njegova antibakterijska aktivnost je u biti ista kao ona ampicilina.<sup>12</sup> Teorijski, zbog visokih koncentracija postignutih u krvi i mokraći moglo bi se očekivati da je više učinkovit *in vivo*, protiv određenih bakterijskih vrsta, od ekvimolarnih doza oralnog ampicilina s graničnom osjetljivosti na ampicilin. No, to se još mora dokazati. Kao i ampicilin, pivampicilin nije aktivan protiv organizama koji proizvode penicilinaze ili  $\beta$ -laktamaze.

Pivampicilin je stabilan u želucu i lako se apsorbira iz gornjeg gastro-intestinalnog trakta. Nakon apsorpcije pivampicilin se brzo hidrolizira u ampicilin posredstvom enzima u krvi i tkivima što rezultira povećanom koncentracijom lijeka u krvi i mokraći.<sup>33</sup> Primjenom oralnog pivampicilin hidroklorida postižu se veće serumske koncentracije i veći udio ampicilina u urinu u usporedbi s oralnom primjenom ampicilin trihidrata. Hrana ne utječe na apsorpciju pivampicilina.<sup>34</sup>

### 5.1.5. Cefuroksim aksetil

Poboljšana oralna apsorpcija cefalosporina može se postići esterifikacijom karboksilne skupine dihidrotiazinskog prstena na položaju C-4. Esterifikacijom se povećava lipofilnost, posebice u alkalnoj sredini kakva je i u duodenumu gdje se većina  $\beta$ -laktamskih antibiotika apsorbira. Tipičan primjer poboljšanja oralne aporpcije je cefuroksim-aksetil.

Cefuroksim-aksetil je 1-acetoksietilni ester cefuroksima koji se apsorbira nakon oralne primjene 30% do 40% od primjenjene doze, za razliku od ishodnog spoja cefuroksima koji se apsorbira svega 1%. Kad cefuroksim-aksetil dospije u intestinalnu sluznicu i portalni krvotok brzo se hidrolizira u aktivni cefuroksim.<sup>13</sup> Cefuroksim-aksetil je beta-laktamski antibiotik širokog spektra djelovanja, međutim smatra se antibiotikom drugog izbora. Taj lijek nije izbor za bilo koju infekciju, siguran je za primjenu u trudnoći i ima niski profil nuspojava, ali zbog prevelikog troška nabave i boljih terapijskih alternativa trebao bi biti rezerviran samo za specifične slučajeve.<sup>14</sup>

## **6. ZAKLJUČCI**

1.  $\beta$ -laktamski antibiotici su najčešće korištena skupina antibiotika u liječenju bakterijskih infekcija zbog svoje učinkovitosti i netoksičnosti.
2. Molekula penicilina se sastoji od jezgre i pobočnog (R1) lanca. Jezgra je poznata kao 6-aminopenicilanska kiselina i sastoji se od spojenog  $\beta$ -laktamskog i tiazolidinskog prstena te je esencijalna za aktivnost penicilina. Dostupnost 6-aminopenicilanske kiseline omogućilo je sintezu velikog broja novih polusintetičkih penicilina koji se razlikuju u pobočnim (R1) lancima, a time i u fizikalnim, kemijskim i biološkim svojstvima.
3. Problem nestabilnosti penicilina u kiselini riješen je uvođenjem elektron privlačne funkcionalne skupine na  $\alpha$ -poziciji u pobočnom lancu.
4. Molekula cefalosporina sastoji se od jezgre koju čine  $\beta$ -laktamski prsten spojen s šesteročlanim dihidrotiazinskim prstenom. Na jezgri su vezana dva pobočna lanca za razliku od penicilina gdje je samo jedan. Dostupnost 7-aminocefalosporanske kiseline je omogućila sintezu velikog broja novih cefalosporina koji se razlikuju u pobočnim lancima te se prema antimikrobnoj djelotvornosti dijele u četiri generacije.
5. Oksimino cefalosporini predstavljaju veliki napredak u razvoju cefalosporina, njihova struktura sadrži iminometoksi- skupinu na  $\alpha$ -poziciji pobočnog lanca što je uveliko povećalo stabilnost cefalosporina prema rezistentnim organizmima koji proizvode  $\beta$ -laktamaze.
6. Penicilini i cefalosporini pokazuju djelomičnu i nepotpunu križnu reaktivnost do 7%. Prije propisivanja cefalosporina razumno bi bilo pregledati prirodu alergije na peniciline te prirodu uključenog lijeka. Savjetuje se izbjegavanje propisivanja lijekova s istim ili sličnim pobočnim lancima.
7. Prolijek koncept omogućuje povećanje lipofilnosti i poboljšanje farmakoloških svojstava  $\beta$ -laktamskih antibiotika. Sintezom dvostrukih estera povećava se apsorpcija. Tako na primjer, prolijek pivampicilin (dvostruki ester ampicilina) postiže veće koncentracije u krvi od ampicilina, a cefuroksim aksetil omogućuje oralnu primjenu parenteralnog cefuroksima. Vezanjem lijeka za lipofilni nosač kao što je dihidropiridin, povećava se lipofilnost što omogućuje prolazak kroz krvno-moždanu barijeru.

