

Klara Šušnjar

Metabolizam odabranih antimikrobnih lijekova

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2024.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Antimikrobni lijekovi	1
2.1. Farmakokinetika	2
2.1.1. Farmakokinetika antimikrobnih lijekova.....	2
3.1. Reakcije biotransformacije	3
2. OBRAZLOŽENJE TEME	4
4. REZULTATI I RASPRAVA	6
4.1. Aminoglikozidi	6
4.1.1. Uporaba i opća svojstva.....	6
4.1.2. Struktura	6
4.1.3. Mehanizam djelovanja i rezistencije	7
4.1.4. Farmakokinetika	9
4.1.5. Toksičnost aminoglikozida	12
4.2. Tetraciklini	16
4.2.1. Uporaba i opća svojstva.....	16
4.2.2. Struktura i klasifikacija.....	16
4.2.3. Mehanizam djelovanja i rezistencije	18
4.2.4. Farmakokinetika	18
4.2.5. Metabolizam.....	21
4.3. Azoli	26
4.3.1. Uporaba i opća svojstva.....	26
4.3.2. Struktura i klasifikacija.....	27
4.3.3. Mehanizam djelovanja i rezistencije	28
4.3.4. Farmakokinetika	29
4.3.5. Metabolizam.....	31
4.3.6. Interakcije azola s drugim lijekovima	38
4.4. Makrolidi	39
4.4.1. Uporaba i opća svojstva.....	39
4.4.2. Struktura i klasifikacija.....	40
4.4.3. Mehanizam djelovanja i rezistencije	41
4.4.4. Farmakokinetika	42
4.4.5. Metabolizam.....	44
4.4.6. Interakcije makrolida s drugim lijekovima.....	48
5. ZAKLJUČCI	49
6. POPIS KRATICA, OZNAKA I SIMBOLA	51

7. LITERATURA	53
8. SAŽETAK/SUMMARY	62

Ovaj diplomski rad prijavljen je na Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za farmaceutsku kemiju pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Monike Barbarić.

1. UVOD

1.1. Antimikrobni lijekovi

Antimikrobna sredstva koja uključuju antibiotike, antivirusne, antifungalne i antiparazitske lijekove, ključni su alati u suvremenoj medicini za liječenje zaraznih bolesti. Evolucija antimikrobnih lijekova predstavlja jedno od najznačajnijih postignuća u modernoj medicini, značajno mijenjajući pristup liječenju tih bolesti. Od ranih primjena sulfanilamida do revolucionarnog uvođenja penicilina, ovi su agensi drastično smanjili stope smrtnosti od teških bakterijskih infekcija. U predantibiotskoj eri, stopa smrtnosti od infekcije akutnim meningokoknim meningitisom dosezala je zabrinjavajuće razine, krećući se od 70% do 90%. Međutim, uvođenje sulfanilamida smanjilo je ovu brojku na otprilike 10%, što je pokazalo neposredan i dubok utjecaj antimikrobnih lijekova na javno zdravstvo (Powers, 2004).

Između uvođenja sulfonamida 1930-ih i kasnih 1960-ih, farmaceutska industrija doživjela je porast inovacija, pri čemu su znanstvenici uspješno razvili brojne nove agense koji su ciljali širok spektar bakterijskih patogena. Mnogi su lijekovi pronađeni spletom sretnih okolnosti, poput otkrića cefalosporina C izoliranog iz gljivice *Acremonium chrysogenum* nađene u otpadnoj morskoj vodi (Nigam i Singh). Osim toga, kemijske modifikacije već postojećih spojeva odigrale su ključnu ulogu u proširenju arsenala antimikrobnih sredstava koji se prema mehanizmu djelovanja mogu podijeliti u osnovne skupine; inhibitori sinteze stanične stijenke, lijekovi koji djeluju na staničnu membranu, inhibitori sinteze proteina, lijekovi koji utječu na sintezu nukleinskih kiselina te lijekovi koji blokiraju određen stupanj metabolizma bakterije.

Stanje u razvoju antimikrobnih lijekova drastično se promijenilo krajem 1960-ih godina, kada je došlo do stagnacije u inovacijama. Od tada, većina novih antimikrobnih lijekova rezultat je kemijskih modifikacija postojećih rješenja, umjesto stvarno inovativnih pristupa. Ova stagnacija naglašava izazove s kojima se istraživači suočavaju u pronalaženju novih agensa za borbu protiv bakterijskih i drugih infekcija. Hitno je potrebno razviti nove antimikrobne lijekove kako bismo se suprotstavili stalnom porastu otpornosti, kao i osigurati pristupačnije opcije s poboljšanom učinkovitošću i boljim sigurnosnim profilom. Smanjenje terapijske učinkovitosti uslijed široke primjene antimikrobne terapije dugo je predviđano i čini se neizbježnim. Dok je nekadašnja opskrba novim i poboljšanim antimikrobnim spojevima bila obilna, sada je postala rijetkost, jer razvoj lijekova postaje sve izazovniji, a farmaceutske

tvrtke preusmjeravaju svoja ulaganja na profitabilnija tržišta (Van de Sande-Bruinsma i sur., 2008; Spellberg i sur., 2004).

2.1. Farmakokinetika

Farmakokinetika je područje koje se bavi kvantitativnim istraživanjem kinetike apsorpcije, distribucije, metabolizma i eliminacije lijekova, uključujući brzinu i opseg svakog od tih procesa. Nakon primjene lijeka, ovi procesi su glavni čimbenici koji određuju vremenski profil lijeka u tijelu, što utječe na trajanje njegovog učinka. Principi farmakokinetike mogu se primijeniti na bilo koji spoj poput hranjivih tvari, hormona, toksina, zagađivača, pesticida i drugih, ali najčešće se primjenjuju upravo na raspodjelu lijekova (Hedaya, 2023).

2.1.1. Farmakokinetika antimikrobnih lijekova

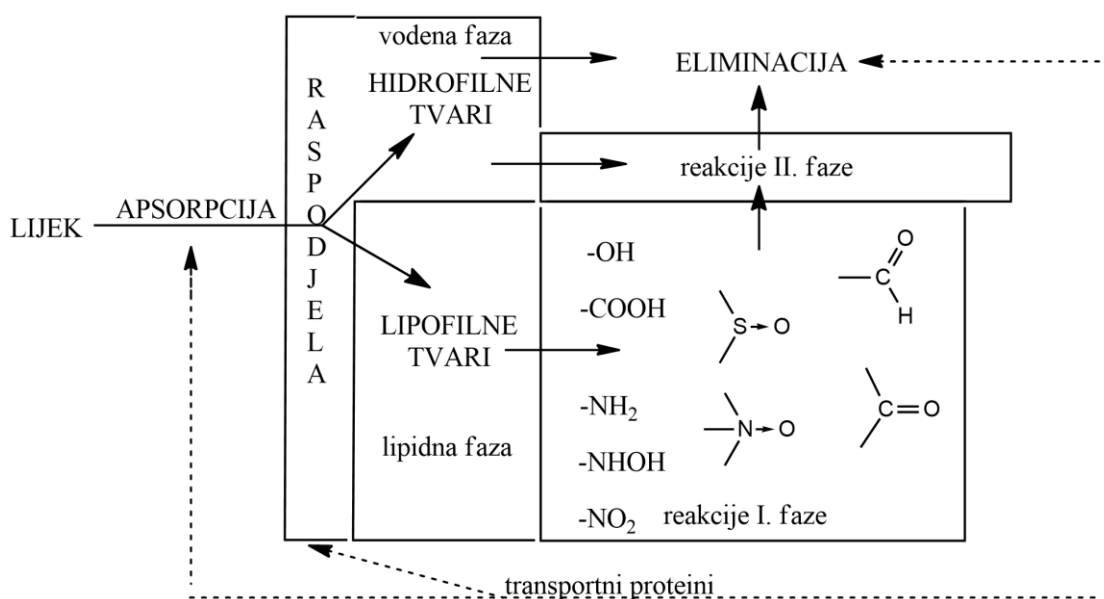
Klasična farmakokinetika lijekova opisuje brzinu procesa apsorpcije, distribucije i eliminacije nakon primjene. Međutim, antimikrobni lijekovi zahtijevaju drugačiji pristup u analizi, budući da, iako se lijek primjenjuje domaćinu, mikroorganizmi također moraju apsorbirati, distribuirati i eliminirati lijek. Kod većine terapijskih lijekova, gdje su procesi apsorpcije slični, može se primijetiti da su farmakološki učinci povezani s brzinom uklanjanja lijeka iz središnjeg prostora (sistemske cirkulacije) putem metabolizma, redistribucije ili eliminacije. Ova načela čine osnovu za terapijsko praćenje i prilagodbu doze na temelju mjerenja koncentracije lijeka ili njegovih metabolita u fiziološkim tekućinama, što pomaže u procjeni stanja u središnjem prostoru.

Na primjer, razina digoksina može se mjeriti kako bi se utvrdio terapijski raspon koji omogućuje povećanje kontraktilnosti srca u bolesnika s srčanom insuficijencijom, bez izazivanja toksičnih učinaka poput aritmije. S druge strane, farmakološki učinak antimikrobnih lijekova ovisi o toksičnom učinku na mikroorganizme, kao što su inhibicija rasta ili razaranje stanica, bez istodobnog izazivanja toksičnosti kod domaćina. Zbog toga je izazovno uskladiti eksperimentalno određene farmakokinetičke karakteristike antibiotika s njihovim terapijskim odgovorima. Umjesto toga, terapijsko praćenje antimikrobnih lijekova često se usredotočuje na prevenciju toksičnih reakcija kod domaćina (Anzenbacher i Zanger, 2012).

3.1. Reakcije biotransformacije

Metabolizam mnogih ksenobiotika i endogenih molekula odvija se pretežno u jetri. Proces započinje unosom molekula u jetru putem pasivne difuzije i/ili aktivnog transporta nakon čega molekule postaju podložne metabolizmu od strane enzima faze I i faze II. Ovi su enzimi odgovorni za pretvaranje nepolarnih lipofilnih spojeva u njihove polarne hidrofilne metabolite prije izlučivanja (Slika 1) (Lam i sur., 2006). U reakcije I. faze spadaju reakcije oksidacije, redukcije i hidrolize. Tijekom tih reakcija dolazi do promjena na postojećim funkcionalnim skupinama ili do uvođenja novih poput -OH, -NH₂, -SH i -COOH. Osim u jetri, ove se reakcije odvijaju i u bubrezima, središnjem živčanom sustavu, probavnom traktu, plućima i dr. Više od 70% ksenobiotika, metabolizira se oksidativnim procesima, a enzimi, koji te reakcije kataliziraju u najvećoj mjeri (90%), su citokromi P450. Ostali enzimi koji u značajnoj mjeri kataliziraju oksidoredukcijske reakcije su: dehidrogenaze, aldehyd-oksidadze, ksantin-oksidadreduktaze, peroksidaze, i FAD ovisne monooksigenaze.

Reakcije I. faze mogu, ali i ne moraju prethoditi reakcijama II. faze. Produkti reakcija II. faze su najčešće hidrofilniji od supstrata i pomažu njegovom izlučivanju, a same reakcije uključuju reakcije metilacije, konjugacije s α -aminokiselinama, acetilacije, sulfokonjugacije, glukuronidacije, konjugacije s glutathionom. Prijenos konjugirajuće skupine na molekulu primatelja kataliziraju enzimi transferaze (Rendić i Medić-Šarić, 2013).



Slika 1. Prikaz sudbine lijeka u organizmu (Preuzeto i prilagođeno prema Rendić i Medić-Šarić, 2013)

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Antimikrobni lijekovi ključan su alat moderne medicine u borbi protiv infekcija uzrokovanih bakterijama, gljivicama, virusima ili parazitima. Učinkovitost ovih lijekova ne ovisi samo o njihovoj primjeni, već i o metaboličkim procesima kroz koje oni prolaze. Većinski se odvijaju u jetri, a karakterizira ih prisustvo brojnih enzima. Kao takvi, utječu na farmakokinetiku i farmakodinamiku lijekova stoga mogu biti uključeni u ispoljavanje toksičnih učinaka ili interakciju lijekova u slučaju politerapije, a na razini mikroorganizama mogu biti odgovorni za njihovu rezistenciju na antibakterijske lijekove. Upravo zato je razumijevanje metaboličkih procesa, i metabolita koji njima nastaju, ključno za prilagođavanje doza, minimiziranje nuspojava i potencijalno opasnih interakcija s drugim lijekovima te za borbu protiv rezistencije.

Cilj ovog diplomskog rada je pregledati i analizirati studije o metabolizmu antimikrobnih lijekova s ciljem boljeg razumijevanja njihove transformacije u organizmu. Ovaj rad će pružiti uvid u mehanizme koji omogućuju korisniju primjenu antimikrobnih agenasa, smanjenje otpornosti i poboljšanje ishoda liječenja.

3. MATERIJALI I METODE

Za izradu ovog preglednog diplomskog rada korištena je stručna i znanstvena literatura prikupljena iz bibliografskih baza podataka, uključujući Web of Science, PubMed, ScienceDirect, PubChem, ResearchGate i Mediatelly, ali i dostupne stručne knjige i elektronički časopisi. Pretraživanje literature provedeno je koristeći ključne riječi i njihove kombinacije koje su podrazumijevale naziv djelatne tvari od interesa te riječi kao što su: *antimicrobial drugs, metabolism, metabolites, pharmacokinetics* i *drug interactions*.

Svi podaci prikupljeni iz relevantnih izvora analizirani su s ciljem dobivanja pregleda najnovijih saznanja o metabolizmu antimikrobnih lijekova. Za crtanje kemijskih struktura i reakcija biotransformacije korišten je program ChemDraw.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Aminoglikozidi

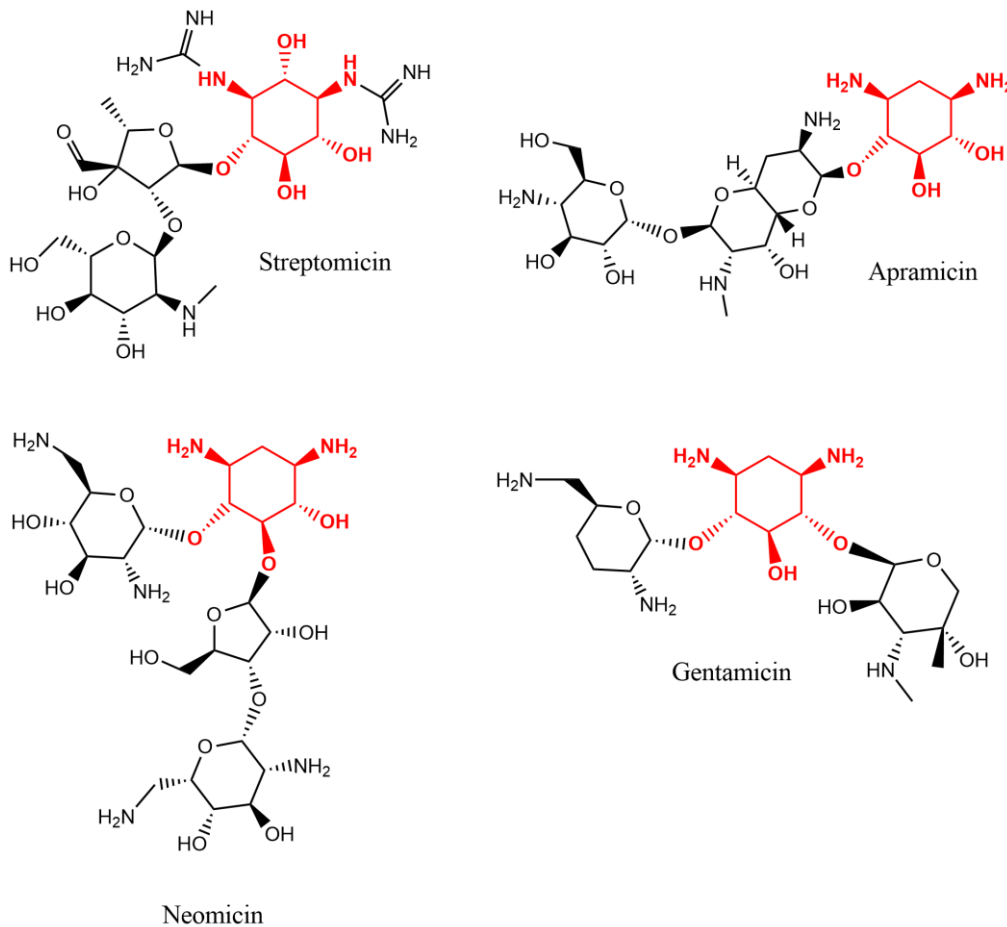
4.1.1. Uporaba i opća svojstva

Aminoglikozidi su antibiotici širokog spektra djelovanja, a posjeduju mnoga poželjna svojstva u liječenju životno ugrožavajućih infekcija. Njihova povijest započinje 1944. godine streptomycinom, izoliranim iz bakterije *Streptomyces griseus*, koji se pokazao značajnim u borbi protiv tuberkuloze (Mingeot-Leclercq i sur., 1999). Nedugo zatim, izolirani su, a potom i polusintetizirani brojni drugi aminoglikozidi te je utvrđena njihova korisnost u liječenju infekcija izazvanih gram-negativnim bakterijama. Usprkos tome, njihova klinička primjena bila je ograničena nuspojavama, poglavito nefrotoksičnošću i ototoksičnošću te pojavom rezistentnih sojeva (Stead, 2000). Do značajnijeg odmaka od sistemskog korištenja ove klase antibiotika došlo je 1980-ih godina. Razlog tome bila je pojava cefalosporina treće generacije, karbapenema i fluorokinolona, za koje se smatralo da su manje toksični te da pružaju širi spektar djelovanja od aminoglikozida. Međutim, porast otpornosti patogena na prethodno spomenute klase lijekova, doveo je do obnovljenog interesa za tradicionalne aminoglikozide i do razvoja novih poput arbekacina i plazomicina. Ovi kasniji agensi dizajnirani su kako bi prevladali uobičajene mehanizme rezistencije na aminoglikozide, čime se održava njihova učinkovitost protiv multirezistentnih (MDR) bakterija (Krause i sur., 2016). Danas se aminoglikozidi koriste u liječenju infekcija poput sepse, tuberkuloze, tularemije, bruceloze i nozokomijalnih infekcija respiratornog trakta. Također pružaju sinergističku baktericidnu aktivnost u kombinaciji s antimikrobnim sredstvima čija je uloga inhibirati sintezu stanične stijenke bakterije. Prema novijim istraživanjima, pokazuju potencijal i u liječenju HIV-1 zaraženih pacijenata i genetskih poremećaja (Trylska i Kulik, 2016).

4.1.2. Struktura

Strukturu aminoglikozida karakterizira prisutnost dvaju ili više aminošećera povezanih glikozidnom vezom za aminociklitolni prsten. Većinom dijele istu ciklitolnu jezgru, 2-deoksistreptamin, dok su iznimke streptidin ili spektinamin (Poulikakos i Falagas, 2013). Upravo se na temelju tih razlika u aminociklitolnom prstenu klasificiraju u četiri podklase: (1) bez deoksistreptamina (npr. streptomycin); (2) mono-supstituirani prsten deoksistreptamina (npr. apramicin); (3) 4,5-di-supstituiran deoksistreptaminski prsten (npr. neomicin, ribostamicin); ili (4) 4,6-di-supstituiran deoksistreptaminski prsten (npr. gentamicin,

amikacin, tobramicin i plazomicin) (Krause i sur., 2016). Primjeri svake podklase prikazani su na slici 2.



Slika 2. Prikaz sve četiri podklase aminoglikozida; streptidinski i deoksistreptaminski prsteni označeni su crvenom bojom (Preuzeto i prilagođeno prema Krause i sur., 2016)

4.1.3. Mehanizam djelovanja i rezistencije

Aminoglikozidi prvenstveno djeluju ometanjem bakterijske sinteze proteina vezanjem za prokariotske ribosome. Ulaz aminoglikozida u bakterijsku stanicu sastoji se od tri različite faze, od kojih prva povećava propusnost bakterijske membrane, dok su druge dvije ovisne o energiji. Prva faza uključuje elektrostatske interakcije pozitivno nabijenog aminoglikozida s negativno nabijenim komponentama bakterijske membrane, fosfolipidima i lipopolisaharidima (LPS) Gram-negativnih organizama, a zatim izbacivanje iona magnezija. Za međusobno povezivanje i stabilizaciju lipidnih komponenti bakterijske membrane odgovorni su upravo ti kationi, a njihovim uklanjanjem dolazi do poremećaja stabilnosti vanjske membrane, njezine povećane propusnosti te početka unosa aminoglikozida (Krause i

sur., 2016). Naknadni transport aminoglikozida preko citoplazmatske membrane ovisi o transportu elektrona i naziva se energetska ovisna faza I (EDP-I). To je ograničavajući korak koji može biti blokiran ili inhibiran dvovalentnim kationima, hiperosmolaritetom, niskom pH vrijednošću i anaerobiozom. U citosolu se aminoglikozidi, opet kroz proces ovisan o energiji (EDP-II), vežu za 30S podjedinicu ribosoma. Iako ovo vezivanje ne sprječava formiranje inicijacijskog kompleksa, ono remeti točnost translacije. (Mingeot-Leclercq i sur., 1999). Tijekom uobičajenog procesa translacije, A mjesto unutar ribosoma prelazi iz "isključenog" stanja, u kojem su adenini A1492 i A1493 smješteni unutar plitkog utora, u "uključeno" stanje, u kojem se ti adenini ispućuju, spremni za interakciju s parom kodon:antikodon. Ova promjena stanja ključna je za ribosom kako bi točno prepoznao parove tRNA-mRNA, dopuštajući dodavanje točne aminokiseline rastućem polipeptidnom lancu.

Aminoglikozidi, međutim, narušavaju ovaj precizno podešeni mehanizam. Vežući se za A mjesto, zaključavaju A1492 i A1493 u ispućenom "uključenom" stanju. To sprječava ribosom da se vrati u svoje "isključeno" stanje, što dovodi do smanjene sposobnosti razlikovanja između točnih i netočnih tRNA-mRNA interakcija. Ovo pogrešno čitanje rezultira ugradnjom netočnih aminokiselina, narušavajući sintezu proteina i dovodeći do smrti bakterijske stanice (Vicens i Westhof, 2003). Važno je napomenuti da se točno mjesto vezanja, kao i dodatni učinci, razlikuju među molekulama aminoglikozida i ovise o aminociklitolnom prstenu (Poulikakos i Falagas, 2013). Osim toga, neki aminoglikozidi mogu utjecati na sintezu proteina blokirajući translokaciju ili direktno inhibirajući inicijaciju (Krause i sur., 2016).

Rezistencija na aminoglikozide obuhvaća tri osnovna mehanizma. Jedan od njih je pad intracelularne koncentracije aminoglikozida koji se javlja kao posljedica smanjene propusnosti vanjske bakterijske membrane ili zbog djelovanja efluksnih pumpi koje ih ubrzano izbacuju iz stanice. Budući da se transport aminoglikozida kroz membranu odvija u tri faze, svaka od tih faza može biti spriječena. Dobar primjer za to je bakterija *Pseudomonas aeruginosa* koja modifikacijom vanjskog sloja LPS-a smanjuje njegov negativni naboj pa tako i elektrostatske interakcije između bakterije i aminoglikozida u početnoj fazi unosa (Becker i Cooper, 2012). Osim toga, sljedeće dvije faze ovise o kisiku, što takve anaerobne bakterije čini otpornima na aminoglikozide. Slično tome, sojevi poput *Escherichia Coli* i *Staphylococcus aureus* koji sadrže funkcionalno mutirane ATP sintaze pokazuju smanjenu osjetljivost (Houghton i sur., 2010). Još jedan mehanizam rezistencije podrazumijeva modifikaciju ciljnog mjesta vezanja bilo putem modificirajućih enzima ili putem genetske mutacije. Enzimatska modifikacija može biti posredovana metiltransferazama koje

transformiraju nukleotide u veznom mjestu u odgovarajuće metilne derivate. Upravo ti enzimi mogu se naći u aktinomicetima, prirodnim proizvođačima aminoglikozida, kao jedan od mehanizama zaštite od toksičnosti vlastitih metabolita.