## **7. POPIS CITIRANE LITERATURE**

1. Graham LP. An Introduction to Medicinal Chemistry. 2nd edition. USA; Oxford University Press: 2001.
2. Clarke HT, Johnson JR, Robinson R. The Chemistry of Penicillin. USA; Princeton University Press: 1949.
3. Kelkar PS, James T. Cephalosporin Allergy. N Engl J Med. 2004; 345:804-809.
4. Blanca M, Vega JM, Garci J. New Aspects of Allergic Reactions to Betalactams: crossreactions and unique specificities. Clin Exp Allergy. 1994; 24(5):407-415.
5. Romano A, Gaeta F, Valuzzi RL. Diagnosis Nonimmediate Reactions to Cephalosporins. J Allergy Clin Immunol. 2012; 129(4):1166-9.
6. Valentino S, Borchardt R, Hageman M, Oliyai R, Maag H, Jefferson T. Prodrugs: Challenges and Rewards. New York: Springer Science & Business Media; 2007.
7. Caprile KA. The cephalosporins antimicrobial agents: comprehensive review. J vet Pharmacol Ther. 1988; 11(1):1-32.
8. Weinstein AJ. The cephalosporins: activity and clinical use. Drugs. 1980; 20(2):137-54.
9. Mitar-Bratanić A. Lipofilnost  $\beta$ -laktama i prolaz kroz krvo-moždanu barijeru. Magistarski rad. Zagreb: FBF; 2011.
10. Taylor MD. Improved passive oral drug delivery via prodrugs. Adv Drug Deliv Rev. 1996; 19:131-48.
11. Hayek LJ, Brumfitt W, Franklin I, Pursell R, Ratcliffe M. Studies with pivampicillin—a new ampicillin derivative. Urinary Tract Infection, 2nd National Symposium. London: Oxford University Press; 1972.
12. Daehne W, Godtfredsen WO, Roholt K, Tybring L, Pivampicillin A new orally active ampicillin ester. Antimicrob Agents Chemother. 1970; 10:431-7.
13. Harding MS, Williams PO, Aryton J. Pharmacology of cefuroxime as the 1-acetoxyethyl ester in volunteers. Antimicrob Agents Chemother. 1984; 25:78-82.
14. Leder RD, Stier D. Cefuroxime Axetil A Brief review. Inf Dis Obst Gyn. 1997; 5:211-14.
15. Newton GG, Abraham EP. Cephalosporin C, a new antibiotic containing sulphur and D- $\alpha$ -aminoymatic adipic acid. Nature. 1955; 175:548.
16. Johnson DA, Panetta CA, Smith RR. Nonenzymatic Conversion of penicillins to 6-Aminopenicillanic Acid. J Org Chem. 1966; 31(8):2560-2564.
17. Kalenić S, Mliranić-Missoni E i suradnici. Medicinska bakteriologija i mikologija. Drugo izdanje. Zagreb; 2005.