Kao najvažniji mehanizam rezistencije ističe se enzimatska modifikacija samih aminoglikozida. Opisano je više od 100 aminoglikozid modifikirajućih enzima (AME) kategoriziranih u tri grupe na temelju njihove sposobnosti acetiliranja, fosforiliranja ili adeniliranja amino ili hidroksilnih skupina koje se nalaze na različitim položajima oko osnovne strukture aminoglikozida. Spomenute modifikacije umanjuju sposobnost lijeka da se veže na svoju metu i dovode do gubitka njegove potentosti (Krause i sur., 2016). Velik broj ovih enzima kodiran je na plazmidima, transpozonima i integronima, što ih čini visoko pokretnima i olakšava širenje otpornosti (Becker i Cooper, 2012).

4.1.4. Farmakokinetika

Apsorpcija i put primjene

Zbog svoje kationske prirode, a samim time i slabe lipofilnosti, aminoglikozidi se loše apsorbiraju putem gastrointestinalnog trakta stoga oralni put primjene nije uobičajen. Iznimke su slučajevi u kojima je potrebno "pročistiti" gastrointestinalni trakt, primjerice kod hepatičke encefalopatije, za profilaksu prije operacije ili kod infekcija uzrokovanih protozoama (Rivetti i sur., 2023). Adekvatne serumske koncentracije postižu se intramuskularnom ili intravenskom primjenom nakon čega se aminoglikozidi brzo distribuiraju kroz ekstracelularnu tekućinu. Do postizanja vršne serumske koncentracije treba proći; 30 minuta od završetka 30 minutne iv. infuzije, 30-60 minuta nakon intramuskularne injekcije ili 60 minuta iv. infuzije (Mathews i Bailie, 1987). S obzirom na to da teško prolaze kroz biološke membrane, još jedan način primjene je topikalni, u slučaju infekcija vanjskog uha ili oka (Poulikakos i Falagas, 2013).

Distribucija

Nakon parenteralne primjene, volumen distribucije (Vd) aminoglikozida podjednak je volumenu izvanstanične tekućine. Do njegova smanjenja dolazi starenjem: primjerice, Vd za gentamicin iznosi oko 0.5–0.7 L/kg kod nedonoščadi te otprilike 0.25 L/kg kod odraslih, što je posljedica većeg udjela ukupne tjelesne vode kod novorođenčadi. Obratni slučaj, u kojem se Vd vrijednost povećava, javlja se u stanjima poput sepse, teških opekline, febrilne neutropenije, kongestivnog zatajenja srca, peritonitisa, neposrednog postporođajnog razdoblja i kod parenteralne prehrane.

Vežanje aminoglikozida za proteine plazme je vrlo nisko, obično manje od 10%. Dobro prodiru u nekoliko tjelesnih tekućina, uključujući sinovijalnu, peritonealnu, perikardijalnu i pleuralnu tekućinu, dok je prodiranje u središnji živčani sustav i staklasto tijelo zanemarivo. Osim toga, prilično sporo distribuiraju u žuč, izmet, prostatu i amnijsku tekućinu (Turnidge, 2003).

Eliminacija

Eliminacija aminoglikozida primarno se odvija (90%) putem glomerulne filtracije, a budući da je metabolizam putem jetre i žuči minimalan, zanemariva količina se može naći u fecesu. Samim time, bolesti jetre i žučnih puteva minimalno utječu na stopu eliminacije. Klirens aminoglikozida sličan je klirensu kreatinina te je smanjen u slučaju loše bubrežne funkcije. Sukladno tome, osobe starije životne dobi imaju smanjen klirens ovih lijekova. Poluvrijeme eliminacije kod zdravih odraslih osoba iznosi približno 2–3 sata, no produžava se kod male djece, posebno novorođenčadi, zbog njihove nezrele bubrežne funkcije. Slično se događa i kod ljudi s bolešću bubrega u terminalnoj fazi (Rivetti i sur., 2023). Također, do 20% filtriranog lijeka može se reapsorbirati iz proksimalnog bubrežnog tubula. Toksičnost aminoglikozida može izazvati akutnu nekrozu proksimalnih tubula, što dovodi do smanjene glomerularne filtracije. Stoga je važno pažljivo pratiti bubrežnu funkciju kod pacijenata koji primaju ove lijekove (Eyler i Shvets, 2019).

Farmakokinetika u uhu

Aminoglikozidni antibiotici brzo ulaze u unutarnje uho putem krvotoka nakon parenteralne primjene, a ravnotežnu koncentraciju postižu unutar 30 do 180 minuta. Nalaze se u tekućinama (perilimfi i endolimfi) i tkivima unutarnjeg uha, osobito u osjetnim stanicama Cortijevog slušnog organa, no u relativno niskim koncentracijama koje ne prelaze 1/10 vršne koncentracije u serumu (Forge i Schacht, 2000). Njihovo uklanjanje iz unutarnjeg uha je sporo; dok je poluživot u serumu oko 3 do 5 sati, u tkivima i tekućinama unutarnjeg uha može biti dulji od 30 dana, što omogućava dugotrajnu prisutnost lijeka unatoč eliminaciji iz krvotoka. Iako koncentracije u unutarnjem uhu nisu izravno povezane s jačinom ototoksičnog potencijala, dokazi iz životinjskih modela sugeriraju da je ototoksičnost povezana s AUC vrijednostima lijeka u endolimfi, što implicira da ukupna dnevna doza može utjecati na incidenciju ototoksičnosti (Craig, 2011).

Farmakokinetika u bubregu

Aminoglikozidi imaju izraženu sklonost za bubrežno kortikalno tkivo, akumulirajući se u koncentracijama koje su 10 do 50 puta veće od onih u serumu. Postoje izražene razlike među različitim aminoglikozidima u tom pogledu, pri čemu oni koji pokazuju najveću tendenciju akumulacije su najnefrotoksičniji (Barza i Scheife, 1977). Nakupljanje unutar epitelnih stanica proksimalnog tubula bubrega odvija se putem saturabilne kinetike. Veće luminalne koncentracije ne dovode do povećanog nakupljanja, no kontinuirano prisustvo lijeka, kao u slučaju višestrukih dnevnih doza, povećava akumulaciju i rizik od nefrotoksičnosti. S druge strane, jednokratno dnevno doziranje, s duljim intervalima između doza, smanjuje nakupljanje aminoglikozida u bubrezima i smanjuje rizik od toksičnosti (Wargo i sur., 2014). Ova shema doziranja omogućuje optimalnu baktericidnu aktivnost kada koncentracija lijeka u serumu premašuje 10 puta minimalnu inhibitornu koncentraciju (MIC), uz postantibiotski učinak (PAE), koji produljuje baktericidno djelovanje čak i kad je antibiotik odsutan iz seruma (Avent i sur., 2011). Također, istraživanja su pokazala da je nefrotoksičnost niža kada se lijek primjenjuje u ranim poslijepodnevnim satima, što je dovelo do preporuka da se aminoglikozidi primjenjuju jednom dnevno u 13:30 sati kako bi se smanjio rizik od oštećenja bubrega (Turnidge, 2003).

Farmakokinetika aminoglikozida kod pretilih osoba

Prema provedenoj studiji, pretili osobe imaju veću brzinu izlučivanja aminoglikozida nego osobe normalne tjelesne težine, unatoč usporedivim razinama serumskog kreatinina. To ukazuje na poboljšanu funkciju bubrega, moguće zbog povećanog broja ili učinkovitosti funkcionalnih nefrona. Ovo povećano izlučivanje je značajno jer utječe na brzinu kojom se lijek eliminira iz tijela. Volumen distribucije također je veći kod pretilih osoba, vjerojatno zbog većeg postotka masnog tkiva koje može apsorbirati i pohraniti više lijeka. Budući da su dva prethodno spomenuta parametra proporcionalna kod pretilih pacijenata, njihovo je poluvrijeme eliminacije usporedivo s poluvremenom eliminacije kod pacijenata normalne tjelesne težine, a ono iznosi oko 2 sata. Svi ovi podaci upućuju na to da pretili osobe zahtijevaju veće doze za postizanje istog terapijskog učinka. Strategija doziranja za ove pacijente bila je temeljiti početnu dozu na zbroju IBW (ideal body weight) sa 40% viška težine pacijenta (FW) (excess fat weight); na ovaj način niti jedan pacijent ne bi trebao biti ozbiljno predoziran ili poddoziran (Bauer i sur., 1983).

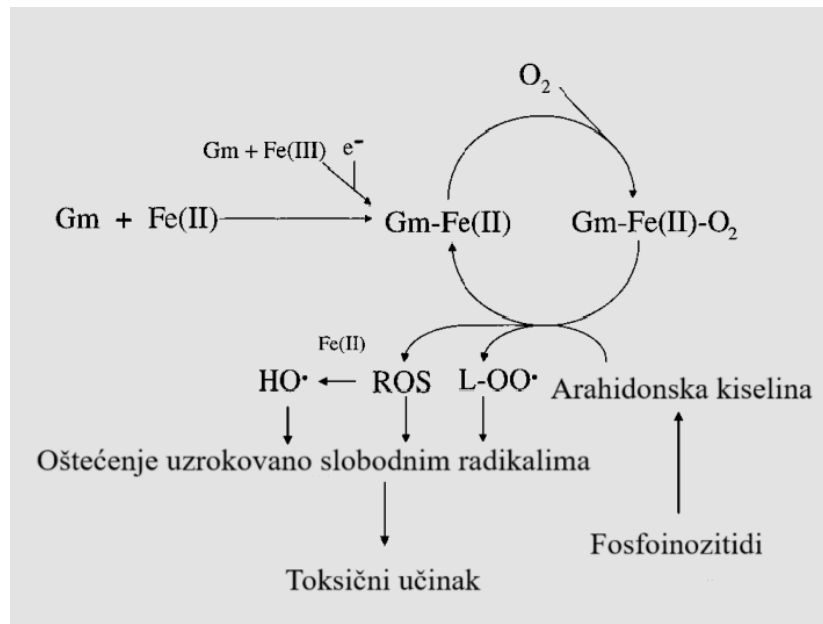
4.1.5. Toksičnost aminoglikozida

Vrlo malo, ako i uopće, dolazi do metaboliziranja aminoglikozida u ljudima. Tijekom 90-ih godina prošlog stoljeća, mnoge studije nastojale su dokazati da je upravo metabolit gentamicina odgovoran za njegov toksični učinak. Prvotno se uspoređivala toksičnost gentamicina na izolirane osjetne stanice Cortijeva slušnog organa prije i nakon inkubacije s postmitohondrijskom frakcijom jetre (tzv. frakcija S9) koja sadrži jetrene enzime zaslužne za obje faze metabolizma lijekova. Gentamicin inkubiran s jetrenim enzimima smanjio je održivost stanica, dok izvorni netretirani antibiotik nije imao citotoksični učinak što je dovelo do zaključka da je vjerojatno oksidativni metabolizam zaslužan za formiranje toksičnog metabolita (Huang i Schacht, 1990).

Daljnja istraživanja bavila su se otkrivanjem prirode metabolita te subcelularnom distribucijom enzimske aktivnosti. Istraživanja Crann i suradnika utvrdila su da je enzim odgovoran za citotoksičnost metabolita gentamicina lokaliziran u citosolnoj frakciji jetre zamorca. Koristeći membransku filtraciju, masa odgovarajućeg toksina iznosila je otprilike 500 daltona što upućuje na prisutnost metabolita gentamicina (Zenner i sur., 1994; Crann i sur., 1992). Istraživanje je zatim preslikano i na osam drugih aminoglikozida kako bi se ustanovilo primijenjuje li se predloženi mehanizam toksičnosti na ove antibiotike kao grupu. Rezultati su pokazali da, nakon inkubacije sa subcelularnom frakcijom jetre, svi testirani ototoksični aminoglikozidi zaista ostvaruju toksičan učinak, dok netretirani antibiotici ne kompromitiraju održivost stanica. Iznimka je bio jedino neamin kojeg se smatra manje ototoksičnim. Subcelularna frakcija tkiva bočnog zida pužnice također je proizvela toksin iz gentamicina. Dobiveni rezultati podupiru hipotezu da aktivacija aminoglikozida prethodi njihovim toksičnim djelovanjima te da nije ograničena samo na jetru (Crann i Schacht, 1996).

Tako se osjetljivost tkiva na aminoglikozide počela povezivati s mehanizmima detoksikacije, a ne samo s proizvodnjom toksičnog metabolita. Utvrđeno je da osjetne stanice zamorca *in vitro* sadrže manjak glutationa koji ima ulogu u detoksikaciji učinka ovih lijekova i to u obliku hvatača slobodnih kisikovih radikala. Dodavanje ovog sredstva, kao i ostalih antioksidansa tijekom inkubacijskih razdoblja, značajno smanjuje uništavanje osjetnih stanica inducirano lijekovima (Nishida i Takumida, 1996). Ta spoznaja je razjasnila i sam mehanizam ototoksičnosti, odnosno da se aktivacija gentamicina pa tako i drugih aminoglikozida odvija putem formiranja željezo-aminoglikozid kompleksa koji potpomaže formiranju reaktivnih kisikovih specija (Slika 3).

Reakcija započinje tako da gentamicin kelira željezo kako bi formirao redoks-aktivni Gm-Fe(II) kompleks. Intracelularno željezo najčešće je u fero-obliku Fe(II) i kao takvo stvara kompleks s gentamicinom. Međutim, postoji mogućnost da se nalazi u feri-obliku Fe(III) pa keliranju prethodi jednoelektronska redukcija. Ovaj kompleks aktivira molekularni kisik i reducira ga s elektronima dobivenim od donora elektrona poput arahidonske kiseline. Kao posljedica, generiraju se lipidni peroksidi (L-OO·) i superoksid (označen kao ROS, reaktivni kisikovi spojevi). Lipidni peroksidi mogu pokrenuti lančanu reakciju peroksidacije, a superoksid može proći kroz Fentonovu reakciju kako bi stvorio vrlo agresivan hidroksilni radikal. Zbroj ovih reakcija je Gm-Fe(II) katalizirana redukcija kisika i lančana reakcija stvaranja različitih reaktivnih kisikovih vrsta koje dalje oštećuju stanicu.

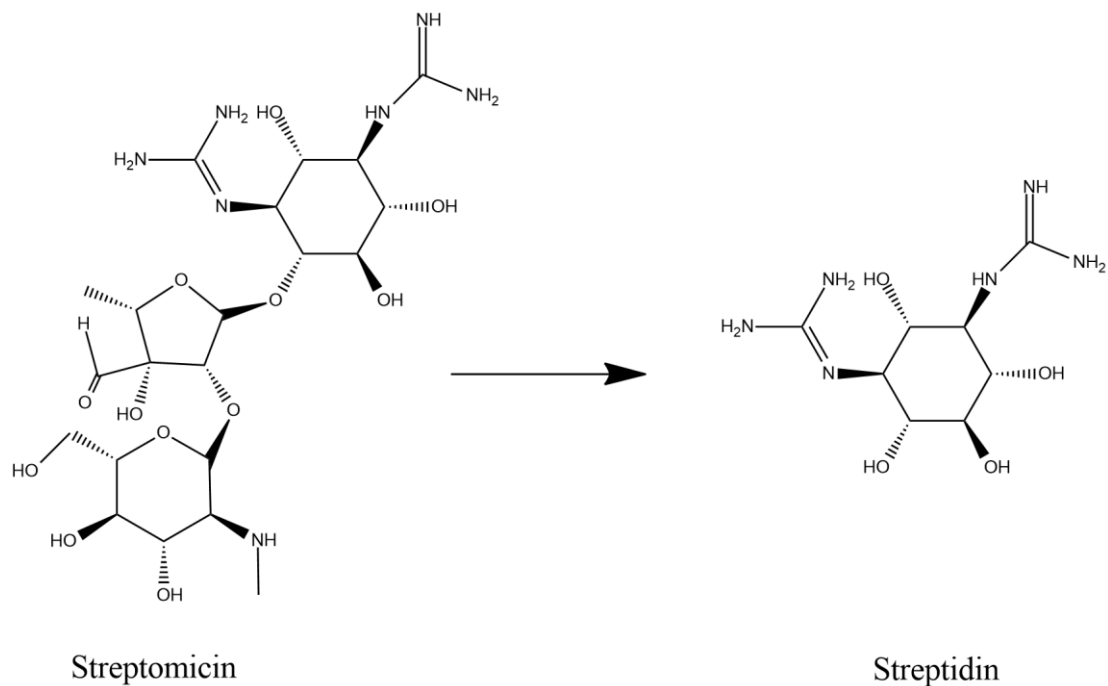


Slika 3. Mehanizam ototoksičnosti aminoglikozida (Preuzeto i prilagođeno prema Forge i Schacht, 2000)

Toksičnost streptomicina

S obzirom na odgođeni i postupni početak vestibularnih simptoma (povezanih s ravnotežom i prostornom orijentacijom), pretpostavljeno je da bi metabolit streptomicina, potencijalno streptidin, mogao biti stvarni uzročnik oštećenja unutarnjeg uha. Istraživanja su provedena na štakorima koji su bili podvrgnuti kroničnom tretmanu streptomycinom ili streptidinom. Prisutnost tih tvari u krvi analizirana je korištenjem tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC). Oštećenje vestibularnog sustava procijenjeno je kroz sposobnost plivanja štakora, ali i kroz histološki pregled. Nakon 25, 35 i 45 dana tretmana

streptomycinom, u krvi štakora pronađen je metabolit streptidin. Sam streptomycin nije bio otkriven. Koncentracije streptidina povećavale su se tijekom vremena kako kod štakora tretiranih streptomycinom, tako i kod štakora tretiranih streptidinom. Abnormalni obrasci plivanja i histološke promjene u vestibularnom sustavu uočene su kod štakora tretiranih streptomycinom, isto kao i kod štakora tretiranih streptidinom. Gubitak senzornih stanica bio je usporediv, unatoč tome što je streptidin primijenjen u dozi 90% nižoj od streptomicina. Postupno pojavljivanje streptidina u krvi štakora tijekom tretmana streptomycinom, zajedno sa sličnim oštećenjem vestibularnog sustava uočenim kod štakora tretiranih ili streptomycinom ili streptidinom samim, sugerira da streptidin zaista je metabolit streptomicina koji nastaje njegovom hidrolizom te da može doprinijeti ototoksičnosti nakon dugotrajne primjene antibiotika (Slika 4) (Granados i Meza, 2005).



Slika 4. Hidroliza streptomicina

Dokazano je da se oslobađanje streptidina hidrolizom odvija i u serumu pacijenta nakon dulje primjene streptomicina te da mu se koncentracija može pratiti tijekom vremena. Štetno djelovanje oba spoja ovisi o broju dana liječenja streptomycinom, a neki pacijenti su skloni pokazivati samo simptome oštećenja vestibularnog aparata, dok drugi pokazuju oštećenja u procesima sluha, pri čemu se čini da streptomycin i streptidin djeluju zajedno (Torres-Ruiz i sur., 2011; Granados i Meza, 2006).

Ototoksičnost

Ototoksičnost uzrokovana aminoglikozidima može biti kohlearna, što se očituje gubitkom sluha visokih frekvencija i karakteristična je za kanamicin, amikacin, neomicin i paromomicin, ili vestibularna, koja se manifestira gubitkom ravnoteže, vrtoglavicom, mučninom, nistagmusom i povraćanjem, a povezana je s uporabom gentamicina, tobramicina i streptomicina (Barza i Scheife, 1977). Faktori rizika za pojavu ototoksičnosti uključuju terapiju dulju od 10 dana, prethodno oštećenje bubrega, ranije liječenje aminoglikozidima te genetske mutacije na mitohondrijskom genu 12S ribosomske RNA. Istodobna primjena etakrinske kiseline, furosemida ili drugih diuretika Henleove petlje tijekom aminoglikozidne terapije može uzrokovati iznenadan i ozbiljan gubitak sluha (Rybak i Brenner, 2015). Mehanizam toksičnosti temelji se na prethodno spomenutoj produkciji reaktivnih kisikovih vrsta (ROS) u prisutnosti aminoglikozida i željeza, što dovodi do oštećenja osjetnih stanica pužnice i vestibularnog aparata (Poulikakos i Falagas, 2013).

Nefrotoksičnost

Nefrotoksičnost uzrokovana aminoglikozidima javlja se kod oko 25% pacijenata i manifestira se putem tri osnovna mehanizma: smanjenjem glomerularne filtracije, smanjenim protokom krvi kroz bubrege te izazivanjem tubularne toksičnosti kao najznačajnijim. U proksimalnom tubulu nefrona, aminoglikozidi se ukoncentriraju u lizosomima, Golgijevom tijelu i endoplazmatskom retikulumu te, kada postignu određeni koncentracijski prag, oslobađaju se u citosol, uzrokujući apoptozu i nekrozu mitohondrija. Također inhibiraju niz transportera, što negativno utječe na tubularnu reapsorpciju i održivost stanica. Rani znakovi oštećenja uključuju povećano izlučivanje kalcija, magnezija, proteina i drugih organskih aniona u urinu, što ponekad dovodi do hipokalcemije, hipomagnezemije i proteinurije. Daljnjim napredovanjem oštećenja može doći do povećanog izlučivanja kalija i natrija te porasta razine kreatinina u serumu (Wargo i sur., 2014). Čimbenici rizika uključuju stariju dob, prethodno smanjenu bubrežnu funkciju, dehidraciju, istovremenu primjenu nefrotoksičnih lijekova, kontrastne medije, diuretike i dugotrajnu terapiju aminoglikozidima (Poulikakos i Falagas, 2013).

4.2. Tetraciklini

4.2.1. Uporaba i opća svojstva

Tetraciklini, uključujući glicilcikline, predstavljaju veliku skupinu antibakterijskih lijekova. Prvi otkriveni spoj iz obitelji tetraciklina bio je klortetraciklin, nazvan još i aureomicin zbog zlatne boje soja, *Streptomyces aureofaciens*, iz kojeg je izoliran (Nguyen i sur., 2013). U odnosu na prethodno otkrivene peniciline, pokazao je brojne prednosti uključujući širi spektar djelovanja (posebno protiv gram-negativnih organizama) i bolju podnošljivost kod pacijenata. Ubrzo nakon toga, izolirani su i drugi prirodni tetraciklini, uključujući tetraciklin, po kojem obitelj ovih lijekova nosi ime. Daljnje modifikacije izvornih prirodnih tetraciklina dovela su do sinteze spojeva s većom lipofilnošću, boljom oralnom farmakokinetikom i većom potentnošću kao što su doksiciklin i minociklin. Pojava otpornosti na lijekove kod određenih bakterijskih sojeva dovela je do razvoja nove klase antimikrobnih lijekova – glicilciklina, od kojih je trenutno jedini odobreni tigecklin (Bahrami i sur., 2012). U slučaju kada prva linija terapije zakaže, pokazao se kao vrijedna terapijska opcija. Pruža novu mogućnost liječenja za pacijente alergične na penicilin ili pacijente s netolerancijom na druge antimikrobne agense. Trenutno je tigecklin indiciran samo za liječenje kompliciranih infekcija kože, kožnih struktura te intraabdominalnih infekcija (Kasbekar, 2006).

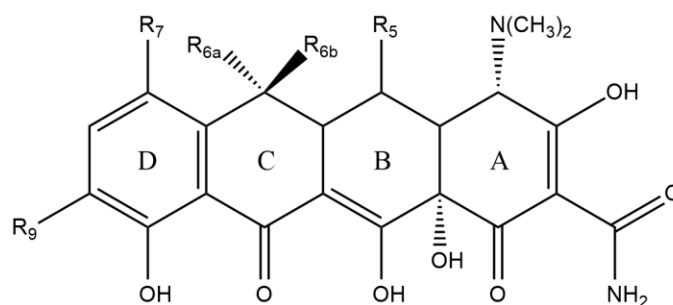
Ovi su lijekovi svoju primjenu našli u borbi protiv gram pozitivnih, ali i gram negativnih bakterija, intracelularnih patogena, infekcija klamidijom, rikecijom, mikoplazmama te u svladavanju eukariotskih parazita uključujući plazmodij malarije. Novije studije su izvijestile o protuupalnim, imunomodulacijskim i neuroprotektivnim učincima ovih spojeva što je otvorilo niz mogućnosti za daljnjom upotrebom u liječenju raznovrsnih bolesti uključujući dermatološke i neurodegenerativne bolesti, reumatoidni artritis te karcinom (Nelson i Levy, 2011; Zakeri i Wright, 2008).

4.2.2. Struktura i klasifikacija

Općenito, tetraciklini se na temelju svojih farmakokinetičkih i antibakterijskih svojstava mogu podijeliti u tri skupine. Prva skupina obuhvaća starije agense čija je lipofilnost i apsorpcija manja u odnosu na agense ostalih skupina, a to su: tetraciklin, oksitetraciklin, klortetraciklin, demeklociklin, limeciklin, metaciklin i rolitetraciklin. Drugu skupinu karakterizira poboljšanje prethodno navedenih svojstava, a tu pripadaju: doksiciklin i minociklin, dok u treću skupinu ubrajamo najnovije agense, vrlo aktivne u borbi protiv bakterija sa stečenom

rezistencijom na tetracikline, kao što su omadaciklin i eravaciklin, ali i tigeciklin (Nguyen i sur., 2014; Agwuh i MacGowan, 2006).

Osnovu molekule tetraciklina čini linearno spojena tetraciklička jezgra na koju je pričvršćeno niz funkcionalnih skupina (Slika 5). Najjednostavniji tetraciklin koji pokazuje detektabilnu antibakterijsku aktivnost je 6-deoksi-6-demiltetraciklin pa se ova struktura može smatrati minimalnim farmakoforom (Bahrami i sur., 2012). Za antibakterijsku učinkovitost važni dijelovi u strukturi su četiri linearno povezana prstena, C4 dimetilamino skupina koja je ključna za vezanje na ribosom, diketo podstruktura u prstenu A kao i keto-enolna struktura u blizini fenolnog D prstena. Na položajima od C5 do C9 toleriraju se različiti supstituenti, a upravo njihove razlike dovode do derivata s različitom antibakterijskom aktivnošću (Fuoco, 2012). Iako molekula tigeciklina nalikuje molekuli minociklina, razlikuje se u dodatku tert-butil-glicilamidne skupine na poziciji D-9. Ova zamjena pruža tigeciklinu steričku zaštitu stoga on zaobilazi mehanizame rezistencije poput efluks pumpi i ribosomske zaštite.



Naziv spoja	R ₅	R _{6a}	R _{6b}	R ₇	R ₉
Tigeciklin	H	H	H	H	NHCOCH ₂ NHC(CH ₃) ₃
Minociklin	H	H	H	N(CH ₃) ₂	H
Doksiciklin	OH	CH ₃	H	H	H
Tetraciklin	H	CH ₃	OH	H	H
Klortetraciklin	H	CH ₃	OH	Cl	H

Slika 5. Kemijske strukture tetraciklina (Preuzeto i prilagođeno prema Bahrami i sur., 2012)

4.2.3. Mehanizam djelovanja i rezistencije

Da bi uopće prošli kroz vanjsku membranu gram-negativnih bakterija, tetraciklini koriste OmpF i OmpC porinske kanale. Smatra se da kroz njih prolaze u obliku pozitivno nabijenih kationskih kompleksa, a radi se najvjerojatnije o magnezijevim kompleksima. Kao takvi, privučeni su Donnanovim potencijalom preko vanjske membrane, što dovodi do nakupljanja u periplazmi. Tamo metal-ion-tetraciklinski kompleks disocira kako bi oslobodio neutralni tetraciklin kao slabo lipofilnu molekulu sposobnu za difuziju kroz lipidne slojeve unutarnje citoplazmatske membrane. Slično tome, pretpostavlja se da je elektroneutralni, lipofilni oblik onaj koji se prenosi preko citoplazmatske membrane gram-pozitivnih bakterija (Nguyen i sur., 2014).

Unos tetraciklina preko citoplazmatske membrane ovisi o energiji, a pokreće ga pH komponenta proton motorne sile. Osim toga, uzrokuju promjene u citoplazmatskoj membrani, čime utječu na izlazak nukleotida i drugih spojeva iz bakterijske stanice (Bahrami i sur., 2012). Njihov glavni učinak je inhibicija sinteze bakterijskih proteina reverzibilnim vezanjem za 30S podjedinicu bakterijskog ribosoma, točnije Tet1 kao primarnog mjesta vezanja te nekoliko sekundarnih mjesta vezanja, poput Tet2. Time blokiraju vezanje aminoacil-tRNA na ribosomski kompleks, sprječavajući dodavanje novih aminokiselina u rastući peptidni lanac stanice. Ovaj proces inhibira rast i daljnju replikaciju stanica, ali ih ne ubija, što objašnjava bakteriostatski učinak (Tayibe, 2021).

Opisana su 4 glavna mehanizma pomoću kojih bakterija stječe rezistenciju na tetracikline. Najznačajniji mehanizam podrazumijeva smanjenje unutarstanične koncentracije tetraciklina zbog izbacivanja putem efluks (izbacivačkih) pumpi (Zakeri i Wright, 2008). Sljedeći mehanizam po važnosti obuhvaća djelovanje ribosomskih zaštitnih proteina (RPP) koji ometaju interakciju između tetraciklina i ribosoma. Opisano je 12 klasa RPP-ova od kojih su najistaknutiji Tet(O) i Tet(M) (Nguyen i sur., 2014). Preostala dva mehanizma uključuju inaktivaciju lijeka mono-hidroksilacijom te mutacije unutar 16S rRNA koje smanjuju afinitet vezanja lijeka za ribosom (Bahrami i sur., 2012).

4.2.4. Farmakokinetika

Apsorpcija i put primjene tetraciklina

Većina tetraciklina dostupna je u širokom rasponu oblika za oralnu i parenteralnu, a rjeđe topikalnu primjenu. Oralna apsorpcija tetraciklina prve skupine varira između 25-60%, a

dogđa se u želucu i proksimalnom dijelu tankog crijeva. S druge strane, apsorpcija doksiciklina i minociklina gotovo je potpuna i iznosi oko 95%. Budući da lako formiraju kelate s metalnim ionima poput Fe^{3+} , Al^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} i Mn^{2+} , takvi novonastali kompleksi dovode do smanjenja bioraspoloživosti lijeka jer se ne mogu apsorbirati. Na smanjenje apsorpcije utječe i konzumacija mlijeka i mliječnih proizvoda zbog sadržaja kalcija i magnezija, istovremena primjena gelova aluminijevog hidroksida, natrijevog bikarbonata, kalcijevih i magnezijevih soli te preparata željeza. Hrana također smanjuje apsorpciju stoga se preporuča odvajanje ovih lijekova od obroka (del Castillo, 2013; Maritim, 1985).

Distribucija tetraciklina

Općenito, tetraciklini dobro prodiru u tkiva i tjelesne tekućine. Distribucija im je najveća u bogato prokrvljenim organima: bubrezi > jetra \geq pluća > krv = sinovija > mišići, a volumen distribucije tetraciklina veći je od volumena ukupne tjelesne vode, dijelom zbog vezanja za proteine plazme. Budući da su supstrati P-glikoproteina, tetraciklini teško prelaze krvno-moždanu barijeru, a brzina prijelaza ovisi o njihovoj topljivosti u lipidima (minociklin>doksiciklin>tetraciklin). Dostupni dokazi sugeriraju da minociklin ima veću sposobnost prodiranja kroz stanične barijere od ostalih tetraciklina, zbog postizanja veće koncentracije u teško dostupnim tekućinama kao što su suze i tekućina prostate. Tetraciklini su među malobrojnim lijekovima koji imaju afinitet za odlaganje u kostima. Njihova svojstva keliranja multivalentnih kationa uzrokuju njihovo taloženje u zubima i na mjestima stvaranja nove kosti što dovodi do toksikoloških posljedica. Ovi lijekovi također prolaze posteljicu do fetusa i izlučuju se u mlijeko, gdje dosežu koncentracije približno jednake onima u serumu (Smilack, 1999; Neuvonen, 1976).

Eliminacija tetraciklina

Tetraciklini se izlučuju glomerularnom filtracijom, bilijarnom sekrecijom u mjeri koja ovisi o njihovoj topljivosti u lipidima te crijevnim izlučivanjem putem P-gp. Temeljni mehanizam izlučivanja ipak je glomerularna filtracija, stoga oslabljena bubrežna funkcija može povećati njihov poluvijek eliminacije. Tetraciklin i doksiciklin imaju značajno bubrežno izlučivanje, s koncentracijama aktivnog lijeka u mokraći u rasponu od 40% do 60%. Suprotno tome, minociklin postiže minimalne aktivne koncentracije u mokraći (5–15%) jer se uglavnom reapsorbira zbog visoke topljivosti u lipidima. Osim toga, tetraciklini prolaze kroz enterohepatičku cirkulaciju, pri čemu se značajan dio lijeka izlučenog u žuč ponovno apsorbira iz crijeva. Ovaj proces doprinosi poluvijeku od 6 do 10 sati, što je neobično dugo za

lijekove koji se uglavnom eliminiraju putem bubrega (del Castillo, 2013; Agwuh i MacGowan, 2006).

Apsorpcija i put primjene tigeciklina

Za razliku od tetraciklina, tigeciklin postoji samo u obliku intravenske formulacije zbog ograničene oralne bioraspoloživosti. Učinak hrane na apsorpciju ispitivan je u studiji s rastućim jednokratnim dozama, pri čemu su doze tigeciklina davane i natašte i nakon obroka. Pacijenti natašte mogli su tolerirati samo dozu od 100 mg, dok su pacijenti koji su konzumirali hranu pokazali toleranciju na dozu od 200 mg. Povećanje doze bilo je ograničeno na 300 mg zbog nepodnošljivih gastrointestinalnih nuspojava, koje su se učestalije javljale s povećanjem doze. Preporučena doza tigeciklina je početna doza od 100 mg intravenski, a nastavlja se s 50 mg intravenski svakih 12 sati, primijenjenih kao infuzija tijekom 30 do 60 minuta. Nema potrebe za prilagodbom doze kod pacijenata s bubrežnom disfunkcijom ili blagom do umjerenom jetrenom disfunkcijom. Međutim, kod teškog oštećenja jetre (Child-Pugh klasa C), preporučuje se prepoloviti uobičajenu dnevnu dozu (Kasbekar, 2006; Meagher i sur., 2005).

Distribucija tigeciklina

Tigeciklin se brzo i opsežno distribuira u tjelesna tkiva što pokazuje i njegov volumen distribucije koji u stanju ravnoteže iznosi 7–10 L/kg. Studija distribucije radioaktivno obilježenog [¹⁴C] tigeciklina u tkivu štakora potvrdila je da se lijek opsežno distribuira u kosti, jetru, slezenu i bubrege. U tim tkivima, izloženost tigeciklinu, mjereno kao AUC, bila je više od osam puta veća nego u plazmi. Koncentracije su tjedan dana nakon doziranja i dalje bile detektabilne, a sam poluvijek ($t_{1/2}$) u kostima procijenjen je na više od 200 sati. Izloženost lijeku također je bila značajna u koži i plućima, s AUC vrijednostima otprilike tri do četiri puta većim od onih u plazmi. Unatoč visokim koncentracijama u tkivima, koncentracije u serumu mogu značajno podcijeniti ukupnu izloženost lijeku na stvarnom mjestu infekcije (Peterson, 2008).

Eliminacija tigeciklina

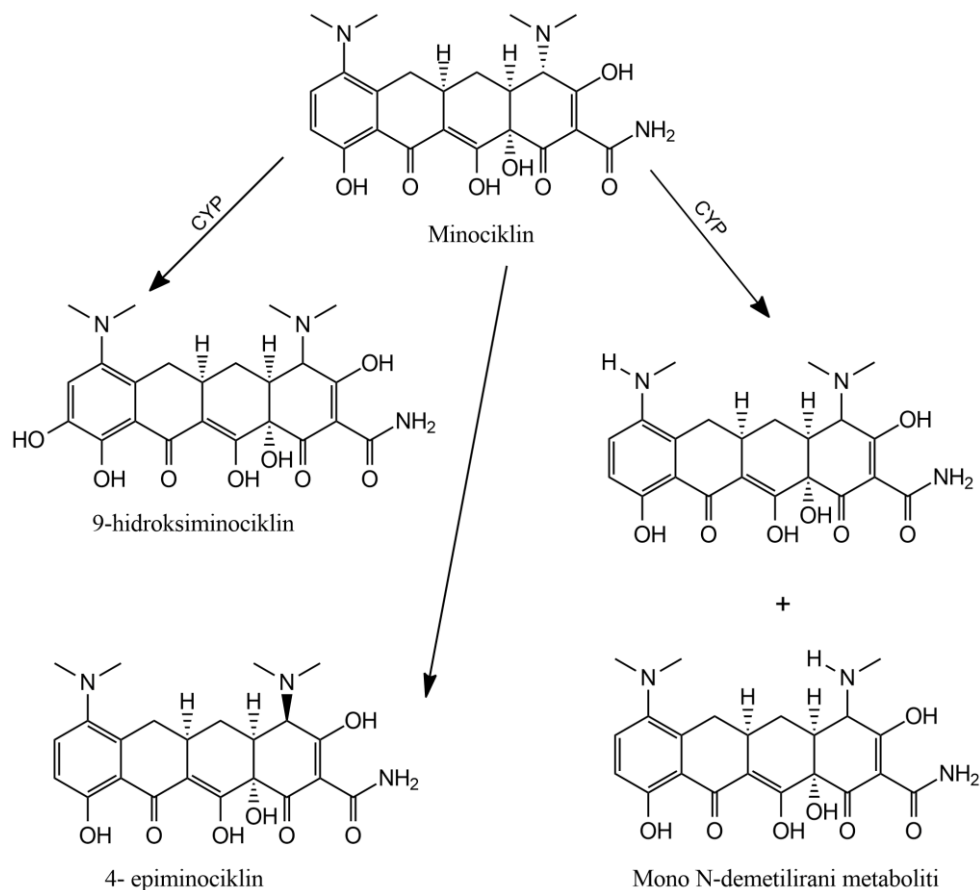
Tigeciklin ima dugo poluvrijeme života od otprilike 40 sati. Ukupno 59% doze tigeciklina izlučuje se bilijarno ili fekalno, 32% se izlučuje putem bubrega, a 22% se izlučuje kao nepromijenjeni lijek u urinu (Agwuh i MacGowan, 2006).

4.2.5. Metabolizam

Tetraciklini djelomično podliježu metabolizmu u jetri, a to uglavnom uključuje oksidacijske reakcije posredovane mikrosomskim enzimima jetre, posebno enzimima citokrom P450. Nelis i De Leenheer opisali su formiranje 9-hidroksi derivata i N-demetil derivata minociklina kod ljudi, a Boecker formiranje N-demetil derivata doksiciklina kod ljudi, miševa i štakora. Kuehne je pronašao izoklorotetraciklin (ICTC) kao metabolit klortetraciklina (CTC) u mesu teladi. Kennedyjeva studija, koristeći HPLC, otkrila je 4-epi-ICTC i ICTC kao glavne metabolite CTC-a u cijelom jajetu dok su Zurhelle i suradnici u svojem istraživanju analizirali uzorke jaja pomoću automatiziranog HPLC sustava s UV, fluorescentnom ili MS-MS detekcijom kako bi ispitali prisutnost tetraciklina i njihovih metabolita. Rezultati istraživanja dokazali su 4-epioksitetraciklin i N-demetiloksitetraciklin, kao metabolite oksitetraciklina (OTC), 4-epitetraciklin i N-demiltetraciklin, kao metabolite tetraciklina (TC), te 4-epiklorotetraciklin, izoklorotetraciklin, 4-epi-izoklorotetraciklin i N-demetil-izoklorotetraciklin, kao metabolite klortetraciklina, u žumanjku i plazmi dobivenima iz studija hranjenja s OTC, TC ili CTC. U bjelanjku jajeta, u značajnim koncentracijama su otkriveni samo OTC, TC sa svojim 4-epimerom i ICTC sa svojim 4-epimerom. Ipak, pokazano je da se od svih tetraciklina najznačajnije metaboliziraju minociklin i tigeckiklin što je prikazano u nastavku (Slike 6, 7 i 8) (Zurhelle i sur., 2000; Kennedy i sur., 1998).

Metabolizam minociklina

Minociklin je podložan oksido-reduktivnim reakcijama stoga ima razne metabolite; do šest ih je opisano, od kojih neki posjeduju antibakterijsko djelovanje i detektirani su u urinu. Glavni metabolit je 9-hidroksiminociklin, koji je pokazao rezidualnu mikrobiološku aktivnost od 12-15% u usporedbi s izvornim lijekom. Druga dva po važnosti su mono-N-demetilirani derivati, a s obzirom da se demetilacija odvija na položaju C4, takvi derivati gube mikrobiološku aktivnost (Böcker i sur., 1991). Epimerizacija minociklina također rezultira stvaranjem 4-epiminociklina (Agwuh i MacGowan, 2006; Neils i Leenheer, 1982).

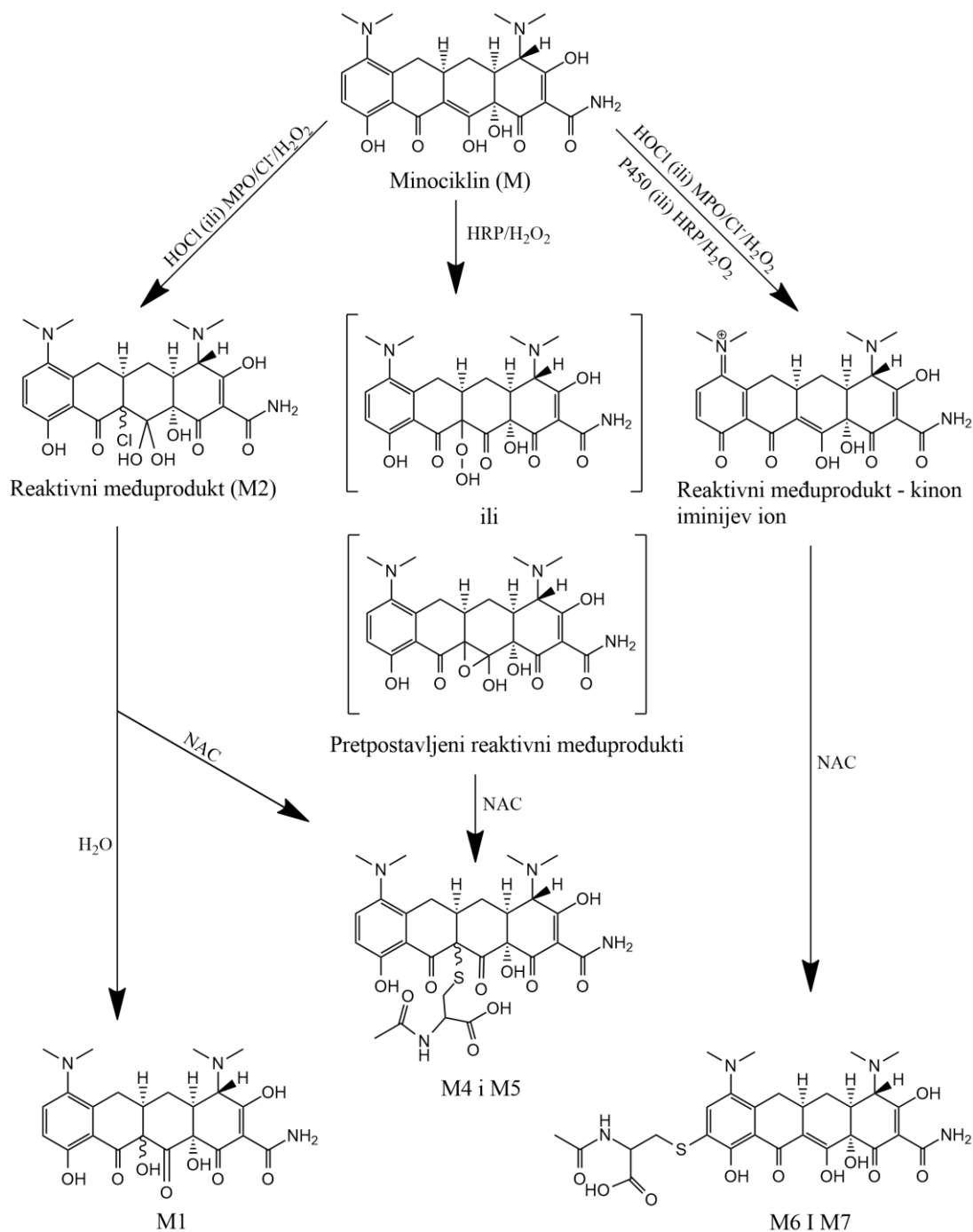


Slika 6. Reakcije biotransformacije minociklina

Od svih tetraciklina, minociklin je jedinstven po tome što uzrokuje značajnu učestalost sindroma sličnog lupusu i autoimunog hepatitisa. Mnogi lijekovi koji uzrokuju autoimune reakcije oksidiraju se do reaktivnih metabolita putem sustava mijeloperoksidaze (MPO) makrofaga. Praćena je oksidacija minociklina do reaktivnih intermedijera pomoću MPO/H₂O₂/Cl⁻, HOCl, hrenove peroksidaze/H₂O₂ ili jetrenih mikrosoma.

Jedan od tih intermedijera može se identificirati korištenjem LC/MS tehnologije i ima kemijsku formulu minociklin + HOCl (M2). Struktura produkta nastalog reakcijom s NAC (M5) ukazuju na to da se HOCl dodaje na C11a-C12 dvostruku vezu. Iznenadujuće je da analogni NAC adukt nije bio opažen kada je tetraciklin oksidiran pomoću HOCl nakon čega je dodan NAC, iako je ovaj dio strukture tetraciklina isti. S obzirom na to da HRP ne formira HOCl, M2 nije bio opažen. Međutim, reaktivni metabolit formiran pomoću HRP također je formirao M5 u reakciji s NAC. Pretpostavlja se da bi reaktivni metabolit u ovom slučaju mogao biti peroksi keton ili epoksid. Produkt nastao reakcijom s NAC (M6) ukazuje na to da je treći reaktivni međuprodukt vjerojatno kinon iminijev ion nastao oksidacijom prstena D.

Jedini produkt nastao pomoću hepatocita, M6, ujedno je bio i glavni adukt nastao nakon oksidacije pomoću HRP. U malim količinama nastao je i pomoću MPO i HOCl. Uočena je i mala količina izomernih NAC adukata (M4 i M5) te se pretpostavlja da ovi izomeri predstavljaju diastereomere nastale sporom epimerizacijom M5 i M6, najvjerojatnije na C4 (Slika 7).