18. Šalković-Petrišić M, Bradamante V. Beta-laktamski antibiotici: penicilini, e-nastavni članak. Katedra za farmakologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.
19. Petri J, William A. Cephalosporins and Other  $\beta$ -lactam Antibiotics. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutic. New York. 2006; 1127-1154.
20. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. Temeljna i klinička farmakologija. 11. izdanje, Zagreb. Medicinska naklada; 2011.
21. Preston SL, Pharm D, Drusano GL. Penicillins. Dostupno na <http://www.antimicrobe.org/d24.asp>, 1. rujan 2016.
22. Bhattacharya S. The facts about penicillin allergy: a review. J Adv Pharm Technol Res. 2010; 1(1):11-17.
23. Norrby SR. Side Effects of cephalosporins. Drugs. 1987; 34:105-120.
24. Huttunen KM, Raunio H, Rautio J, Koulu M. Prodrugs-from Serendipity to Rational Design. Pharm Rev. 2011; 63:750-771.
25. Testa B. Prodrugs:bridging pharmacodynamic/pharmacokinetic gaps. Curr Opin Chem Biol. 2009; 13:338-344.
26. Zawilska JB, Wojcieszak J, Olejniczak AB. Prodrugs: A challenge for drug development. Pharmacol Rep. 2013; 65:1-14.
27. Bundgaard H, Klixbill U. Hydrolysis of pivampicillin in buffer and plasmasolutions: Formation of a 4-imidazolidinone from ampicillin and formaldehyde. Int J Pharm Pharm Sci. 1985; 21:175-183.
28. Deshpande AD, Baheti KG, Chatterjee NR. Degradation of  $\beta$ -lactam antibiotics: Review Article. Curr Sci. 2004; 87:12-25.
29. Schafer JA, Noe Mateo MD, Parliner GL, Rotschafer JC. Penicillin Allergy Skin Testing: What Do We Do Now?. J Pharmacoth. 2007; 27(4):542-545.
30. Vermuri P, Harris KE, Suh LA, Grammer LC, Preparation of benzylpenicilloyl-polylysine: a preliminary study. Allergy Asthma Proc. 2004; 25:165–8.
31. Harris AD, Sauberman L, Kabbash L, Greineder DK, Samore MH. Penicillin skin testing: a way to optimize antibiotic utilization. Am J Med. 1999; 107:166–8.
32. Kim MH, Lee JM. . Diagnosis and Management of Immediate Hypersensitivity Reactions to Cephalosporins: Review. Allergy Asthma Immunol Res. 2014 Nov; 6(6):485-495.
33. Moreno E, Macias E, Davila I, Laffond E, Ruiz A, Lorente F. Hypersensitivity reactions to cephalosporins. J Exp Opin Dr Saf. 2008; 7(3):295-304.
34. Dash CH. Penicillin allergy and the cephalosporins. J Ant Chem. 1975; 1:107-118.



35. Wilcox JB, Brogden RN, Avery GS. Pivampicillin : A Preliminary Report of its Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Efficacy. *Drugs*. 1973; 6: 94-103.
36. Foltz EL, West JW, Breslow JH, Wallick H. Clinical pharmacology of pivampicillin. *Antimicrob Agents Chemother*. 1970: 442–454.
37. Brumfitt W, Franklin I, Hayek L. Treatment of urinary tract infection with pivampicillin. *Scand J Infect Diseases*; 1973.
38. Suarez C, Gudiol F, Beta-lactam antibiotics, dostupno na <http://europepmc.org/abstract/med/19254642>, 5. rujana 2016.
39. Hou JP, Poole JW.  $\beta$ -lactam antibiotics: Their physicochemical properties and biological activities in relation to structure. *J. Pharm. Sci.* 1971; 60(4):503-532.
40. Dunn GL. Ceftizoxime and other third-generation cephalosporins: structure-activity relationships. *J Antimicrob Chemother*. 1982; 10:1-10.
41. Rollo DM. Physiological dispositions of some semisynthetic penicillins. *Canad. J Phys Pharm*. 1972; 50:986-998.
42. Tsukinaka Y, Tsuji A. Comparative Stability of Cephalosporins in Aqueous Solution: Kinetics and Mechanisms of Degradation. *J Pharm Sci*. 2006; 65(11): 1564-1574.
43. Reeves DS, White LO, Holt H A , Bahari D, Bywater MJ, Bax RP. Human metabolism of cefotaxime. *J Antimicrob Chemother*. 1980; 6 :93 -101.
44. Bergan T, Kalager T, Helium K, Solberg CO. Penetration of cefotaxime and desacetylcefotaxime to skin blister fluid. *J Antimicrob Chemother*. 1982; 10:193.
45. Tsukinaka Y, Tsuji A, Mizukami Y. Kinetic Approach to the Development in  $\beta$ -lactam antibiotics. *Chem Pharm Bull*. 1974; 22(5): 1185-1197.
46. Hou JP, Poole JW. Kinetics of  $\beta$ -Lactamase Inactivation of Penicillins I:Effect of Side-Chain Structure, Ionic Strength,pH, and Temperature. *J Pharm Sci*. 1973; 62(5):783-8.
47. Solomun-Kolanović B, Bilandžić N, Đokić M, Varenina I, Sedak M. Mehanizam djelovanja, biosinteza i identifikacija beta-laktamskih antimikrobnih lijekova. *Croat. J Food Sci Technol*. 2011; 3 (2): 65-75.
48. Tong WWY, Anderson EA, Katelaris CH. Cross-reactivity of penicillins and cephalosporins. *Aust prescr*. 2007; 30:25-6.
49. Huttunen KM, Raunio H, Rautio J, Koulu M. Prodrugs-from Serendipity to Rational Design *Pharm Rev*. 2011; 63(3):750-771.
50. Rendić S, Medić-Šarić M. Metabolizam lijekova i odabranih ksenobiotika. Zagreb; Medicinska naklada: 2013.

51. Kunec-Vajić E, Bulat M, Gjuriš V. Medicinska farmakologija. Zagreb; Medicinska naklada: 1993.
52. Williams PEO, Harding SM. The absolute bioavailability of oral cefuroxime axetil in male and female volunteers after fasting and after food. *J Antimicrob Chemother.* 1984; 13:191 .
53. Sommer DK, Van Wyk M, Williams P E, Harding M S. Pharmacokinetics and Tolerance of Cefuroxime Axetil in Volunteers During Repeated Dosing. *Antimicrob Agents Chemother.* 1984; 25 (3): 344-347.
54. Greig NH. Drug delivery to the Brain by Blood-Brain barrier Circumvention and Drug Modification. Dostupno na <http://link.springer.com/> 15. rujan 2016.
55. Silverman RB, Holladay MW. *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action.* Thrd edition. USA; Elsevier Inc: 2014.
56. Nayler JHC. *Structure-Activity Relationship in Semi-Synthetic Penicillins.* Royal Society of London, Series B. *Biological Scineces.* 1971; 179:357-367.
57. Graham L P. *An Introduction to Medicinal Chemistry.* 5th edition. USA; Oxford University Press: 2013.
58. Knochel P, Molander GA. *Comprehensive Organic Synthesis.* USA; Elsevier: 2014.

## **8. SAŽETAK**

**Cilj:** cilj ovog diplomskog rada je prikazati utjecaj strukture beta-laktamskih antibiotika, prvenstveno penicilina i cefalosporina na njihovo djelovanje.

**Materijali i metode:** osnovu strukture penicilina i cefalosporina čine 6-APK i 7-ACK. Penicilini i cefalosporini se međusobno razlikuju u pobočnim lancima. Prikazane su reakcije biotransformacije prolijekova u tijelu, promjene na strukturi penicilina u kiselom i lužnatom mediju te reakcije biotransformacije cefalosporina.

**Rezultati:** enzim penicilinaza katalizira cijepanje  $\beta$ -laktamskog prstena, meticilin je prvi polusintetički penicilin otporan na *S. aureus*  $\beta$ -laktamazu. Njegov „sterički štit“ čine dvije metoksi- skupine u orto položaju na aromatskom prstenu pobočnog lanca. Problem nestabilnosti penicilina u kiselini riješen je uvođenjem elektron privlačne funkcionalne skupine na  $\alpha$ -poziciji u pobočnom lancu. Hidrolizom cefalosporina nastaju manje aktivni alkoholi. Treća generacija cefalosporina ima povećanu djelotvornost protiv Gram-negativnih bakterija posebice onih rezistentih na druge antibiotike. Penicilini i cefalosporini pokazuju djelomičnu i nepotpunu križnu reaktivnost do 7%. Prolijekovi pivampicilin i cefuroksim aksetil u tijelu se enzimski hidroliziraju u „matične spojeve“ ampicilin i cefuroksim. Povezivanjem lijeka s dihidropiridinskim nosačem omogućuje se prolazak kroz krvo-moždanu barijeru.