Slika 7. Rekcije biotransformacije minociklina (Preuzeto i prilagođeno prema Mannargudi i sur., 2009)

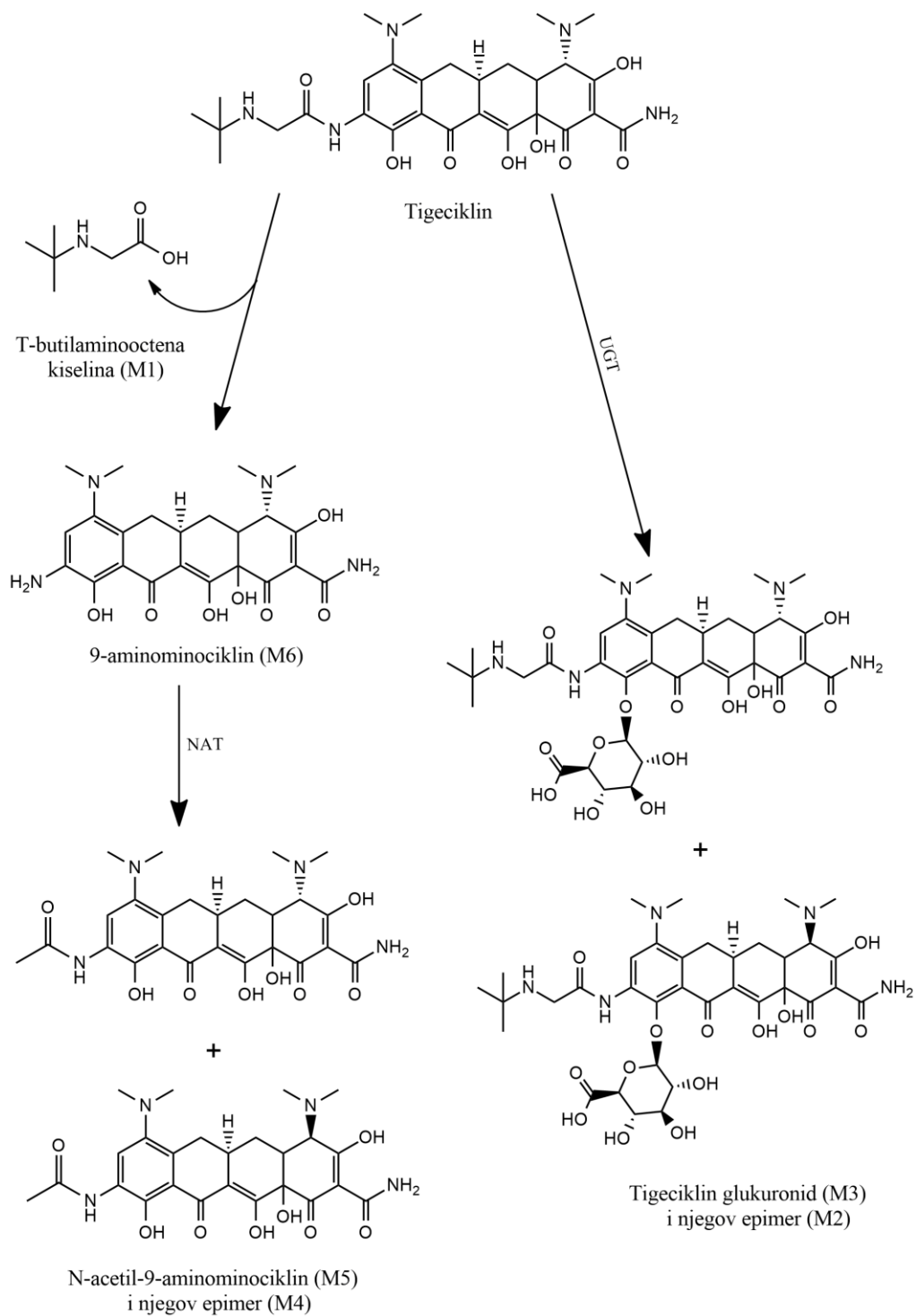
Ovi rezultati pružaju vjerojatno objašnjenje zašto je minociklin jedini tetraciklin koji uzrokuje sindrom sličan lupusu i autoimuni hepatitis. Poznato je da mnogi lijekovi koji uzrokuju autoimune sindrome oksidacijom prelaze u reaktivne metabolite pomoću MPO makrofaga, a s tim se obrascem slaže upravo i minociklin. Ipak, iz ovih istraživanja nije moguće jasno utvrditi koji je reaktivni metabolit ključan niti je li njegovo formiranje putem P450 ili MPO-a odgovorno za idiosinkratične reakcije povezane s minociklinom (Mannargudi i sur., 2009).

Metabolizam tigeciklina

Koristeći radioaktivno obilježen tigeciklin, objašnjen je njegov metabolizam u ljudima (Slika 8). Nakon intravenske primjene tigeciklina, najzastupljenija radioobilježena komponenta u serumu, fecesu i urinu bio je upravo nepromijenjeni lijek. Epimer tigeciklina također je bio prisutan u svakom uzorku, a činio je oko 5 do 10% ukupne radioaktivnosti u serumu, urinu i fecesu. Ipak, smatra se da je epimer tigeciklina zapravo njegov razgradni produkt, a ne metabolit, jer je nastao i u slučaju kada je tigeciklin inkubiran u kontrolnom ljudskom serumu i urinu na 37°C.

Tigeciklin glukuronid opažen je u urinu, a njegov epimer još i u serumu i fecesu te su zajedno činili 15% radioaktivnosti u serumu, a gotovo 10% doze izlučeno je kao glukuronidni konjugati unutar 48 sati od doziranja.

U svakom biološkom uzorku kao metabolit bila je prisutna t-butilaminooctena kiselina čineći do 20% radioaktivnosti u serumu, a 8% doze je izlučeno u tom obliku. Metabolizam tigeciklina također je doveo do stvaranja 9-aminominociklina putem hidrolize amida t-butilaminoacetilamino grupe. Međutim, samo su njegovi tragovi detektirani u serumu i urinu zbog toga što se veliki dio dalje metabolizira putem N-acetilacije do N-acetil-9-aminominociklina i njegovog epimera. 9-aminominociklin, kao i njegov acetilirani produkt pokazali su antibakterijsku aktivnost in vitro, premda je ona manja od tigeciklina, a isto tako i učinkovita protiv užeg spektra infektivnih organizama. Epimerizacija na poziciji C-4 u tigeciklinu i strukturalno sličnim antibioticima značajno smanjuje aktivnost stoga epimer N-acetil-9-aminiminociklina nije testiran na antibakterijsku aktivnost (Hoffman i sur., 2007).



Slika 8. Reakcije biotransformacije tigeciklina (Preuzeto i prilagođeno prema Hoffmann i sur., 2007)

4.3. Azoli

Incidencija teških gljivičnih infekcija u porastu je posljednjih par desetljeća, uglavnom zbog značajnog povećanja broja imunokompromitiranih pacijenata. Osim toga, uzočnici gljivičnih infekcija sve su češće sojevi otporni na lijekove, posebno članovi roda *Candida*, kao što su *Candida albicans* i *Candida glabrata*, koji su najčešće prisutni gljivični patogeni. Nažalost, prevencija i liječenje gljivičnih infekcija oslanjaju se na vrlo ograničen broj lijekova, a među njima su i azolni antifungalni lijekovi kao najčešće korištena prva linija liječenja površinskih, ali i invazivnih gljivičnih infekcija širom svijeta (Elias i sur., 2019).

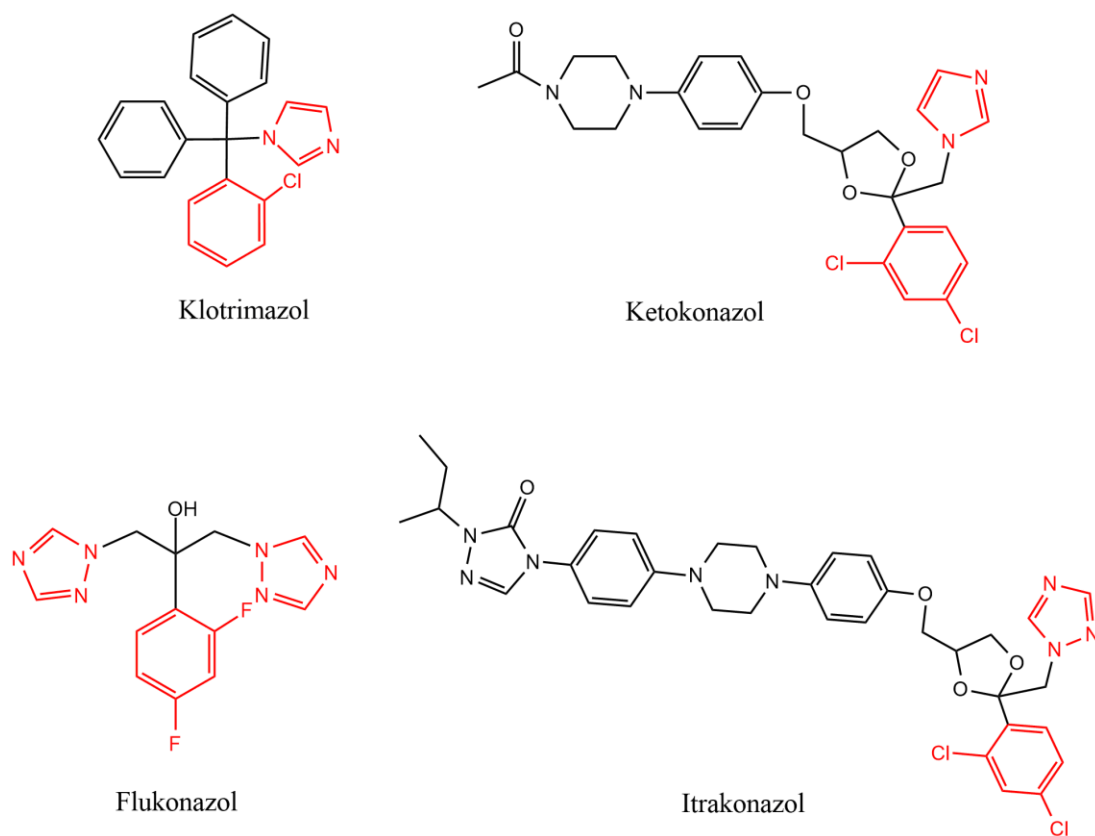
4.3.1. Uporaba i opća svojstva

Azoli su sintetski i polusintetski spojevi širokog spektra djelovanja, a svoj učinak ostvaruju inhibicijom biosinteze ergosterola (Degreef i sur., 2006). Prvi azoli, imidazoli (klotrimazol i mikonazol), stavljeni su na tržište 1969. godine kao topikalne alternative grizeofulvinu i nistatinu za kožne i mukokutane infekcije uzrokovane dermatofitima i vrstama *Candida spp.* Kao odgovor na potrebu za oralnim alternativama za liječenje, istraživana je i sistemska upotreba imidazola. Ketokonazol se u tom slučaju pokazao kao vrijedna terapijska opcija 1980.-ih kao prvi oralni azol. Unatoč učinkovitim rezultatima u liječenju određenih infekcija, nuspojave poput hepatotoksičnosti, hormonskih poremećaja i značajnih interakcija s lijekovima, ograničile su njegovu primjenu. Uz to, razvoj triazola poput flukonazola i itrakonazola doveo je do smanjenja njegove uporabe. Danas, topikalne forme ketokonazola i ostalih imidazola ostaju ključne u liječenju površinskih gljivičnih infekcija (Allen i sur., 2015; Sheehan i sur., 1999).

Triazoli se uglavnom koriste za sistemske infekcije zbog većeg afiniteta za gljivične enzime u usporedbi s enzimima sisavaca, što ih čini sigurnijima za sistemsku primjenu od imidazola. Jedan od najčešće korištenih triazola je flukonazol, oralno i intravenski bioraspoloživi agens učinkovit protiv širokog spektra infekcija uzrokovanih vrstama roda *Candida*. Prvi komercijalno dostupni oralno bioraspoloživi triazol koji djeluje ne samo na *Candidu*, već i na vrste roda *Aspergillus*, bio je itrakonazol (Yang i sur., 2008). Novi agensi poput posakonazola i vorikonazola razvijeni su kako bi prevladali ograničenu učinkovitost flukonazola protiv *Aspergillus*a i drugih plijesni, ali i s ciljem poboljšanja apsorpcije, podnošljivosti i profila interakcija itrakonazola. Vorikonazol je strukturno sličan flukonazolu, a posakonazol itrakonazolu (Zonios i Bennett, 2008).

4.3.2. Struktura i klasifikacija

Strukturno gledano, azoli su vrlo promjenjivi, no dva su ključna dijela u strukturi prisutna u svim azolima – peteročlani prsten koji sadržava dušik (imidazol ili triazol) te halogenirani benzenski prsten, oboje odvojeni s jednim ili više ugljikovih atoma i dodatnim bočnim lancima (Slika 9). Zanimljivo je da su ova dva dijela molekule ključna za unos azola u stanice, ali i za vezanje u aktivno mjesto. Ostatak molekule razlikuje se među azolima, ali jedinstvena struktura svakog azola određuje antifungalna svojstva lijeka i njegovu selektivnost među različitim vrstama gljiva (Zavrel i White, 2015). Prisutnost peteročlanog aromatskog prstena omogućila je podjelu azola u dvije velike skupine na temelju broja dušikovih atoma u istom: derivate imidazola koji sadržavaju dva dušikova atoma i u koje ubrajamo: ketokonazol, klotrimazol, mikonazol i izokonazol te derivate triazola koji u svom prstenu imaju tri atoma dušika. U potonje pripadaju: itrakonazol, flukonazol, vorikonazol i posakonazol (Assress i sur., 2021).



Slika 9. Prikaz strukture pojedinih imidazola i triazola (Preuzeto i prilagođeno prema Emami i sur., 2022)

4.3.3. Mehanizam djelovanja i rezistencije

Iako su interakcije azola s ciljnim enzimom i izbacivanje azola iz stanice dobro poznati mehanizmi, njihov ulazak u stanicu nedavno je okarakteriziran. Taj je proces unosa primarno proučavan kod *Candida albicans* te se odvija olakšanom difuzijom preko koncentracijskog gradijenta lijeka, uz pomoć još neotkrivenog transportera. Neovisan o pH ili izvoru energije s vremenom postaje zasićen. Preferirani uvjeti za unos uključuju temperaturu od 30°C i stanice uzete iz kultura koje su rasle eksponencijalno i/ili anaerobno. Hife također pokazuju više stope unosa nego stanice kvasaca. Svi analizirani azoli do danas koriste isti transportni mehanizam, a unos ovisi isključivo o njihovoj kemijskoj strukturi, točnije prisutstvu peteročlanog prstena i halogeniranog benzenskog prstena blisko pozicioniranih unutar jedne molekule (Zavrel i White, 2015). Azoli ostvaruju svoj učinak inhibicijom 14 α -demetilaze (CYP51A1) kodirane ERG11 genom, koja katalizira biosintezu ergosterola (Assres i sur., 2021). Budući da je ergosterol dio stanične membrane gljiva, inhibicijom njegove sinteze dolazi do narušavanja fluidnosti i integriteta membrane te nakupljanja lanosterola i drugih 14-metiliranih sterola. Krajnji učinak je inhibicija rasta i replikacije gljiva. Osim toga, zabilježen je niz sekundarnih učinaka, kao što su inhibicija morfogenetske transformacije kvasaca u micelijski oblik, smanjena adhezija gljiva i izravni toksični učinci na fosfolipide membrane (Shafiei i sur., 2020). Triazoli također sekundarno ciljaju druge korake na putu biosinteze ergosterola. Primjerice, u slučaju *C. albicans* osjetljivih na flukonazol, koji samo djelomično inhibira sintezu ergosterola, ali potpuno blokira sintezu obtusifoliola; ključnog intermedijera u biosintezi ergosterola, vorikonazol potpuno inhibira sintezu obje komponente. Itrakonazol i flukonazol također mogu inhibirati 3-ketoreduktazu, čija je uloga katalizacija redukcije 3-ketosteroida obtusifoliona u obtusifoliol kod *Cryptococcus neoformans* (Gavarkar i sur., 2013).

U prošlosti je otpornost na azole uglavnom bila ograničena na pacijente koji su bili izloženi dugotrajnoj terapiji. U posljednje vrijeme, otpornost na azole sve se češće izvještava kod pacijenata koji prethodno nisu bili izloženi, što se smatra posljedicom korištenja azola kako u kliničkim tako i u poljoprivrednim okruženjima, te izravno doprinosi terapijskom neuspjehu. Jedan od najčešćih mehanizama otpornosti na azole uključuje modifikaciju ciljnog gena ERG11, zaslužnog za kodiranje CYP51A. Posljedično, pojedinačne točkaste mutacije u genu uzrokuju zamjenu aminokiselina unutar CYP51A proteina te prisutnost takvih mutacija može promijeniti strukturu, stabilnost i funkcionalnost CYP51A, čime se otežava prepoznavanje

supstrata i smanjuje afinitet prema azolima (Pérez-Cantero i sur., 2020). Ostali mehanizmi uključuju: smanjen unos azola u stanicu odnosno pojačano izbacivanje putem efflux pumpi, pojačanu ekspresiju ciljnog enzima, smanjenje biosinteze ergosterola zbog uvoza egzogenog sterola iz domaćina, formiranje biofilma, odgovor na stanični stres, enzimsku razgradnju lijeka i aktivaciju alternativnih puteva kako bi se zaobišli učinci lijeka (Assress i sur., 2021).

4.3.4. Farmakokinetika

Apsorpcija

Kemijski gledano, ketokonazol i itrakonazol su slabe baze, koje ioniziraju samo pri niskom pH. Stoga, otapanje i apsorpcija ovih spojeva uvelike ovise o kiselim uvjetima u želucu. Lijekovi koji povećavaju pH želučane kiseline, kao što su H₂ antagonisti i inhibitori protonske pumpe, mogu usporiti otapanje čvrstih oblika doziranja i smanjiti količinu lijeka dostupnu za apsorpciju u crijevnom lumenu. Farmakokinetičke studije su pokazale da uzimanje kapsula itrakonazola s famotidinom ili omeprazolom može smanjiti serumske koncentracije itrakonazola za 30–60% kod zdravih dobrovoljaca. Međutim, apsorpcija tekućeg oblika itrakonazola nije značajno pogođena lijekovima koji povećavaju pH želučane kiseline. Osim toga, antacidi, lijekovi koji sadrže metalne ione i vitaminski dodaci također mogu ometati otapanje i apsorpciju ketokonazola ili itrakonazola putem vezanja ili stvaranja kelata. Uz hranu se najbolje apsorbira kapsulirani oblik itrakonazola, dok suprotno vrijedi za oblik oralne suspenzije koji općenito postiže veću bioraspoloživost od kapsuliranog (Kokil i Bhatia, 2009). Za razliku od prethodno spomenutih azola, flukonazol je topiv u vodi i vrlo se dobro apsorbira iz probavnog trakta. Njegova apsorpcija nije otežana uzimenjem hrane niti ovisi o pH želuca. Iako strukturno sličan flukonazolu, vorikonazol je loše topljiv u vodi, ali mu bioraspoloživost iznosi 96% nakon oralne primjene, naročito ako je uzet na tašte. Posakonazolu apsorpcija uvelike ovisi o prisutnosti hrane i njezinom sastavu. U usporedbi s unosom na prazan želudac, srednje vrijednosti AUC-a i C_{max}-a povećale su se za otprilike 400% kada je uzet uz obrok bogat mastima (Zonios i Bennett, 2008). Svi dosad spomenuti azoli mogu biti primijenjeni u obliku iv. formulacije ili oralnim putem. Iznimke su itrakonazol i ketokonazol koji su dostupni samo u obliku za oralnu primjenu (Girmania, 2009).

Distribucija

Značajna topljivost u vodi omogućuje flukonazolu široku distribuciju u tjelesna tkiva i tekućine. U stanju dinamičke ravnoteže njegov volumen distribucije odgovara volumenu

tjelesne vode (Hoesley i Dismukes, 1997). Samo flukonazol i vorikonazol pokazuju značajan prijenos preko krvno-moždane i krvno-retinalne barijere, što je dokazano visokim razinama postignutim u cerebrospinalnoj tekućini i staklovini. Kod flukonazola, koncentracija u cerebrospinalnoj tekućini iznosi između 70 i 90% koncentracije u plazmi (Girmenia, 2009). Osim toga, oba azola ističu se nižim stupnjem vezanja za plazmatske proteine, poglavito flukonazol čiji se stupanj vezanja procjenjuje na otprilike 12%. Vorikonazol pokazuje nelinearnu farmakokinetiku, što se uočava promatranjem vrijednosti C_{max} i površine ispod krivulje (AUC) koje rastu više nego proporcionalno s povećanjem doze, vjerojatno zbog zasićenja jetrenog metabolizma lijeka (Brüggemann i sur. 2009; Zonios i Bennett, 2008). Itrakonazol se također široko distribuira u tjelesna tkiva, no u tjelesnim tekućinama, poput cerebrospinalne tekućine i sline, nalazi se u malim količinama. Razlog tome je visoki postotak vezanja za plazmatske proteine (99%), što je ujedno i stupanj vezanja preostalih azola. Itrakonazol posjeduje snažan afinitet za keratinizirana tkiva, što rezultira visokim koncentracijama u epidermisu, noktima i vaginalnom epitelu, dok flukonazol nema preferencijalno nakupljanje u određenom tkivu. Unatoč niskim koncentracijama u plazmi, u tkivima one ostaju unutar terapijskog raspona tijekom duljeg vremena (Hoesley i Dismukes, 1997). Posakonazol se nakuplja u perifernim tkivima, posebno u plućima, srcu, bubrezima i jetri. Primjerice, izloženost u alveolarnim stanicama je oko 32 puta veća nego u plazmi (Chen i sur., 2020).

Eliminacija

Eliminacija flukonazola primarno se odvija putem bubrežnog izlučivanja, pri čemu se 80% lijeka izlučuje nepromijenjeno, a oko 10% lijeka metabolizira. Poluvrijeme eliminacije kod odraslih je oko 30 sati, ali je značajno skraćeno kod djece (15-25 sati). Održavajuća doza mora se smanjiti za 50% u slučaju pacijenata s bubrežnom insuficijencijom, a kod pacijenata koji trebaju hemodijalizu, cijela doza treba se primijeniti nakon završene dijalize (Brüggemann i sur. 2009). Nešto duže poluvrijeme eliminacije ima itrakonazol. Ono iznosi 30 do 40 sati nakon oralne i intravenske primjene, a stabilna koncentracija postiže se nakon 4 dana liječenja (Zonios i Bennett, 2008). S obzirom na značajni metabolizam, izlučuje se u obliku metabolita putem mokraće (40%) i žuči (55%) (Brüggemann i sur. 2009). Poluvrijeme eliminacije posakonazola iznosi otprilike 20 sati, a budući da se ne metabolizira putem sustava enzima citokroma P450, izlučuje se nepromijenjen putem stolice (Carmo i sur., 2023). Vorikonazol također prolazi kroz opsežan metabolizam pa se tako manje od 2% doze izlučuje nepromijenjeno urinom. Prosječno poluvrijeme eliminacije ovisi o dozi i iznosi oko 6 sati

nakon oralne primjene od 200 mg. Većina ukupne doze, otprilike 80%, pronađena je u mokraći gdje je lijek gotovo u potpunosti prisutan u obliku metabolita. Unatoč tome, poluvrijeme eliminacije nije iskoristivo za predviđanje nakupljanja ili eliminacije zbog njegove nelinearne farmakokinetike.