**Zaključak:** strukturna jezgra penicilina i cefalosporina je esencijalna za antimikrobnu aktivnost. Varijacijama na pobočnim lancima mijenjaju se fizikalna, kemijska i biološka svojstva. Križne alergijske reakcije mogu se očekivati između penicilina i cefalosporina sa sličnim pobočnim lancima. Prolijek koncept omogućuje povećanje lipofilnosti i farmakoloških svojstava  $\beta$ -laktamskih antibiotika.

## **9. SUMMARY**

**Diploma Thesis Title:** exploring the ratio between structure and beta-lactams activity.

**Objectives:** the objective of this study is to show structure influence on the beta-lactams activity, particularly on the penicillins and cephalosporins activity.

**Material and Methods:** 6-APA and 7-ACA form the base of penicillins and cephalosporins structure, penicillins and cephalosporins differ in the side chains. Biotransformations of prodrugs and of cephalosporins and also changes in penicillins structure in acid or alkaline media were observed in this study.

**Results:** penicillinase enzyme catalyzes the cleavage of  $\beta$ -lactam ring, methicillin is the first semisynthetic penicillin resistant to *S. aureus*  $\beta$ -lactamase. Its "steric shield" is consisted of the two methoxy groups in the ortho position on the aromatic ring of the side chain. Penicillin acid sensitivity is solved by introducing electron-withdrawing groups on the  $\alpha$ -position of the side chain. Cephalosporins acetyloxy group is readily hydrolysed by esterase enzymes to give the less active alcohol. Third-generation cephalosporins show better activity against Gram-negative bacteria, many of which are resistant to other  $\beta$ -lactams. Penicillins and cephalosporins show partial and incomplete cross-reactivity up to 7%. Prodrugs pivampicillin and cefuroxime axetil are enzyme hydrolyzed into "parent compounds" ampicillin and cefuroksim in the body. Linking the drug with dihydropyridine carrier makes the passing through blood-brain barrier possible.

**Conclusions:** nucleus of penicillins and cephalosporins is essential for antimicrobial activity. Modifications in the side chain change physical, chemical and biological properties. Cross allergic reactions can be expected between penicillin and cephalosporin with similar side chains. Prodrug concept allows increasing lipophilicity and pharmacological properties of  $\beta$ -lactam antibiotics.

## **10. ŽIVOTOPIS**

## **OSOBNI PODACI**

**Ime i prezime:** Anita Mikulić

**Datum i mjesto rođenja:** 20. svibnja 1993. godine, Zadar, Republika Hrvatska

**Adresa:** Mikulići 16, 23207 Gornje Raštane

**Telefon:** +385915488186

**Elektronička pošta:** [anita.mikulic93@hotmail.com](mailto:anita.mikulic93@hotmail.com)

**Državljanstvo:** Republike Hrvatske

## **OBRAZOVANJE**

**2011. – 2016.** Kemijsko-tehnološki fakultet Sveučilišta u Splitu i Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, Integrirani preddiplomski i diplomski studij Farmacija

**2007. – 2011.** Opća Gimnazija Vladimira Nazora, Zadar

**1999. – 2007.** Osnovna škola Biograd, Biograd na Moru

## **RADNO ISKUSTVO**

**3. 2016. – 9. 2016.** Stručno osposobljavanje u Ljekarnama Splitsko-dalmatinske županije, Ljekarni Bačvice

## **POSEBNE VJEŠTINE**

**Rad na računalu:** Aktivno i svakodnevno korištenje MS Office paketa, Eskulap 2000

**Strani jezik:** Engleski jezik – aktivno u govoru i pismu

**Vozačka dozvola:** B kategorija

## **ČLANSTVO**



**CPSA Split** (Udruga studenata farmacije i medicinske biokemije Hrvatske)