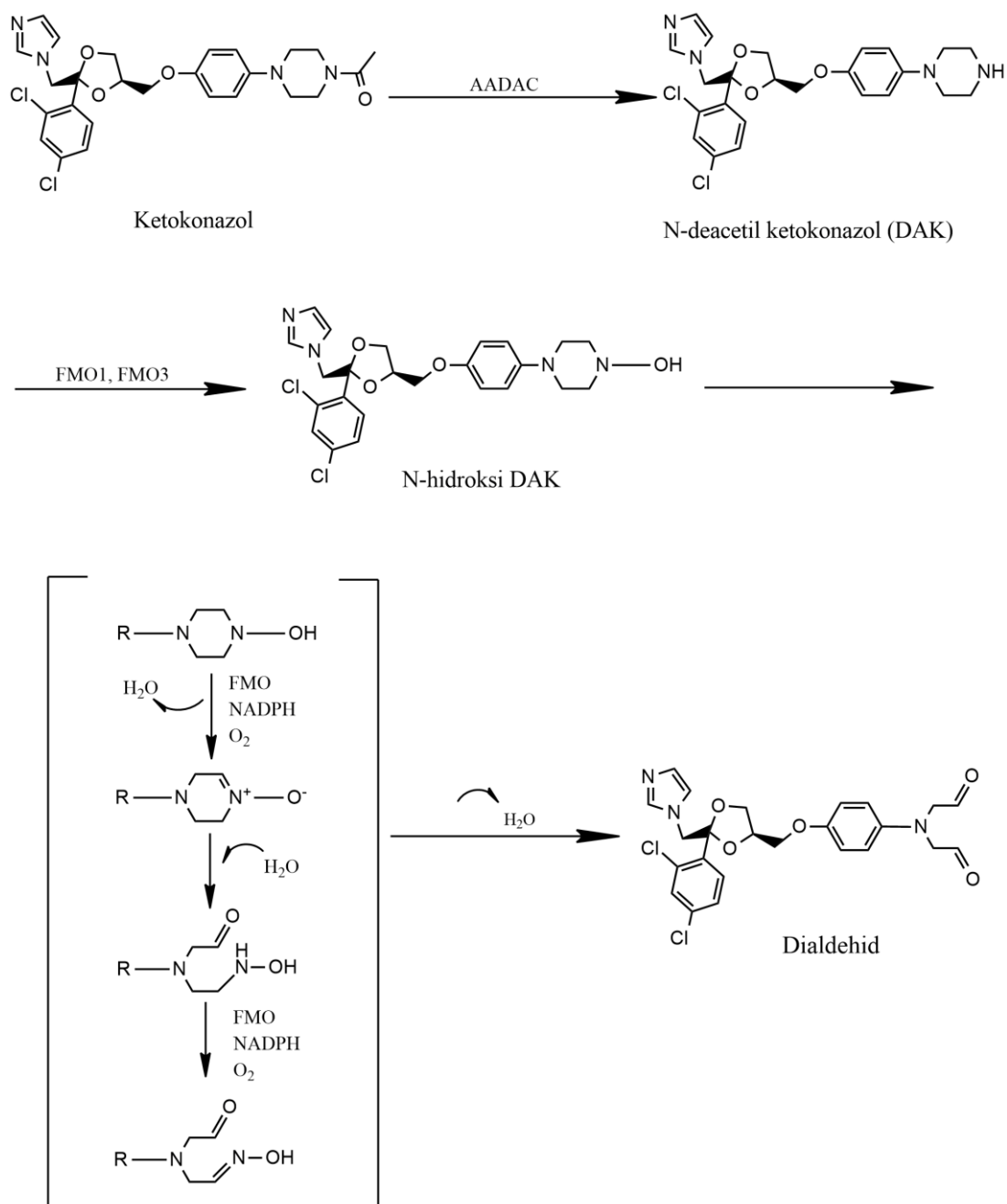
4.3.5. Metabolizam

Svi azoli, osim flukonazola, podliježu značajanom oksidativnom (CYP) metabolizmu kako bi se mogli izlučiti iz tijela. Posakonazol, za razliku od drugih triazola, minimalno se metabolizira putem CYP-a (2%). Većina njegovih metabolita su glukuronidi nastali pomoću enzima UGT (uridin difosfat glukuronoziltransferaza), prvenstveno UGT1A4 (Gavarkar i sur., 2013).

Metabolizam ketokonazola

Metabolizam ketokonazola u ljudi pripisuje se mikrosomalnim enzimima jetre i prvenstveno se sastoji od oksidacije imidazalnog prstena, razgradnje oksidiranog imidazola, oksidativne O-dealkilacije, oksidativne razgradnje piperazinskog prstena i aromatske hidroksilacije.

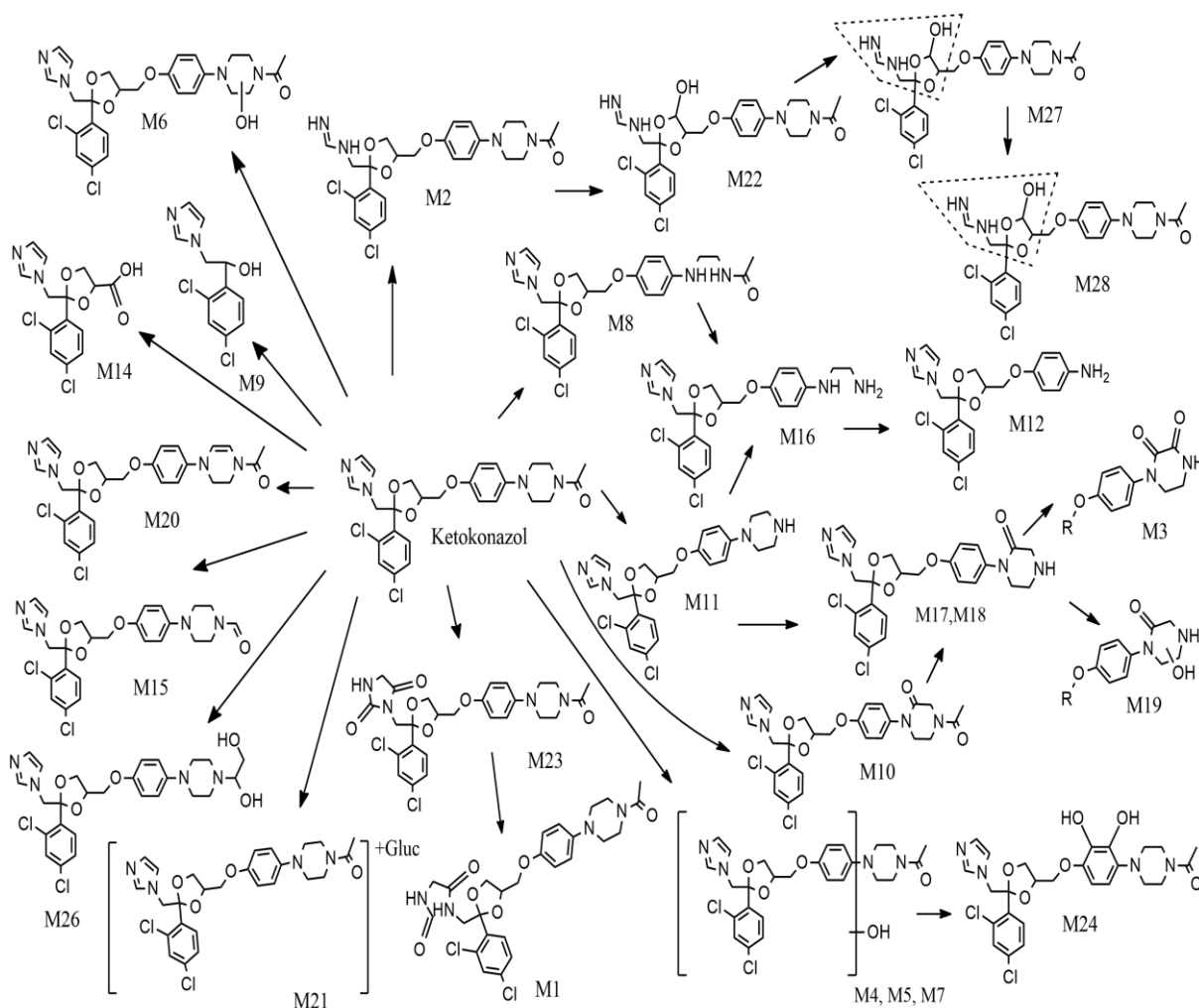
Kod glodavaca, N-deacetilirani oblik ketokonazola tzv. DAK predstavlja njegov glavni metabolit. Nakuplja se u jetri i doprinosi inhibiciji CYP enzima. Ovaj metabolit se također stvara in vitro u humanim mikrosomima jetre i hepatocitima. Za hidrolizu njegove N-acetilne skupine i formiranje samog metabolita, zaslužan je enzim arilacetamid deacetilaza. Kao takav, može se metabolizirati u N-hidroksi DAK putem flavin monooksigenaze (FMO), što naposljetku dovodi do stvaranja dialdehidnog oblika (Slika 10) (Whitehouse i sur., 1994). Rodriguez i Acosta procijenili su citotoksičnost ketokonazola i DAK-a koristeći hepatocite štakora iz kojih su pratili izlazak laktat dehidrogenaze (LDH). Utvrdili su da DAK pokazuje veću citotoksičnost od ketokonazola, a citotoksičnost DAK-a bila je pogoršana n-oktilaminom, koji je aktivator FMO enzima. Nadalje, citotoksičnost je bila smanjena metimazolom, kompetitivnim inhibitorom FMO enzima, što ukazuje na to da bi metabolizam putem esteraza i FMO enzima mogao biti povezan s hepatotoksičnošću induciranom ketokonazolom. Prijavljeno je da ljudski FMO1 i FMO3 mogu katalizirati N-hidroksilaciju DAK-a (Fukami i sur., 2016).



Slika 10. Reakcije biotransformacije ketokonazola (*AADAC* - arilacetamid deacetilaza, *FMO* - flavin-monooksigenaza, *NADPH* - nikotinamid adenin dinukleotid fosfat) (Preuzeto i prilagođeno prema Fukami i sur., 2016; Whitehouse i sur., 1994)

Koristeći LC-MS tehniku, u istraživanju iz 2017. pronađeno je 11 novih metabolita ketokonazola, uz 17 otprije poznatih (Slika 11). Metaboliti su svrstani u tri glavne kategorije ovisno o mjestu u strukturi na kojem se događa promjena. To uključuje promjene na piperazinskom prstenu u koje ubrajamo metabolite: M3, M6, M8, M10-M13, M16-M20. Primjerice, M17 i M18 nastaju oksidacijom piperazina u keton u N-diacetil-ketokonazolu

(M11) te dalje mogu oksidirati do M3 dok je M19 hidroksilirani metabolit M17 ili M18. M20 nastaje redukcijom piperazinskog prstena u ketokonazolu. Sljedeća kategorija podrazumijeva promjene na imidazolskom prstenu. Primjeri uključuju metabolite M2, M22, M27 i M28. M2 nastaje dodavanjem dvije molekule kisika na imidazolski prsten. M22 (hidroksi-M2) nastaje hidroksilacijom M2 na dioksolanskom prstenu. M27 (dehidro-M22) nastaje dehidrogenacijom M22. M28 (hidroksi-M27) nastaje hidroksilacijom M27 na N-[(4-hidroksi-1,3-dioksolan-2-il)metil]formamidinu. U posljednju kategoriju ubrajamo metabolite s promjenom na N-acetilnoj skupini: M15 te M26 kao primjer metabolita koji nastaje redukcijom i hidroksilacijom N-acetilne skupine u ketokonazolu. Osim tri glavne kategorije, postoji još nekolicina metabolita koji se ne mogu svrstati niti u jednu skupinu; M14 kao produkt O-dealkilacije, M4, M5 i M7 kao produkti hidroksilacije na različitim mjestima u strukturi te M9 kao produkt cijepanja dioksolanskog prstena (Kim i sur., 2017).

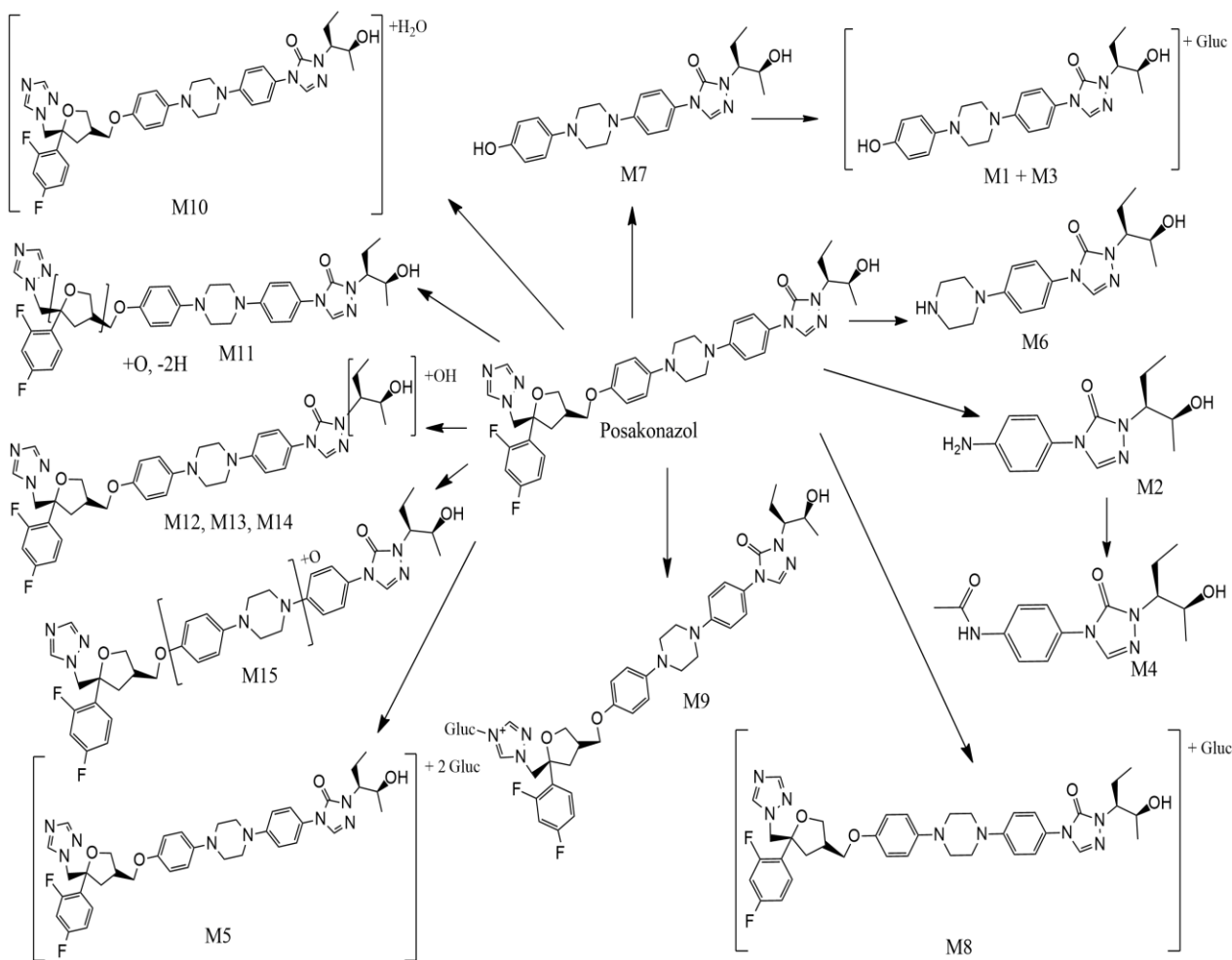


Slika 11. Reakcije biotransformacije ketokonazola; Strukturne promjene piperazinskog, imidazolskog prstena i N-acetilne skupine (Preuzeto i prilagođeno prema Kim i sur., 2017)

Metabolizam posakonazola

Prema provedenom istraživanju, zdravi muški ispitanici primili su jednu oralnu dozu od 399 mg [¹⁴C]posakonazola. Uzorci urina, fecesa i krvi prikupljeni su do 336 sati nakon doziranja i analizirani su na ukupnu radioaktivnost. Metaboliti posakonazola izlučeni urinom i fecesom činili su 17% ukupne doze, uglavnom kao glukuronidni konjugati (M1, M3, M5, M8, M9), a ne oksidativni produkti (M10-M15). Posakonazol prolazi kroz fazu 2 biotransformacije putem UGT enzima, posebno UGT1A4. Unatoč tome što se minimalno metabolizira putem CYP450 sustava, inhibira CYP3A4, ali ne i druge CYP izoforme. Za razliku od vorikonazola, koji pokazuje nelinearnu farmakokinetiku zbog metabolizma putem CYP enzima, posakonazol pokazuje farmakokinetiku proporcionalnu dozi do 800 mg/dan (Chen i sur., 2020; Krieter i sur., 2004).

M8, glukuronidni konjugat posakonazola, bio je glavni cirkulirajući metabolit, čineći 28% radioaktivnosti u plazmi nakon 12 sati i 1,4% doze u urinu. M9, drugi glukuronid, bio je manje zastupljen metabolit pronađen u plazmi i urinu, s glukuronidom vezanim za triazolski prsten. M5, diglukuronid, činio je 9% radioaktivnosti u plazmi nakon 24 sata i 2% u urinu, no pozicija glukuronida nije sa sigurnošću utvrđena. Manje zastupljeni metaboliti M12, M13 i M14, s hidroksilnom skupinom na 2-pentanol bočnom lancu, pronađeni su u izmetu. M10-M15, hidroksilirani odnosno oksigenirani metaboliti, činili su 2% doze, pri čemu je M10 identificiran kao produkt dodavanja vode, dok je M11 nastao dodavanjem kisika na furanski prsten. M15 nastao je dodavanjem vode na piperazinski ili fenilni prsten u središtu molekule. M7, uočen u plazmi, urinu i izmetu, nastao je oksidacijom i cijepanjem molekule. M6 je otkriven u izmetu i urinu, a njegov nastanak je vjerojatno rezultat enzimatske oksidacije ili degradacije. M2, doprinoseći 7,9% radioaktivnosti u plazmi, pronađen je u plazmi i urinu, dok je njegov acetilirani oblik, M4, otkriven samo u urinu (Krieter i sur., 2004) (Slika 12).

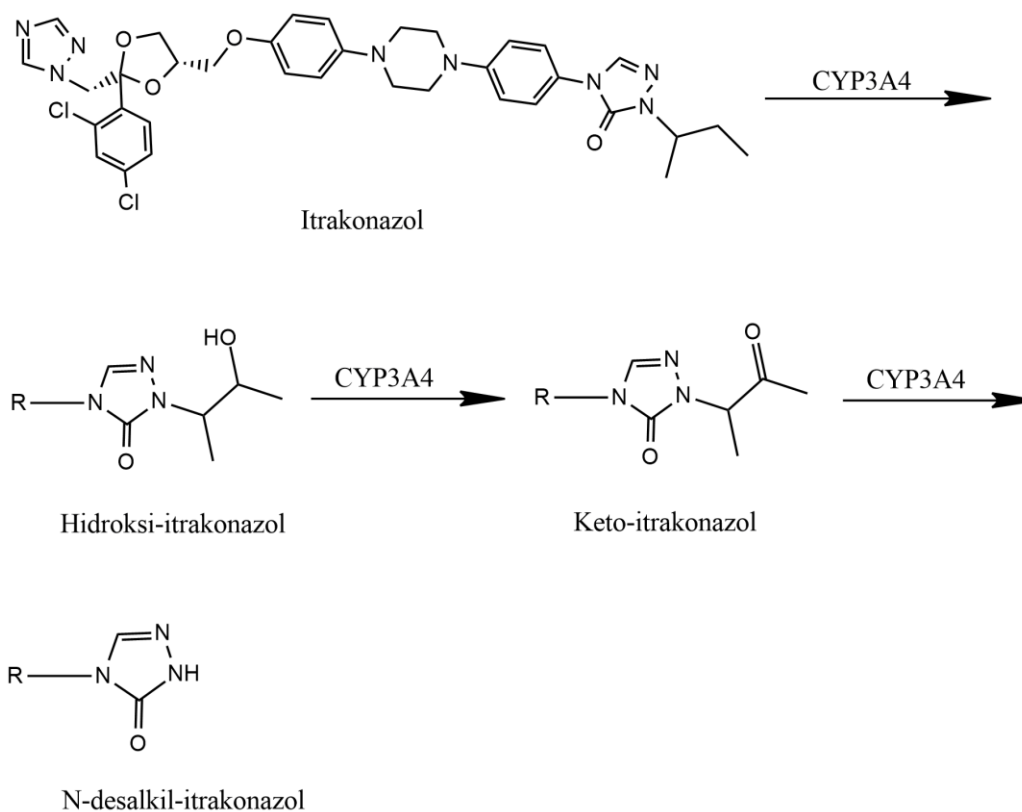


Slika 12. Reakcije biotransformacije posakonazola (Preuzeto i prilagođeno prema Krieter i sur., 2004)

Metabolizam itrakonazola

Studije na ljudima pokazale su da itrakonazol prolazi kroz opsežnu biotransformaciju putem sustava izoenzima citokroma P450 (CYP3A4), što rezultira stvaranjem nekoliko metabolita, od kojih je glavni hidroksi-itakonazol (OH-ITZ). Kada se itrakonazol u plazmi mjeri bioanalizom, prijavljene vrijednosti su približno 3,3 puta veće od onih dobivenih HPLC-om upravo zbog prisutnosti navedenog bioaktivnog metabolita što ukazuje na to da ima ekvivalentnu antifungalnu aktivnost kao i roditeljski spoj (Kokil i Bhatia, 2009; Zonios i Bennett, 2008). Preostala dva dokazana metabolita su keto-itakonazol (keto-ITZ) i N-desalkil-itakonazol (ND-ITZ) (Slika 13). ND-ITZ je također opisan kao urinarni i fekalni metabolit ITZ-a kod štakora i pasa. Predviđeno je da doprinose inhibiciji CYP3A4 koja se opaža nakon doziranja ITZ-a. Od identificiranih metabolita, smatra se da ND-ITZ igra najznačajniju ulogu u njegovoj inhibiciji. Ova opažanja pokazuju da bi se inhibicijski

metaboliti trebali uzeti u obzir pri predviđanju interakcija lijekova in vivo za nove spojeve, kao i pri evaluaciji opsega interakcije za poznate spojeve (Templeton i sur., 2007).

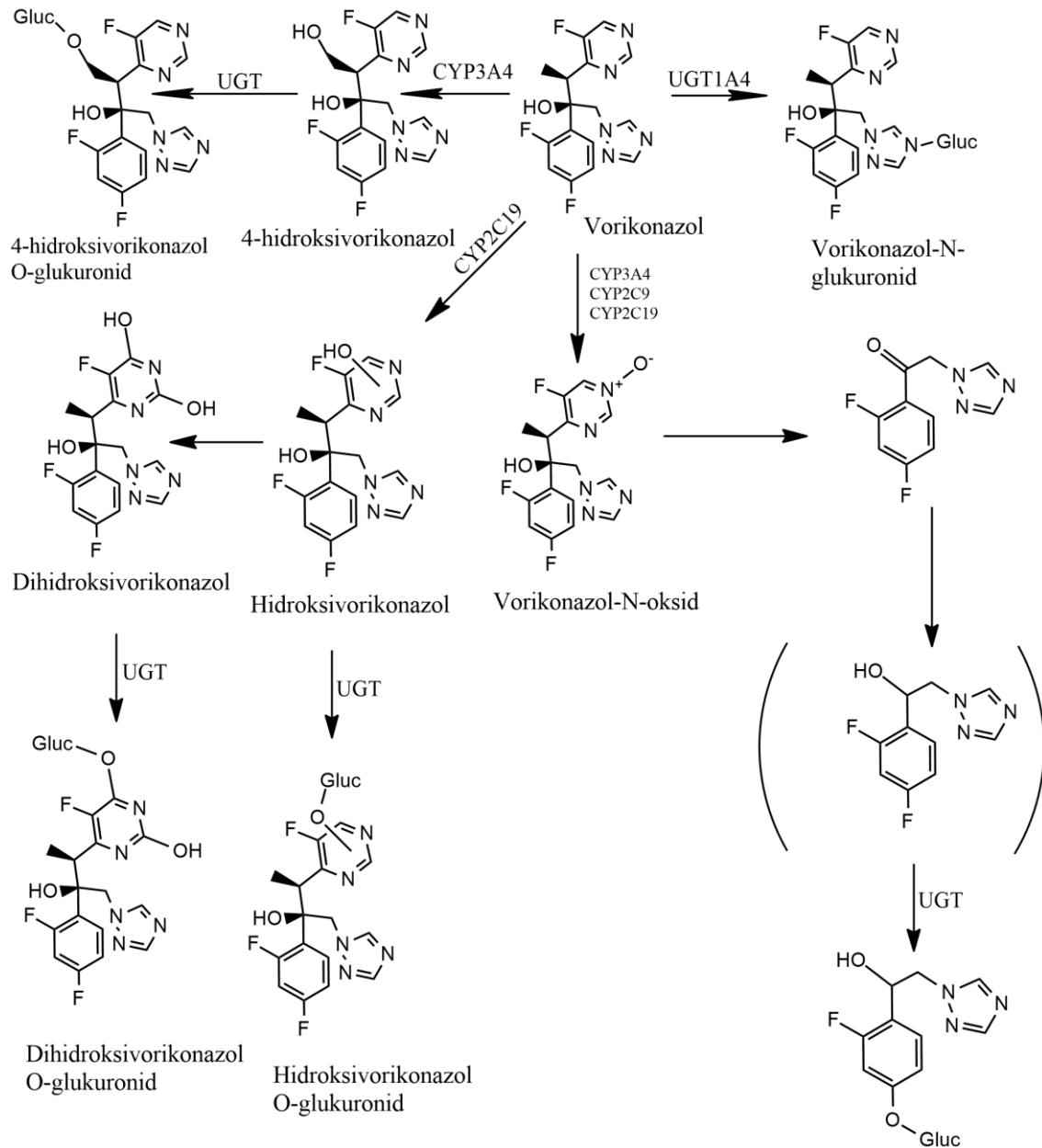


Slika 13. Reakcije biotransformacije itrakonazola (Preuzeto i prilagođeno prema Isoherranen i sur., 2004)

Metabolizam vorikonazola

Vorikonazol se putem CYP izoenzima CYP2C19, te u manjoj mjeri CYP2C9 i CYP3A4, široko metabolizira u hidroksilirane metabolite. Vorikonazol N-oksid je najzastupljeniji cirkulirajući metabolit, slijedi 4-hidroksivorikonazol i dihidroksivorikonazol, koji zatim prolaze kroz reakcije II faze (Slika 14). Vorikonazol N-oksid nastaje tijekom fluoropirimidinskih N-oksidacijskih reakcija putem CYP2C19 i CYP3A4, dok se 4-hidroksivorikonazol stvara metil-hidroksilacijom putem CYP3A4 (Iacopetta i sur., 2023). N-oksid kao metabolit ne posjeduje antifungalnu aktivnost, ali postoje nesuglasice oko toga uzrokuje li vorikonazol-N-oksid redovito primijećene nuspojave tijekom liječenja vorikonazolom. Klinička studija s 95 pacijenata nije pokazala povezanost između koncentracija vorikonazola, vorikonazol-N-oksida ili 4-hidroksi-vorikonazola u plazmi i zabilježenih nuspojava poput hepatotoksičnosti, fotosenzitivnosti i vizualnih halucinacija. S druge strane, in vitro studija sugerirala je da vorikonazol-N-oksid, kao i njegov UVB

fotoprodukt (VNOP), mogu senzibilizirati ljudske keratinocite za UVA zračenje stvaranjem reaktivnih kisikovih spojeva koji dovode do oštećenja DNK i time mogu pružiti moguće objašnjenje za fototoksičnost i fotokarcinogenost. Nasuprot ovim nalazima, smatralo se da je produkt razgradnje VNOP-a pravi fotosenzibilizator (Schulz i sur., 2019).



Slika 14. Reakcije biotransformacije vorikonazola (Preuzeto i prilagođeno prema Schulz i sur., 2019)

4.3.6. Interakcije azola s drugim lijekovima

Azoli su poznati su po svom širokom rasponu interakcija s drugim lijekovima. Kao što je već spomenuto, djeluju kao supstrati i inhibitori enzima citokroma P450 te kao inhibitori membranskih transportera poput P-glikoproteina. Inhibicijom ili indukcijom enzima CYP450, a ponajviše CYP3A4, ovi lijekovi mogu promijeniti farmakokinetiku uključenih agensa. Takve interakcije treba izbjegavati kad god je to moguće, jer mogu dovesti do predoziranja ili nedovoljnog doziranja, što rezultira toksičnošću ili smanjenom učinkovitošću. Vjerojatnost ovih farmakokinetičkih interakcija između azolnih antifungalnih lijekova i drugih klasa lijekova varira (Brüggemann i sur., 2009).

Osim toga, svi enzimi koji sudjeluju u metabolizmu azolnih antifungalnih lijekova poznati su po velikom broju polimorfizama, što dijeli populaciju na spore i brze metabolizatore. Pacijenti koji su homozigotni ili heterozigotni spori metabolizatori imaju smanjenu enzimsku aktivnost za taj izoenzim, što rezultira nižom brzinom metabolizma lijeka i, posljedično, većom izloženošću lijeku. Polimorfizmi CYP2C9 i CYP2C19 mogu imati klinički značaj, dok polimorfizmi CYP3A4 nisu navedeni kao relevantni. U slučaju homozigotnih sporih metabolizatora CYP2C19, AUC i Cmax vrijednosti vorikonazola su 2-5 puta veće nego kod brzih metabolizatora. Genotipske varijacije CYP2C9 ne utječu značajno na razinu izloženosti vorikonazolu, budući da se samo mali postotak lijeka metabolizira putem ovog enzimskog sustava. Učestalost varijacija u genskoj sekvenci varira među rasama, pri čemu 20%–30% azijske populacije i 2%–3% bijelaca pripada homozigotnim sporim metabolizatorima CYP2C19.

Pored inhibicije CYP450 enzima, azoli utječu i na transkripcijsku aktivnost pregnanskog X receptora (PXR), što dovodi do promjene u ekspresiji enzima koji su zaduženi za metabolizam lijekova, uključujući i CYP3A4. Interakcije između azola i PXR-a odvijaju se kroz različite mehanizme, u koje ubrajamo modulaciju aktivacije PXR-a ovisne o ligandu (agonizam ili antagonizam) te utjecaj na regrutaciju PXR koaktivatora SRC-1 (steroidni receptor koaktivator 1) i HNF4 α (hepatocitni nuklearni faktor 4 α). Mikonazol i ketokonazol djeluju kao antagonisti glukokortikoidnog receptora (GR), zbog čega ovi lijekovi smanjuju ekspresiju PXR-a i citokroma P450 koji su posredovani tim receptorom (Dvorak, 2011).

Itrakonazol se smatra snažnijim inhibitorom CYP3A4 od posakonazola i vorikonazola, dok su oni potentniji inhibitori od flukonazola (Brüggemann i sur., 2008). Osim CYP3A4, flukonazol i vorikonazol posjeduju snažni inhibicijski potencijal za druge izoforme, kao što su CYP2C9 i

CYP2C19 (Brüggemann i sur., 2009). Iako postoje brojne interakcije azola s drugim lijekovima, u neke od klinički najznačajnijih ubrajamo one s imunosupresivima poput ciklosporina i takrolimusa. Porastom koncentracije tih lijekova u plazmi dolazi do povećanog rizika od nuspojava kao što je nefrotoksičnost. Koadministracija benzodiazepina (midazolam, triazolam) s azolima rezultirala je nepoželjnim i dugotrajnim hipnotičkim učincima. Istodobna primjena azola s antikoagulansima, primjerice varfarinom, može dovesti do povećanog rizika od krvarenja i prolongirati protrombinsko vrijeme (Brüggemann i sur., 2008; Benedetti i Bani, 1999).

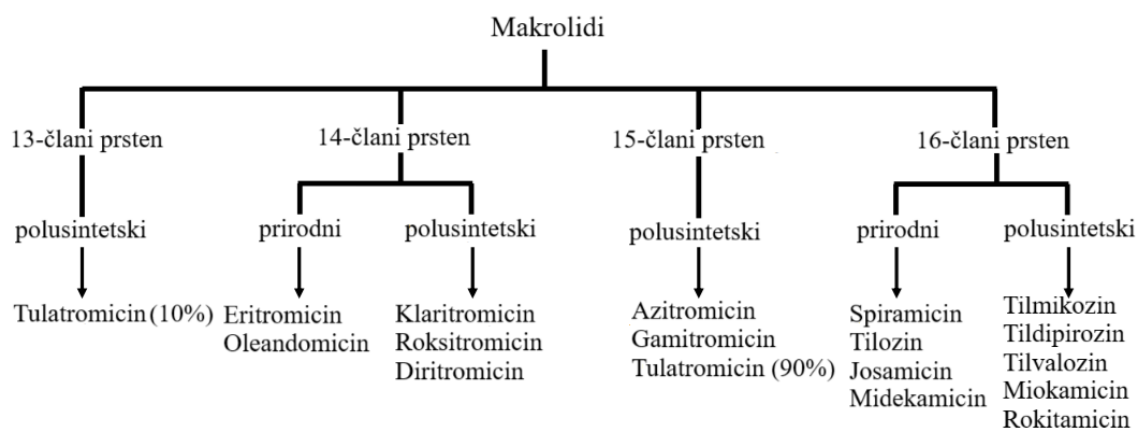
4.4. Makrolidi

4.4.1. Uporaba i opća svojstva

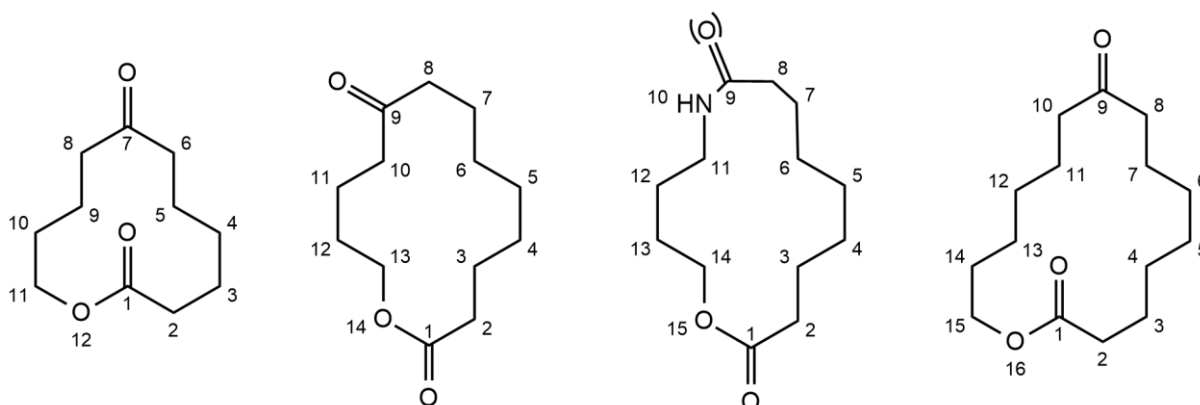
Makrolidna skupina antimikrobnih lijekova naširoko se koristi za liječenje različitih infektivnih stanja već više od 40 godina. Posebno su korisni u liječenju pacijenata alergičnih na peniciline te u borbi protiv pneumokoknih, streptokoknih i mikoplazmatskih infekcija, što ih čini klinički djelotvornima kad su u pitanju infekcije gornjih i donjih dišnih puteva. Također su lijekovi izbora za infekcije uzrokovane bakterijama kao što su *Legionella spp.* i *Chlamydia spp.* Eritromicin A, bio je prvi klinički korišteni makrolid. Problemi s isporukom lijekova zbog nestabilnosti u kiselom mediju potaknuli su dizajn novijih makrolida. Povećana kiselinska stabilnost, povećanje raspona antimikrobne aktivnosti, kao i rjeđe doziranje, obilježja su novijih generacija makrolida u koje ubrajamo klaritromicin i azitromicin. Stoga noviji makrolidi, poput azitromicina, pokazuju superiornu aktivnost protiv gram-pozitivnih i gram-negativnih patogena, kao i atipičnih respiratornih organizama (Dinos, 2017; Retsema i Fu, 2001). Specifičnost makrolida proizlazi iz činjenice da se mogu akumulirati unutar leukocita što im omogućuje transport na mjesto infekcije. Izuzev toga, ovoj skupini svojstvene su dvije osobine: imunomodulatorno i protuupalno djelovanje. Mogu smanjiti dugotrajnu upalu, povećati čišćenje sluzi, spriječiti stvaranje bakterijskog biofilma te pojačati ili smanjiti aktivaciju imunološkog sustava. S obzirom na navedene osobine i iznimne učinke na bakterijske patogene, utvrđeno je da makrolidni antimikrobni agensi imaju jedinstvenu ulogu u liječenju kroničnih bolesti dišnih puteva, uključujući difuzni panbronhiolitis, cističnu fibrozu i kroničnu opstruktivnu plućnu bolest (KOPB) (Bulska i Orszulak-Michalak, 2014).

4.4.2. Struktura i klasifikacija

Laktonski prsten, koji može imati između 12 i 16 atoma, čini glavnu strukturnu komponentu makrolida i time omogućava njihovu klasifikaciju (Slika 15 i 16). Većina klinički relevantnih makrolida sadrži jezgru od 14 (npr. eritromicin i klaritromicin) ili 15 atoma (azitromicin). Makrolidi s 15-članim prstenom nazivaju se azalidi jer imaju atom dušika u laktonskom prstenu (Giguère, 2013). Specifični šećerni ostaci obično su povezani glikozidnim vezama na pozicijama C3 i C5 prstena. Na primjer, eritromicin sadrži kladinozu na C3 i dezozamin na C5 (Vázquez-Laslop i Mankin, 2018). Sam prsten najčešće je supstituiran hidroksilnim ili alkilnim skupinama, a upravo ti bočni lanci definiraju važne biološke i kliničke osobine makrolida (Araújo i Demoly, 2008).



Slika 15. Klasifikacija makrolida s obzirom na veličinu laktonskog prstena (Preuzeto i prilagođeno prema Giguère, 2013)



Slika 16. Osnovna struktura laktonskih prstena makrolida (Preuzeto i prilagođeno prema Mutak, 2007)

4.4.3. Mehanizam djelovanja i rezistencije

Precizni mehanizam inhibicije sinteze proteina makrolidima ovisi o specifičnoj kemijskoj strukturi molekule lijeka jer ona utječe na njegovu interakciju s ribosomom, kao i na način inhibicijskog djelovanja. Četiri načina inhibicije sinteze proteina pripisuju se makrolidima, a to su: inhibicija napredovanja nascentnog peptidnog lanca tijekom ranih faza translacije, poticanje disocijacije peptidil-tRNA s ribosoma, inhibicija stvaranja peptidne veze te ometanje sastavljanja 50S podjedinice (Gaynor i Mankin, 2003).

Najznačajniji mehanizam inhibicije povezan je s njihovim vezanjem na domenu V na 23S podjedinici ribosoma u tunelu za izlazak nascentnog peptida. Tunel za izlazak započinje u centru za peptidil transferazu i proteže se kroz cijelo tijelo podjedinice te se konačno otvara na njenoj „stražnjoj“ strani. Za većinu proteina, vezanje lijeka unutar tunela uzrokuje prekid sinteze kada nascentni peptidni lanac dosegne duljinu od 5 do 11 aminokiselina, pri čemu se sprječava daljnje produljenje, što onda dovodi do disocijacije peptidil-tRNA s ribosoma (Dinos, 2017; Gaynor i Mankin, 2003). Prvotno su se smatrali općim inhibitorima translacije koji u potpunosti blokiraju ribosomski izlazni tunel, čime sprječavaju napredak sinteze nascentnog polipeptidnog lanca (Mankin, 2008). Ipak, novija su istraživanja pokazala da neki slijedovi peptida imaju sposobnost zaobići antibiotik unutar tunela, što dovodi ili do sinteze dugih polipeptida na ribosomima za koje je lijek vezan ili do prekida u kasnijoj fazi kada duljina nascentnog lanca već prođe mjesto vezanja antibiotika. Čini se da makrolidi, poput eritromicina, omogućuju manjem broju proteina da zaobiđu ovu prepreku u usporedbi s ketolidima, poput telitromicina, vjerojatno zato što eritromicin sadrži C3 vezani kladinozni šećer koji se projicira u lumen tunela (Dinos, 2017).

Učestalo korištenje ovih antibiotika neizbježno je dovelo do širenja otpornosti sojeva. Najčešći mehanizmi otpornosti u slučaju makrolida su izbacivanje lijeka iz stanice i modifikacija ciljnog mjesta lijeka (Gaynor i Mankin, 2003). Efluksne pumpe su zadužene za izbacivanje lijeka iz stanice, a većinski pripadaju Mef i Msr obiteljima. Mef pumpe djeluju kao antiporteri, zamjenjujući vezani makrolid protonom. Msr proteini istiskuju makrolidne antibiotike iz ribosoma, nudeći zaštitu ribosoma vezivanjem i protjerivanjem vezanog lijeka iz ribosoma. Postoje četiri klase Msr proteina, pri čemu svaka klasa ima ATP-vezujući motiv i sekvencijsku homologiju s ATP-vezujućom superfamilijom. Mef, kao i Msr, pružaju otpornost na makrolide čiji prsten sadržava 14 i 15, ali ne i 16 atoma (Jain i Danziger, 2004).

Najčešće pronađeni mehanizam modifikacije mjesta vezanja makrolida je dimetilacija adenina 23S rRNA putem Erm metil-transferaze. Time se drastično smanjuje afinitet lijeka za vezno mjesto zbog steričkih smetnji pa tako bakterije postaju otporne na visoke koncentracije makrolidnih antibiotika (Dinos, 2017; Blondeau i sur., 2002). Posljednji i manje uobičajen mehanizam otpornosti posljedica je enzimatske inaktivacije. Trenutno su poznate 2 esteraze i 6 fosforilaza inaktivirajuća enzima koji sudjeluju u tom procesu (Giguère, 2013).

4.4.4. Farmakokinetika

Apsorpcija

Makrolidi se generalno odlikuju niskom do umjerenom oralnom bioraspoloživošću (30-55%) (Araújo i Demoly, 2008). Eritromicin, kao baza, podložan je razgradnji djelovanjem želučane kiseline. Kako bi se poboljšala bioraspoloživost, razvijeni su oblici s acido-rezistentnom ovojnicom ili oblici u kojima je eritromicin dostupan kao prolijek, primjerice, eritromicinstolat iz kojeg se hidrolizom stvara aktivni oblik (Giguère, 2013, Jain i Danziger, 2004). Apsorpcija eritromicinske baze je nepredvidiva i postiže vršne koncentracije otprilike 4-5 sati nakon primjene, a uzimanje uz obrok dodatno ju smanjuje. Klaritromicin, kao metilirani oblik eritromicina, otporan je na kiseli pH želuca i dobro se apsorbira, s bioraspoloživošću od 55%. Vršne koncentracije postiže 3 sata nakon oralne primjene (Fraschini i sur., 1993). Azitromicin se brzo apsorbira, ali ima manju bioraspoloživost od klaritromicina. Iznosi otprilike 37%, uzimajući u obzir da doseže vršnu koncentraciju unutar 2.3 sata nakon oralne primjene. Preporučuje se primjena na prazan želudac jer hrana, kao i u slučaju eritromicina, smanjuje bioraspoloživost (Drew i sur., 1992).

Distribucija

Makrolidi su lipofilne prirode i karakterizira ih nizak stupanj ionizacije što im omogućava opsežnu penetraciju u tkiva i tekućine. Posljedično, odlikuju se i velikim volumenom distribucije (Araújo i Demoly, 2008). Klaritromicin se opsežno distribuira u slinu, sputum, plućno tkivo, epitelijalnu tekućinu, tonzile, nosnu sluznicu i tekućinu srednjeg uha. U tkivima i tekućinama dišnih puteva, koncentracije su 3 do 30 puta veće od onih u plazmi (Rodvold, 1999). Koncentrira se u ljudskim neutrofilima, isto kao i eritromicin. Rezultantni intracelularni/ekstracelularni omjer za klaritromicin bio je viši, ali ne značajno različit od onoga što je zabilježeno za eritromicin koristeći jednake koncentracije oba antimikrobna sredstva. Međutim, poboljšana farmakokinetička svojstva klaritromicina u usporedbi s eritromicinom dovode do veće bioraspoloživosti ovog antibiotika i, posljedično, do povećane

intrafagocitne akumulacije i bioaktivnosti in vivo (Fraschini i sur., 1993). Farmakokinetički profil azitromicina karakterizira niža koncentracija u serumu u usporedbi s eritromicinom i klaritromicinom, uz opsežnu distribuciju i dugotrajnu prisutnost u većini tkiva. Srednje koncentracije u tkivima (prostata, krajnici, pluća, bubrezi, ginekološka, urološka tkiva, želudac, mišići, masno tkivo i kosti) bile su značajno više od istovremeno uzetih uzoraka seruma. Koncentracije azitromicina u tkivima premašuju one u serumu 10 do 100 puta. Unutarstanične koncentracije azitromicina u polimorfonuklearnim leukocitima, ljudskim fibroblastima, mišjim peritonealnim makrofazima te alveolarnim makrofazima mogu biti i do 226 puta veće od izvanstaničnih koncentracija. U ljudskim polimorfonuklearnim neutrofilima (PMN) akumulacija azitromicina traje do 24 sata, dok je kod eritromicina unos završen za 30 minuta. Fibroblasti opterećeni azitromicinom mogu djelovati kao rezervoar, oslobađajući lijek za djelovanje protiv izvanstaničnih patogena ili za unos u PMN stanice. Ljudski fibroblasti akumulirali su 21 put više azitromicina nego eritromicina nakon 72 sata inkubacije. Unutarstanično oslobađanje azitromicina je sporo (17% unutar 1 sat) u odsutnosti vanjskog lijeka, u usporedbi s eritromicinom (68% unutar 1 sat) (Blondeau i sur., 2002; Drew i sur., 1992).

Eliminacija

Izlučivanje makrolida prvenstveno se odvija putem žuči, dok je bubrežno izlučivanje relativno ograničeno. Od svih makrolida, klaritromicin je jedini koji pokazuje značajne koncentracije u urinu, pri čemu se 32% doze može naći u urinu, dok se ostatak izlučuje putem žuči (Araújo i Demoly, 2008). Serumsko poluvrijeme eliminacije klaritromicina iznosi približno 3-4 odnosno 5-7 sati, ovisno o dozi. S druge strane, izlučivanje eritromicina odvija se uglavnom putem žuči, a dolazi i do određene crijevne reapsorpcije. Međutim, većina se ipak izlučuje fecesom, dok izlučivanje putem urina iznosi samo 3-5% od ukupno primijenjene doze. Od svih makrolida, eritromicin ima najkraće poluvrijeme eliminacije, koje iznosi 1.5-2 sata (Giguère, 2013). Nasuprot tome, azitromicin se odlikuje dugim poluvremenom eliminacije, otprilike 68 sati, što se pripisuje njegovom ekstenzivnom unosu u tkiva i postepenom sporom otpuštanju. Pretežito se eliminira putem fecesa, nepromijenjen (Blondeau i sur., 2002).

4.4.5. Metabolizam

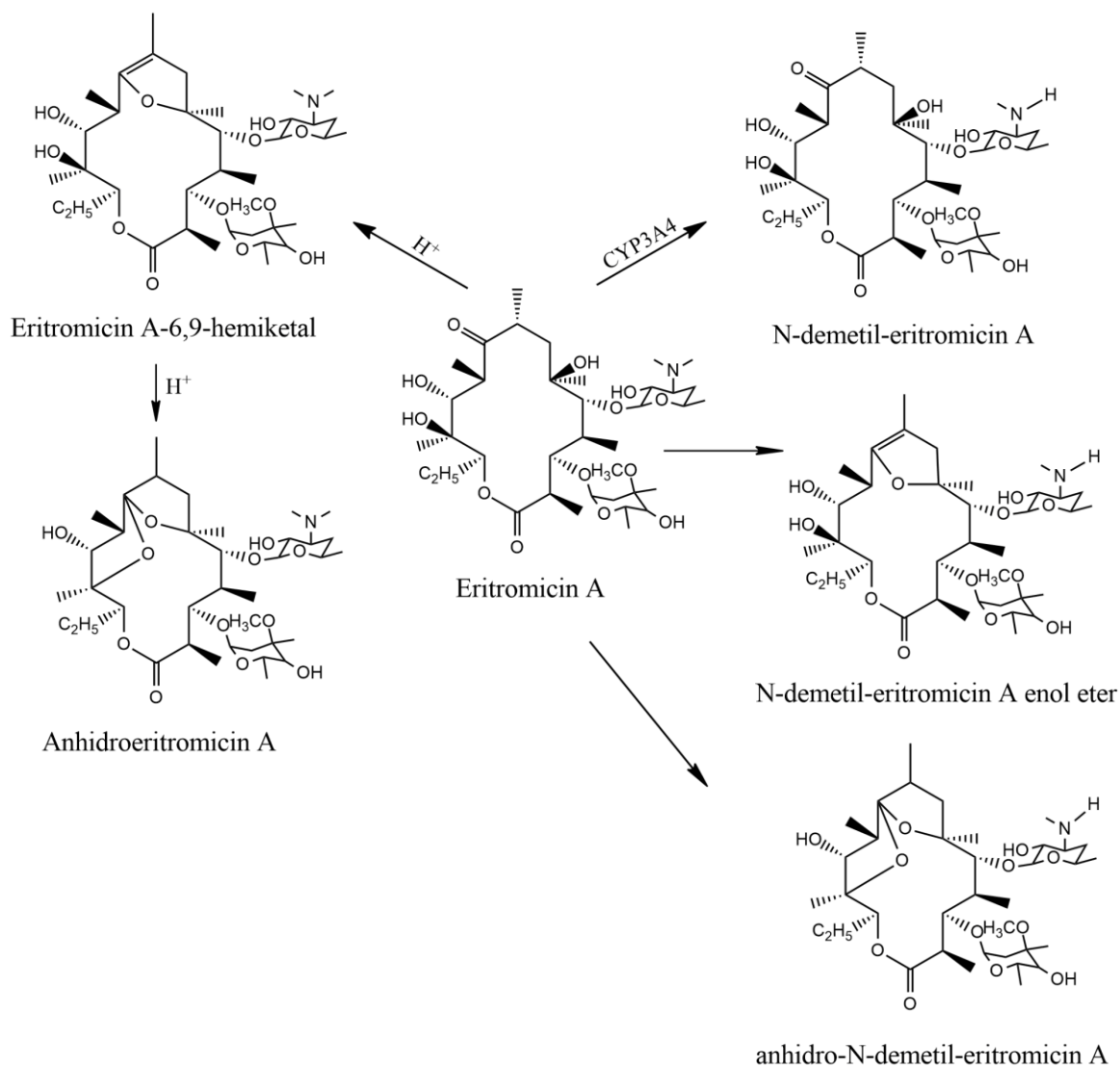
Metabolizam eritromicina

Istraživani eritromicini pokazali su da prolaze kroz dvije glavne promjene: N-demetilaciju i degradaciju uzrokovanu kiselinom. Pokazano je da želudac i jetra nisu jedina mjesta gdje dolazi do kisele degradacije i demetilacije eritromicina. Eritromicin A daje tri najzastupljenija metabolita: anhidroeritromicin A, anhidro-N-demetileritromicin A i N-demetileritromicin A.

Kao glavni metabolit ističe se N-demetileritromicin koji nastaje prvenstveno u jetri djelovanjem CYP3A4 te se smatra mikrobiološki neaktivnim (Fohner i sur., 2017).

Eritromicin A enol eter i N-demetileritromicin A enol eter prisutni su u manjoj mjeri. Također je identificiran 5-O-desozaminil eritronolid A, što sugerira prisutnost eritromicinske glikozidaze (Kibwage i sur., 1988).

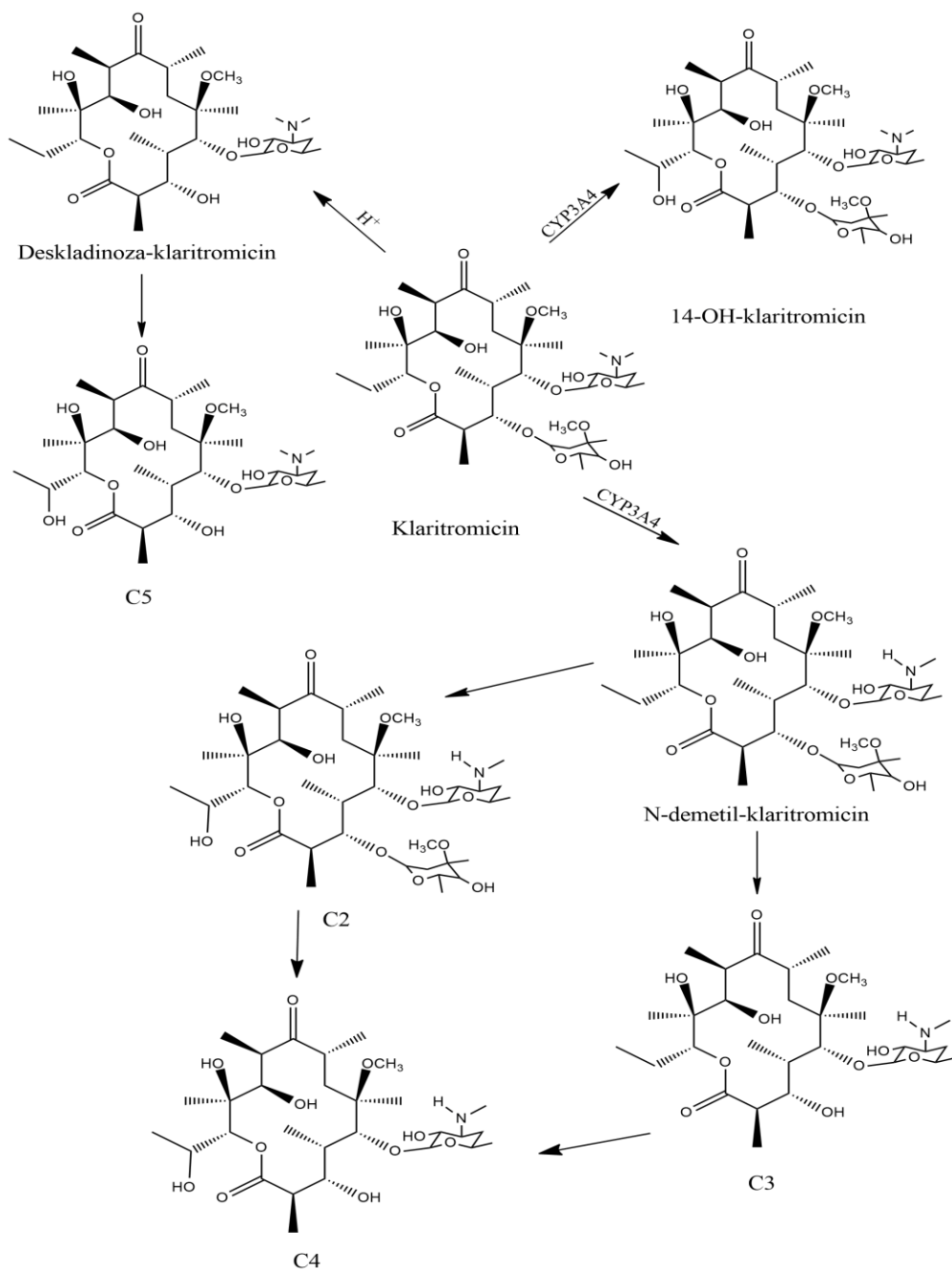
S obzirom na to da je osjetljiv na kiselinsku deaktivaciju, dolazi do stvaranja dva degradacijska proizvoda, ovisno o uvjetima reakcije. Blago kiselo tretiranje (glacialna octena kiselina, 2 sata) eritromicina A rezultira stvaranjem hemiketalnog produkta - eritromicin A-6,9-hemiketal (II). Daljnje tretiranje u kiselini (hidroklorična kiselina u metanolu, 1 sat) dovodi do stvaranja "spiroketal" - anhidroeritromicina A (III). Ukoliko se eritromicin A tretira jakim kiselinom (hidroklorična kiselina, pH 2,0, 30 minuta), dobiva se samo "spiroketal". Ove reakcije uključuju napad C-6 hidroksilne skupine na ketonsku skupinu na C-9, što rezultira stvaranjem enol etera. U prisutnosti hidroksilne skupine na C-12, dolazi do nepovratne adicije C-12 hidroksilne skupine na dvostruku vezu između C-8 i C-9, formirajući spiroketal. Anhidroeritromicin je mikrobiološki neaktivan, ali inhibira oksidaciju lijekova u jetri, stoga se smatra važnim faktorom za neželjene interakcije između lijekova kod eritromicina (Krasniqi i sur., 2011; Atkins i sur., 1986).



Slika 17. Reakcije biotransformacije eritromicina (Preuzeto i prilagođeno prema Kibwage i sur., 1988; Atkins i sur., 1986)

Metabolizam klaritromicina

Klaritromicin prolazi kroz opsežan metabolizam u jetri. Hidroksilacija i oksidativna N-demetilacija dva su glavna metabolička puta. Metabolizam klaritromicina jedinstven je jer je to jedini 14-člani makrolid koji pokazuje 14-hidroksilaciju kod ljudi pa je glavni metabolit klaritromicina upravo 14-hidroksi-(R)-klaritromicin (Rodvold, 1999). Posjeduje antimikrobnu aktivnost te se proizvodi u mnogo većim količinama od inaktivnog 14-hidroksi-(S)-klaritromicina (Fraschini i sur., 1993). Osim toga, u kiselim uvjetima može doći do hidrolize kladinoze kao šećerne komponente, čime klaritromicin također biva inaktiviran. Dolazi i do sekundarne biotransformacije koja rezultira metabolitima C2, C3, C4 i C5 (Slika 18).

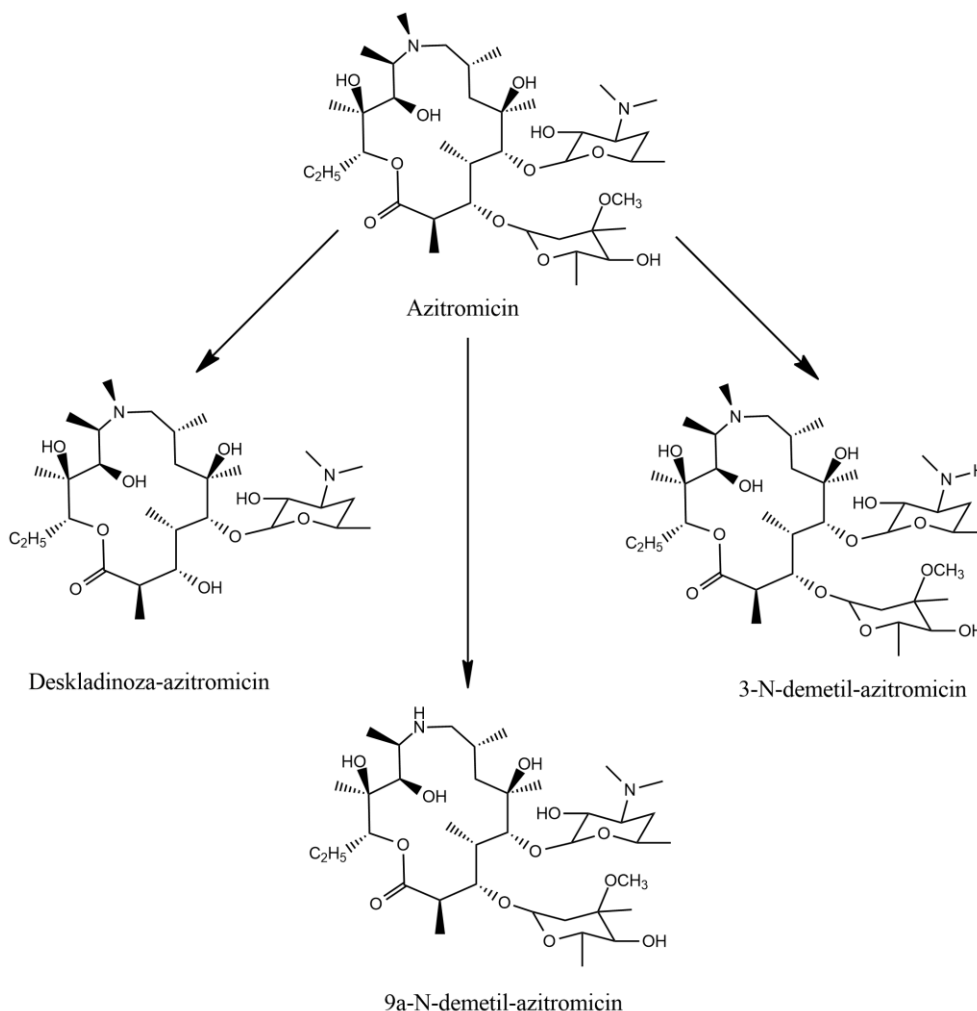


Slika 18. Reakcije biotransformacije klaritromicina (Preuzeto i prilagođeno prema Xing i sur., 2015)

Metabolizam azitromicina

Metabolizam azitromicina je primarno jetreni (otprilike 35%), a biotransformacija u jetri uključuje demetilaciju koja se događa istovremeno s izlučivanjem. Za razliku od makrolida, poput klaritromicina, smatra se da metaboliti azitromicina posjeduju malo ili nimalo biološke aktivnosti (Drew i sur., 1992). U istraživanjima provedenim na mačkama i pitonima, izdvajaju se tri zajednička metabolita, a riječ je o: 3-N-demetil-azitromicinu, deskladinoza-azitromicinu

te 9a-N-demetil-azitromicinu za kojeg je ustanovljeno da jedini posjeduje antimikrobnu aktivnost (Slika 19) (Hunter i sur., 2003; Hunter i sur., 1995). Metaboliti azitromicina u čovjeku nisu sa sigurnošću definirani, ali prema istraživanju na pacijentima s ileostomom zabilježeno je stvaranje deskladinoznog metabolita i 9a-N-desmetil metabolita nakon oralne ili intravenske primjene. Količina deskladinoznog metabolita formiranog nakon oralne primjene bila je višestruko veća nego ona zabilježena nakon intravenske primjene, vjerojatno zbog duljeg izlaganja želučanoj kiselini čiji kiseli pH pogoduje hidrolizi. Ovi podaci sugeriraju da razgradnja azitromicina želučanom kiselinom prije apsorpcije djelomično doprinosi njegovoj niskoj bioraspodivnosti. Međutim, čini se da je nepotpuna apsorpcija glavni čimbenik gubitka bioraspodivnosti azitromicina (Luke i sur., 1997).



Slika 19. Reakcije biotransformacije azitromicina (Preuzeto i prilagođeno prema Hunter i sur., 2003)

4.4.6. Interakcije makrolida s drugim lijekovima

Makrolidni antibiotici utječu na hepatički citokrom P450 sustav, što rezultira brojnim interakcijama lijekova koji se njime metaboliziraju. Među makrolidima koji se trenutno koriste u kliničkoj praksi, eritromicin i klaritromicin, su istaknuti kao najsnažniji inhibitori CYP enzima. Ipak, za klaritromicin postoje proturječni nalazi jer je u nekim istraživanjima prikazan kao jak inhibitor CYP3A4, a druge studije smatraju da su njegove interakcije s određenim agensima klinički nevažne. Lijekovi koji se metaboliziraju putem ovih enzima, uključujući ciklosporin, karbamazepin, metilprednizolon, teofilin, cisaprid, varfarin i takrolimus, mogu biti značajno pogođeni primjenom makrolida (Araújo i Demoly, 2008; Jain i Danziger, 2004).

Prema jačini inhibicije biotransformacije drugih lijekova, mogu se podijeliti u tri skupine. Prvu skupinu karakterizira snažno vezanje i inhibicija CYP3A4, a ona obuhvaća eritromicin i troleandomicin. Druga skupina uključuje klaritromicin, midekamicin, roksitromicin, josamicin, fluritromicin te miokamicin. Ova skupina, za razliku od prethodne, ima manji afinitet za CYP3A4. Treća skupina pokazuje slabu interferenciju s CYP enzimima, a njoj pripadaju azitromicin, rokitamicin i spiramicin. Ovu klasifikaciju podržava niz kliničkih, ali i nekliničkih dokaza o inhibiciji metabolizma lijekova makrolidima (Abu-Gharbieh i sur., 2004).

Osim već spomenutih lijekova, makrolidi mogu povećati bioraspoloživost digoksina i tako uzrokovati ozbiljne slučajeve toksičnosti, stoga je važno pratiti koncentracije digoksina nakon paralelne primjene s ovim lijekovima. Osim toga, makrolidi inhibiraju metabolizam statina čija se biotransformacija odvija putem CYP3A4. Kao posljedica, javljaju se miopatija i rabdomioliza, osobito kod pacijenata koji već uzimaju lijekove povezane s miopatijom te kod pacijenata s bubrežnom insuficijencijom (Araújo i Demoly, 2008).

5. ZAKLJUČCI

Analizirani antimikrobni lijekovi pokazali su različita farmakokinetička svojstva i metaboličke puteve kroz koje prolaze. Farmakokinetika aminoglikozida pokazuje da se oni slabo apsorbiraju putem gastrointestinalnog trakta i stoga se primjenjuju intramuskularno ili intravenski. Distribuiraju se primarno kroz ekstracelularne tekućine, a eliminiraju gotovo isključivo putem bubrega. Njihova toksičnost, osobito ototoksičnost i nefrotoksičnost povezana je s produkcijom reaktivnih kisikovih vrsta u unutarnjem uhu, kao i s nakupljanjem lijeka u bubrežnom kortikalnom tkivu zbog čega je važno pažljivo pratiti funkciju bubrega tijekom liječenja. Vrlo malo se zna o njihovom metabolizmu, ali utvrđeno je da streptidin, metabolit streptomcina koji nastaje njegovom hidrolizom može doprinijeti navedenoj ototoksičnosti nakon dugotrajne primjene antibiotika.

Tetraciklini se odlikuju varijabilnom oralnom bioraspoloživošću koja ovisi o pojedinom spoju, ali i prisutnosti metalnih iona koji mogu formirati kelate, čime se smanjuje njihova apsorpcija. Dok je kod starijih tetraciklina bioraspoloživost ograničena na 25-60%, moderni derivati postižu gotovo potpunu apsorpciju od oko 95%. Tigeciklin se pak primjenjuje isključivo intravenski zbog svoje ograničene oralne bioraspoloživosti. Bilijarno izlučivanje dominantan je put izlučivanja tigeciklina, dok se tetraciklini izlučuju većinom putem bubrega pa bi i u ovom slučaju bilo dobro pratiti bubrežnu funkciju za vrijeme terapije. Metabolizam tetraciklina uključuje oksidacijske reakcije u jetri, uz stvaranje aktivnih i neaktivnih metabolita.

Farmakokinetika azola poprilično varira ovisno o spoju. Primjerice, ketokonazol i itrakonazol, kao slabe baze, ovise o kiselinskim uvjetima želuca za optimalnu apsorpciju, dok apsorpcija ostalih azola ne ovisi o pH. Distribucija i eliminacija svakog azola se razlikuje, pri čemu neki imaju sposobnost prolaska kroz krvno-moždanu barijeru. Njihov metabolizam je složen i uključuje sudjelovanje različitih enzimskih sustava, pretežno citokroma P450. Ovi enzimi ne samo da su odgovorni za biotransformaciju azola, već i za potencijalne interakcije s drugim lijekovima. Posakonazol, za razliku od drugih triazola, minimalno se metabolizira putem CYP-a. Većina njegovih metabolita su glukuronidi nastali prvenstveno pomoću enzima UGT1A4.

Makrolidi se odlikuju niskom do umjerenom oralnom bioraspoloživošću. U slučaju eritromicina, dodatane poteškoće stvara njegova podložnost razgradnji djelovanjem kislog pH

želudca, no taj je problem uklonjen razvojem novijih derivata. Pripisuje im se značajan volumen distribucije s opsežnom penetracijom u tkiva i tekućine pa tako azitromicinu koncentracije u tkivima premašuju one u serumu 10 do 100 puta. Posebnost makrolida je ta da se mogu akumulirati unutar leukocita što im omogućuje transport na mjesto infekcije. Prvenstveno se izlučuju putem žuči, dok je bubrežno izlučivanje relativno ograničeno. Metabolički putevi se razlikuju ovisno o vrsti makrolida, ali većinski je riječ o reakcijama posredovanim CYP3A4 enzimom.

Sveukupno, razumijevanje metabolizma antimikrobnih lijekova ključno je za optimalno korištenje ovih lijekova u kliničkoj praksi, jer farmakokinetički profili izravno utječu na njihovu učinkovitost, sigurnost i potencijalne interakcije s drugim lijekova.

6. POPIS KRATICA, OZNAKA I SIMBOLA

AADAC – (engl. *arylacetamide deacetylase*) arilacetamid deacetilaza

AME – aminoglikozid-modificirajući enzim

ATP – (engl. *adenosine triphosphate*) adenzin trifosfat

AUC – (engl. *area under the curve*) numerička mjera za određivanje učinkovitosti i procjenu kvalitete nekog modela

CTC – klortetraciklin

CYP - (engl. *cytochrome P450*) citokrom P450

DAK – N-deacetil-ketokonazol

EDP – (engl. *energy-dependent phase*) o energiji ovisna faza

FAD – (engl. *flavin adenine dinucleotide*) flavin adenin dinukleotid

FMO – flavin-monooksigenaza

FW – (engl. *fat weight*) višak tjelesne težine

GR – glukokortikoidni receptor

HIV-1 – (engl. *human immunodeficiency virus type 1*) virus humane imunodeficijencije tip 1

HNF4 α – hepatocitni nuklearni faktor 4 α

HPLC – (engl. *high-performance liquid chromatography*) tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

HRP – (engl. *horseradish peroxidase*) peroksidaza hrena

IBW – (engl. *ideal body weight*) idealna tjelesna težina

ICTC – izoklorotetraciklin

KOPB – kronična opstruktivna plućna bolest

LC/MS – (engl. *liquid chromatography/mass spectrometry*) tekućinska kromatografija-masena spektrometrija

LDH – laktat dehidrogenaza

LPS – lipopolisaharid

MDR – (engl. *multidrug resistance*) rezistencija na više lijekova

MIC – (engl. *minimal inhibitory concentration*) minimalna inhibitorna koncentracija

MPO – mijeloperoksidaza

NAC – N-acetilcistein

NADPH – nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

ND – ITZ – N-desalkil-itrakonazol

OH – ITZ – hidroksi-itrakonazol

OMP – (engl. *outer membrane protein*) protein vanjske membrane

OTC – oksitetraciklin

PAE – (engl. *postantibiotic effect*) postantibiotski učinak

P – gp – P-glikoprotein

PMN – polimorfonuklearni leukociti

PXR – pregnanski X receptor

RNA – (engl. *ribonucleic acid*) ribonukleinska kiselina

RPP – ribosomski zaštitni protein

ROS – (engl. *reactive oxygen species*) reaktivni kisikovi spojevi

SRC – steroidni receptor koaktivator

TC – tetraciklin

UGT – (engl. *uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase*) UDP-glukuronoziltransferaza

UV – (engl. *ultraviolet*) ultraljubičasto

Vd – volumen distribucije

VNOP – UVB fotoprodukt vorikonazola

7. LITERATURA

Agwuh, K.N., 2006. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the tetracyclines including glycyclines. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 58, 256–265.

Allen, D., Wilson, D., Drew, R., Perfect, J., 2015. Azole antifungals: 35 years of invasive fungal infection management. *Expert Review of Anti-infective Therapy* 13, 787–798.

Araujo, L., Demoly, P., 2008. Macrolides Allergy. *CPD* 14, 2840–2862.

Assress, H.A., Selvarajan, R., Nyoni, H., Mamba, B.B., Msagati, T.A.M., 2021. Antifungal azoles and azole resistance in the environment: current status and future perspectives—a review. *Rev Environ Sci Biotechnol* 20, 1011–1041.

Atkins, P.J., Herbert, T.O., Jones, N.B., 1986. Kinetic studies on the decomposition of erythromycin A in aqueous acidic and neutral buffers. *International Journal of Pharmaceutics* 30, 199–207.

Avent, M.L., Rogers, B.A., Cheng, A.C., Paterson, D.L., 2011. Current use of aminoglycosides: indications, pharmacokinetics and monitoring for toxicity. *Internal Medicine Journal* 41, 441–449.

Anzenbacher, P., Zanger, U.M., 2012. *Metabolism of Drugs and Other Xenobiotics*.

Bahrami, F., L. Morris, D., H. Pourgholami, M., 2012. Tetracyclines: Drugs with Huge Therapeutic Potential. *MRMC* 12, 44–52.

Barza, M., Scheife, R.T., 1977. Drug therapy reviews: Antimicrobial spectrum, pharmacology and therapeutic use of antibiotics, part 4: Aminoglycosides. *American Journal of Health-System Pharmacy* 34, 723–737.

Bauer, L.A., Edwards, W.A.D., Dellinger, E.P., Simonowitz, D.A., 1983. Influence of weight on aminoglycoside pharmacokinetics in normal weight and morbidly obese patients. *Eur J Clin Pharmacol* 24, 643–647.

Becker, B., Cooper, M.A., 2013. Aminoglycoside Antibiotics in the 21st Century. *ACS Chem. Biol.* 8, 105–115.

Benedetti, M.S., Bani, M., 1999. Metabolism – based drug interactions involving oral azole antifungals in humans. *Drug Metabolism Reviews* 31, 665–717.

Blondeau J.M., DeCarolis E., Metzler K.L., Hansen G.T., 2002 The macrolides. *Expert Opin Investig Drugs*;11(2):189-215.

Böcker, R.H., Peter, R., Machbert, G., Bauer, W., 1991. Identification and determination of the two principal metabolites of minocycline in humans. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 568, 363–374.

Brüggemann, R.J.M., Alffenaar, J.-W.C., Blijlevens, N.M.A., Billaud, E.M., Kosterink, J.G.W., Verweij, P.E., Burger, D.M., 2008. Pharmacokinetic drug interactions of azoles. *Curr Fungal Infect Rep* 2, 20–27.

Brüggemann, R.J.M., Alffenaar, J.C., Blijlevens, N.M.A., Billaud, E.M., Kosterink, J.G.W., Verweij, P.E., Burger, D.M., 2009. Clinical Relevance of the Pharmacokinetic Interactions of Azole Antifungal Drugs with Other Coadministered Agents. *Clinical infectious diseases* 48, 1441–1458.

Bulska, M., Orszulak-Michalak, D., 2014. Immunomodulatory and anti-inflammatory properties of macrolides. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences* 27, 61–64.

Carmo, A., Rocha, M., Pereirinha, P., Tomé, R., Costa, E., 2023. Antifungals: From Pharmacokinetics to Clinical Practice. *Antibiotics* 12, 884.

Chen, L., Krekels, E.H.J., Verweij, Paul.E., Buil, J.B., Knibbe, C.A.J., Brüggemann, R.J.M., 2020. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Posaconazole. *Drugs* 80, 671–695.

Craig, W.A., 2011. Optimizing Aminoglycoside Use. *Critical Care Clinics* 27, 107–121.

Crann, S.A., Huang, M.Y., McLaren, J.D., Schacht, J., 1992. Formation of a toxic metabolite from gentamicin by a hepatic cytosolic fraction. *Biochemical Pharmacology* 43, 1835–1839.

Chen, L., Krekels, E.H.J., Verweij, Paul.E., Buil, J.B., Knibbe, C.A.J., Brüggemann, R.J.M., 2020. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Posaconazole. *Drugs* 80, 671–695.

Craig, W.A., 2011. Optimizing Aminoglycoside Use. *Critical Care Clinics* 27, 107–121.

Crann, S.A., Huang, M.Y., McLaren, J.D., Schacht, J., 1992. Formation of a toxic metabolite from gentamicin by a hepatic cytosolic fraction. *Biochemical Pharmacology* 43, 1835–1839.

Degreef, H., Heeres, J., Borgers PhD, M., 2006. Antifungal azoles for skin disorders. *Expert Opinion on Therapeutic Patents* 16, 1235–1253.

- Del Castillo, J.R.E., 2013. Tetracyclines, in: Giguère, S., Prescott, J.F., Dowling, P.M. (Eds.), *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. Wiley, pp. 257–268.
- Dinos, G.P., 2017. The macrolide antibiotic renaissance. *British J Pharmacology* 174, 2967–2983.
- Drew, R.H., Gallis, H.A., 1992. Azithromycin—Spectrum of Activity, Pharmacokinetics, and Clinical Applications. *Pharmacotherapy* 12, 161–173.
- Dvorak, Z., 2011. Drug–drug interactions by azole antifungals: Beyond a dogma of CYP3A4 enzyme activity inhibition. *Toxicology Letters* 202, 129–132.
- Elias, R., Benhamou, R.I., Jaber, Q.Z., Dorot, O., Zada, S.L., Oved, K., Pichinuk, E., Fridman, M., 2019. Antifungal activity, mode of action variability, and subcellular distribution of coumarin-based antifungal azoles. *European Journal of Medicinal Chemistry* 179, 779–790.
- Emami, L., Faghih, Z., Ataollahi, E., Sadeghian, S., Rezaei, Z., Khabnadideh, S., 2023. Azole Derivatives: Recent Advances as Potent Antibacterial and Antifungal Agents. *CMC* 30, 220–249.
- Eyler, R.F., Shvets, K., 2019. Clinical Pharmacology of Antibiotics. *CJASN* 14, 1080–1090.
- Fohner, A.E., Sparreboom, A., Altman, R.B., Klein, T.E., 2017. PharmGKB summary: Macrolide antibiotic pathway, pharmacokinetics/pharmacodynamics. *Pharmacogenetics and Genomics* 27, 164–167.
- Forge, A., Schacht, J., n.d. *Aminoglycoside Antibiotics*.
- Fraschini, F., Scaglione, F., Demartini, G., 1993. Clarithromycin Clinical Pharmacokinetics: *Clinical Pharmacokinetics* 25, 189–204.
- Fukami, T., Iida, A., Konishi, K., Nakajima, M., 2016. Human arylacetamide deacetylase hydrolyzes ketoconazole to trigger hepatocellular toxicity. *Biochemical Pharmacology* 116, 153–161.
- Fuoco, D., 2012. Classification Framework and Structure-Activity-Relationship (SAR) of Tetracycline-Structure-Based Drugs. *Antibiotics* 1, 1–13.
- Gavarkar PS, Adnaik RS, Mohite SK, 2013. An Overview of Azole Antifungals. *Int J Pharm Sci Res*; 4(11): 4083-89.

Gaynor, M., Mankin, A.S., n.d. Macrolide Antibiotics: Binding Site, Mechanism of Action, Resistance.

Giguère, S., 2013. Macrolides, Azalides, and Ketolides, in: Giguère, S., Prescott, J.F., Dowling, P.M. (Eds.), *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. Wiley, pp. 211–231.

Girmenia, C., 2009. New generation azole antifungals in clinical investigation. *Expert Opinion on Investigational Drugs* 18, 1279–1295.

Granados, O., Meza, G., n.d. Streptidine, a metabolic derivative produced after administration of streptomycin in vivo, is vestibulotoxic in rats.

Granados, O., Meza, G., 2007. A direct HPLC method to estimate streptomycin and its putative ototoxic derivative, streptidine, in blood serum: Application to streptomycin-treated humans. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 43, 625–630.

Hedaya, M., 2023. *Basic Pharmacokinetics* (3rd ed.).

Hoesley, C., Dismukes, W., 1997. Overview of Oral Azole Drugs as Systemic Antifungal Therapy. *Semin Respir Crit Care Med* 18, 301–309.

Houghton, J.L., Green, K.D., Chen, W., Garneau-Tsodikova, S., 2010. The Future of Aminoglycosides: The End or Renaissance? *ChemBioChem* 11, 880–902.

Huang, M.Y., Schacht, J., 1990. Formation of a cytotoxic metabolite from gentamicin by liver. *Biochemical Pharmacology* 40, R11–R14.

Hunter, R.P., Koch, D.E., Coke, R.L., Goatley, M.A., Isaza, R., 2003. Azithromycin metabolite identification in plasma, bile, and tissues of the ball python (*Python regius*). *Vet Pharm & Therapeutics* 26, 117–121.

Hunter, R.P., Lynch, M.J., Ericson, J.F., Millas, W.J., Fletcher, A.M., Ryan, N.I., Olson, J.A., 1995. Pharmacokinetics, oral bioavailability and tissue distribution of azithromycin in cats. *Vet Pharm & Therapeutics* 18, 38–46.

Iacopetta, D., Ceramella, J., Catalano, A., Scali, E., Scumaci, D., Pellegrino, M., Aquaro, S., Saturnino, C., Sinicropi, M.S., 2023. Impact of Cytochrome P450 Enzymes on the Phase I Metabolism of Drugs. *Applied Sciences* 13, 6045.

Isoherranen, N., Kunze, K.L., Allen, K.E., Nelson, W.L., Thummel, K.E., 2004. Role of itraconazole metabolites in CYP3A4 inhibition. *Drug Metab Dispos* 32, 1121–1131.

- Jain, R., Danziger, L., 2004. The Macrolide Antibiotics: A Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Overview. *CPD* 10, 3045–3053.
- Kasbekar, N., 2006. Tigecycline: A new glycylcycline antimicrobial agent. *American Journal of Health-System Pharmacy* 63, 1235–1243.
- Kibwage, I.O., Roets, E., Verbruggen, A., Hoogmartens, J., Vanderhaeghe, H., 1988. Thin-layer chromatographic study of the metabolites of erythromycins in the wistar rat. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 434, 177–186.
- Kim, J.-H., Choi, W.-G., Lee, S., Lee, H., 2017. Revisiting the Metabolism and Bioactivation of Ketoconazole in Human and Mouse Using Liquid Chromatography–Mass Spectrometry–Based Metabolomics. *IJMS* 18, 621.
- Kokil, S., Bhatia, M., 2009. Antifungal Azole Metabolites: Significance in Pharmaceutical and Biomedical Analysis. *Journal of Medical Biochemistry* 28, 1–10.
- Krasniqi, S., Matzneller, P., Kinzig, M., Sörgel, F., Hüttner, S., Lackner, E., Müller, M., Zeitlinger, M., 2012. Blood, Tissue, and Intracellular Concentrations of Erythromycin and Its Metabolite Anhydroerythromycin during and after Therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 56, 1059–1064.
- Krause, K.M., Serio, A.W., Kane, T.R., Connolly, L.E., 2016. Aminoglycosides: An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med* 6, a027029.
- Krieter, P., Flannery, B., Musick, T., Gohdes, M., Martinho, M., Courtney, R., 2004. Disposition of Posaconazole following Single-Dose Oral Administration in Healthy Subjects. *Antimicrob Agents Chemother* 48, 3543–3551.
- Lam, J.L., Okochi, H., Huang, Y., Benet, L.Z., 2006. In vitro and in vivo correlation of hepatic transporter effects on erythromycin metabolism: characterizing the importance of transporter-enzyme interplay. *Drug Metab Dispos* 34, 1336–1344.
- Luke, D.R., Foulds, G., 1997. Disposition of oral azithromycin in humans*. *Clin Pharmacol Ther* 61, 641–648.
- Mankin, A.S., 2008. Macrolide myths. *Current Opinion in Microbiology* 11, 414–421.
- Mannargudi, B., McNally, D., Reynolds, W., Uetrecht, J., 2009. Bioactivation of Minocycline to Reactive Intermediates by Myeloperoxidase, Horseradish Peroxidase, and Hepatic

Microsomes: Implications for Minocycline-Induced Lupus and Hepatitis. *Drug Metab Dispos* 37, 1806–1818.

Maritim, A.C., n.d. Studies on the pharmacokinetics and some potential adverse effects of tetracyclines.

Mathews, A., Bailie, G.R., 1987. Clinical pharmacokinetics, toxicity and cost effectiveness analysis of aminoglycosides and aminoglycoside dosing services. *J Clin Pharm Ther* 12, 273–291.

Meagher, A.K., Ambrose, P.G., Grasela, T.H., Ellis-Grosse, E.J., 2005.

Pharmacokinetic/pharmacodynamic profile for tigecycline—a new glycylicycline antimicrobial agent. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 52, 165–171.

Mingeot-Leclercq, M.-P., Glupczynski, Y., Tulkens, P.M., 1999. Aminoglycosides: Activity and Resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 43, 727–737.

Mutak, S., n.d. Azalides from Azithromycin to New Azalide Derivatives.

Nelson, M.L., Levy, S.B., 2011. The history of the tetracyclines. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1241, 17–32.

Neuvonen, P.J., 1976. Interactions with the Absorption of Tetracyclines: *Drugs* 11, 45–54.

Nguyen, F., Starosta, A.L., Arenz, S., Sohmen, D., Dönhöfer, A., Wilson, D.N., 2014.

Tetracycline antibiotics and resistance mechanisms. *Biological Chemistry* 395, 559–575.

Nigam, P.S., Singh, A., 2014. Metabolic pathways | Production of Secondary Metabolites – Fungi, in: *Encyclopedia of Food Microbiology*. Elsevier, pp. 570–578.

Nishida, I., Takumida, M., 1996. Attenuation of Aminoglycoside Ototoxicity by Glutathione. *ORL* 58, 68–73.

Pérez-Cantero, A., López-Fernández, L., Guarro, J., Capilla, J., 2020. Azole resistance mechanisms in *Aspergillus*: update and recent advances. *International Journal of Antimicrobial Agents* 55, 105807.

Peterson, L.R., 2008. A review of tigecycline — the first glycylicycline. *International Journal of Antimicrobial Agents* 32, S215–S222.

Poulikakos, P., Falagas, M.E., 2013. Aminoglycoside therapy in infectious diseases. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 14, 1585–1597.

- Powers, J.H., 2004. Antimicrobial drug development – the past, the present, and the future. *Clinical Microbiology and Infection* 10, 23–31.
- Retsema, J., Fu, W., 2001. Macrolides: structures and microbial targets. *International Journal of Antimicrobial Agents* 18, 3–10.
- Rivetti, S., Romano, A., Mastrangelo, S., Attinà, G., Maurizi, P., Ruggiero, A., 2023. Aminoglycosides-Related Ototoxicity: Mechanisms, Risk Factors, and Prevention in Pediatric Patients. *Pharmaceuticals* 16, 1353.
- Rodvold, K.A., 1999. *Clinical Pharmacokinetics of Clarithromycin*.
- Rybak, L.P., Brenner, M.J., 2015. Aminoglycoside-Induced Oxidative Stress: Pathways and Protection, in: Miller, J., Le Prell, C.G., Rybak, L. (Eds.), *Free Radicals in ENT Pathology, Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice*. Springer International Publishing, Cham, pp. 195–216.
- Schulz, J., Kluwe, F., Mikus, G., Michelet, R., Kloft, C., 2019. Novel insights into the complex pharmacokinetics of voriconazole: a review of its metabolism. *Drug Metabolism Reviews* 51, 247–265.
- Shafiei, M., Peyton, L., Hashemzadeh, M., Foroumadi, A., 2020. History of the development of antifungal azoles: A review on structures, SAR, and mechanism of action. *Bioorganic Chemistry* 104, 104240.
- Sheehan, D.J., Hitchcock, C.A., Sibley, C.M., 1999. Current and Emerging Azole Antifungal Agents. *Clin Microbiol Rev* 12, 40–79.
- Smilack, J.D., 1999. The Tetracyclines. *Mayo Clinic Proceedings* 74, 727–729.
- Spellberg, B., Powers, J.H., Brass, E.P., Miller, L.G., Edwards, J.E., n.d. *Trends in Antimicrobial Drug Development: Implications for the Future*.
- Stead, D.A., 2000. Current methodologies for the analysis of aminoglycosides. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 747, 69–93.
- Templeton, I.E., Thummel, K.E., Kharasch, E.D., Kunze, K.L., Hoffer, C., Nelson, W.L., Isoherranen, N., 2008. Contribution of Itraconazole Metabolites to Inhibition of CYP3A4 In Vivo. *Clin Pharmacol Ther* 83, 77–85.

- Trylska, J., Kulik, M., 2016. Interactions of aminoglycoside antibiotics with rRNA. *Biochemical Society Transactions* 44, 987–993.
- Turnidge, J., 2003. Pharmacodynamics and dosing of aminoglycosides. *Infectious Disease Clinics of North America* 17, 503–528.
- Van De Sande-Bruinsma, N., Grundmann, H., Verloo, D., Tiemersma, E., Monen, J., Goossens, H., Ferech, M., the European Antimicrobial Resistance Surveillance System and European Surveillance of Antimicrobial Consumption Project Groups, 2008. Antimicrobial Drug Use and Resistance in Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 14, 1722–1730.
- Vázquez-Laslop, N., Mankin, A.S., 2018. How Macrolide Antibiotics Work. *Trends in Biochemical Sciences* 43, 668–684.
- Vicens, Q., Westhof, E., 2003. RNA as a Drug Target: The Case of Aminoglycosides. *ChemBioChem* 4, 1018–1023.
- Walker, P.D., Barri, Y., Shah, S.V., 1999. Oxidant Mechanisms in Gentamicin Nephrotoxicity. *Renal Failure* 21, 433–442.
- Wargo, K.A., Edwards, J.D., 2014. Aminoglycoside-Induced Nephrotoxicity. *Journal of Pharmacy Practice* 27, 573–577.
- Whitehouse, L.W., Menzies, A., Dawson, B., Cyr, T.D., By, A.W., Black, D.B., Zamecnik, J., 1994. Mouse hepatic metabolites of ketoconazole: Isolation and structure elucidation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 12, 1425–1441.
- Xing, J., Zang, M., Zhang, H., Zhu, M., 2015. The application of high-resolution mass spectrometry-based data-mining tools in tandem to metabolite profiling of a triple drug combination in humans. *Analytica Chimica Acta* 897, 34–44.
- Yang, W., Wiederhold, N.P., Williams, R.O., 2008. Drug delivery strategies for improved azole antifungal action. *Expert Opinion on Drug Delivery* 5, 1199–1216.
- Zakeri, B., Wright, G.D., 2008. Chemical biology of tetracycline antibiotics This paper is one of a selection of papers published in this Special Issue, entitled CSBMCB — Systems and Chemical Biology, and has undergone the Journal’s usual peer review process. *Biochem. Cell Biol.* 86, 124–136.

Zavrel, M., White, T.C., 2015. Medically Important Fungi Respond to Azole Drugs: An Update. *Future Microbiol.* 10, 1355–1373.

Zonios, D., Bennett, J., 2008. Update on Azole Antifungals. *Semin Respir Crit Care Med* 29, 198–210.

8. SAŽETAK/SUMMARY

Broj infektivnih oboljenja, bilo da je riječ o bakterijskim, gljivičnim, virusnim ili parazitarnim infekcijama, svakodnevno raste i predstavlja nove izazove u liječenju. Osim potrebe za razvojem novih antimikrobnih lijekova, važno je poznavati farmakokinetičke karakteristike već postojećih lijekova kako bi maksimizirali njihov učinak i smanjili pojavnost rezistencije.

Cilj diplomskog rada bio je istražiti metabolizam određenih antimikrobnih lijekova, s naglaskom na reakcije biotransformacije, pregled metabolita i njihovih svojstava. U okviru ovog istraživanja, analizirane su farmakokinetičke karakteristike lijekova, uključujući njihovu apsorpciju, distribuciju, metabolizam i eliminaciju. Istražene su i specifične interakcije između lijekova i enzima koji sudjeluju u njihovom metabolizmu, poput citokroma P450, koji može značajno utjecati na učinkovitost i sigurnost terapije. Također, razmotreni su faktori koji utječu na varijabilnost u farmakokinetici, uključujući genetske polimorfizme, dob, spol i prisutnost drugih bolesti.

Ova saznanja ističu važnost razumijevanja metabolizma antimikrobnih lijekova za optimizaciju terapije i smanjenje rizika od nuspojava i otpornosti na lijekove.

The prevalence of infectious diseases, whether caused by bacteria, fungi, viruses, or parasites, is escalating daily, posing new and complex challenges for effective treatment. Alongside the urgent need for the development of novel antimicrobial agents, it is crucial to gain a comprehensive understanding of the pharmacokinetic characteristics of existing medications to maximize their therapeutic efficacy and minimize the incidence of drug resistance.

The aim of this thesis is to investigate the metabolism of select antimicrobial drugs, with a particular focus on biotransformation reactions, a thorough review of metabolites, and their corresponding properties. This research encompasses an analysis of the pharmacokinetic characteristics of these drugs, including their absorption, distribution, metabolism, and elimination. Moreover, the study delves into specific interactions between these drugs and the enzymes involved in their metabolism, notably cytochrome P450, which can profoundly influence both the efficacy and safety of therapeutic interventions. Furthermore, the thesis considers various factors that contribute to variability in pharmacokinetics, such as genetic polymorphisms, age, sex, and the presence of comorbid conditions.

Overall, this knowledge underscores the critical importance of understanding the metabolism of antimicrobial drugs in order to optimize therapy and mitigate the risks of adverse effects and the development of drug resistance.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za farmaceutsku kemiju
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

METABOLIZAM ODABRANIH ANTIMIKROBNIH LIJEKOVA

Klara Šušnjar

SAŽETAK

Broj infektivnih oboljenja, bilo da je riječ o bakterijskim, gljivičnim, virusnim ili parazitarnim infekcijama, svakodnevno raste i predstavlja nove izazove u liječenju. Osim potrebe za razvojem novih antimikrobnih lijekova, važno je poznavati farmakokinetičke karakteristike već postojećih lijekova kako bi maksimizirali njihov učinak i smanjili pojavnost rezistencije.

Cilj diplomskog rada bio je istražiti metabolizam određenih antimikrobnih lijekova, s naglaskom na reakcije biotransformacije, pregled metabolita i njihovih svojstava. U okviru ovog istraživanja, analizirane su farmakokinetičke karakteristike lijekova, uključujući njihovu apsorpciju, distribuciju, metabolizam i eliminaciju. Istražene su i specifične interakcije između lijekova i enzima koji sudjeluju u njihovom metabolizmu, poput citokroma P450, koji može značajno utjecati na učinkovitost i sigurnost terapije. Također, razmotreni su faktori koji utječu na varijabilnost u farmakokinetici, uključujući genetske polimorfizme, dob, spol i prisutnost drugih bolesti.

Ova saznanja ističu važnost razumijevanja metabolizma antimikrobnih lijekova za optimizaciju terapije i smanjenje rizika od nuspojava i otpornosti na lijekove.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 63 stranica, 19 grafičkih prikaza, 0 tablica i 102 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: antimikrobni lijekovi, metabolizam, farmakokinetika, interakcije, reakcije biotransformacije

Mentor: **Dr. sc. Monika Barbarić**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Monika Barbarić**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Dr. sc. Cvijeta Jakobušić Brala, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Dr. sc. Ana Karković Marković, docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: studeni, 2024.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of Pharmaceutical Chemistry
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

METABOLISM OF SELECTED ANTIMICROBIAL DRUGS

Klara Šušnjar

SUMMARY

The prevalence of infectious diseases, whether caused by bacteria, fungi, viruses, or parasites, is escalating daily, posing new and complex challenges for effective treatment. Alongside the urgent need for the development of novel antimicrobial agents, it is crucial to gain a comprehensive understanding of the pharmacokinetic characteristics of existing medications to maximize their therapeutic efficacy and minimize the incidence of drug resistance. The aim of this thesis is to investigate the metabolism of select antimicrobial drugs, with a particular focus on biotransformation reactions, a thorough review of metabolites, and their corresponding properties. This research encompasses an analysis of the pharmacokinetic characteristics of these drugs, including their absorption, distribution, metabolism, and elimination. Moreover, the study delves into specific interactions between these drugs and the enzymes involved in their metabolism, notably cytochrome P450, which can profoundly influence both the efficacy and safety of therapeutic interventions. Furthermore, the thesis considers various factors that contribute to variability in pharmacokinetics, such as genetic polymorphisms, age, sex, and the presence of comorbid conditions. Overall, this knowledge underscores the critical importance of understanding the metabolism of antimicrobial drugs in order to optimize therapy and mitigate the risks of adverse effects and the development of drug resistance.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 63 pages, 19 figures, 0 tables and 102 references. Original is in Croatian language.

Key words: antimicrobial drugs, metabolism, pharmacokinetics, interactions, biotransformation reactions

Mentor: **Monika Barbarić, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Reviewers: **Monika Barbarić, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.
Cvijeta Jakobušić Brala, Ph.D. *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.
Ana Karković Marković, Ph.D. *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

The thesis was accepted: November, 2024.