

## Prva istraživanja koja su vodila u otkriće azitromicina

### *First Studies Leading to the Development of Azithromycin*

**Tera Tambić**

Akademija medicinskih znanosti Hrvatske

10000 Zagreb, Praška 2

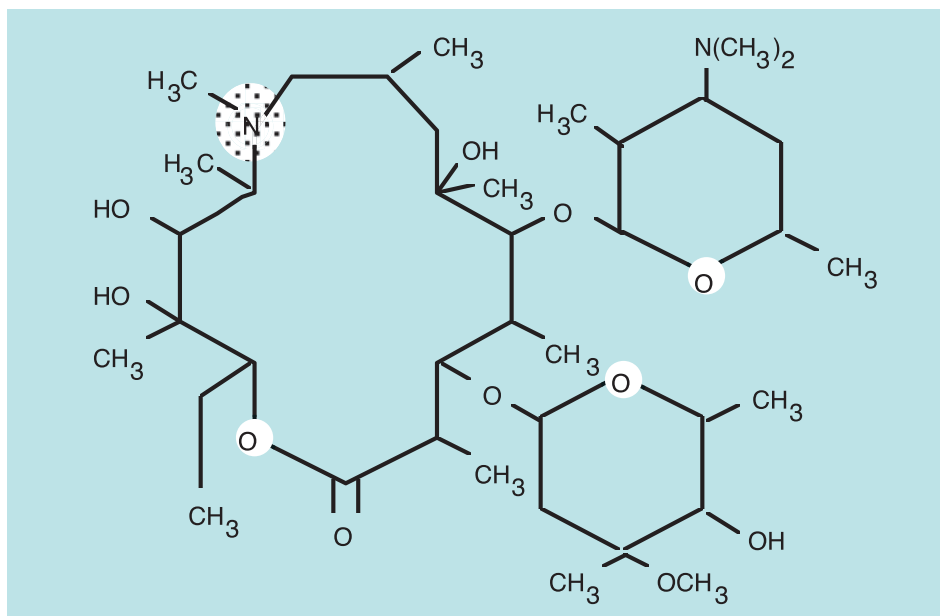
Istraživači Lilly Research Laboratories su 1952. godine uspjeli purificirati eritromicin, prirodni proizvod *Streptomyces erythreusa*, koji je uveden u kliničku praksu kao komercijalni proizvod "Ilotycin". Zbog odlične djelotvornosti, ponajprije na gram-pozitivne uzročnike, ali relativno teške podnošljivosti eritromicina istraživači su nastojali pronaći srodne molekule poboljšanih farmakokinetičkih i farmakodinamskih osobina.

Istraživanje novih makrolida u PLIVINU Znanstvenoistraživačkom odjelu započelo je davne 1974. godine kada su dr. sc. Zrinka Tamburašev, tadašnja voditeljica Znanstvenoistraživačkog odjela PLIVE, i njezini suradnici mr. sc. Gorjana Lazarevski i mr. sc. Gabrijela Kobrehel sintetizirale 12 kemijskih supstancija izvedenih iz molekule eritromicina. Tih 12 derivata eritromicina su poslale na ispitivanje biološke aktivnosti prim. dr. sc. Teri Tambić, tadašnjoj predstojnici Odjela za kliničku mikrobiologiju i hospitalne infekcije Opće bolnice "Dr. Josip Kajfeš", današnje Kliničke bolnice "Sveti Duh".

Ispitivanje biološke aktivnosti nepoznatih spojeva nije bilo lagan posao. Valjalo je definirati najpogodnije otapalo

za nepoznate supstancije te definirati optimalne koncentracije s kojima će pokusi dati relevantne podatke. Relevantnih farmakokinetičkih i farmakodinamskih studija, koje bi sugerirale s kojim koncentracijama nepoznatih supstancija treba računati, nije bilo. U tim početnim ispitivanjima prim. Tera Tambić je otkrila da samo jedan spoj, koji se vodio pod šifrom DCH3, pokazuje antibakterijsko djelovanje, dok ostalih 11 spojeva nije pokazivalo nikakav antibakterijski učinak. Ispitivanja su nastavljena s izabranim spojem i ubrzo se pokazalo da DCH3 odlično djeluje na gram-pozitivne bakterije te da pokazuje i određenu djelotvornost na gram-negativne bakterije. Na sojevima *Escherichia coli* i *Haemophilus influenzae* spoj DCH3 je pokazivao minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) koje su bile više od koncentracija potrebnih za ubijanje gram-pozitivnih bakterija, ali ipak dosta niže negoli za druge gram-negativne bakterije.

Spoj DCH3, kasnije nazvan azitromicin, razvijen je inkorporacijom metiliranog dušika ( $N-CH_3$ ) u 14-eročlani laktonski prsten molekule eritromicina na poziciju 9a te je tako formiran 15-eročlani prsten (slika 1).



Slika 1. Strukturna formula azitromicina

Zbog dušikova atoma koji je na ovaj način postao sastavni dio laktonskog prstena, azitromicin pripada kemijskoj grupi *azalida* te je njihov prvi i još uvijek jedini član. Ova rekonstrukcija laktonskog prstena razlog je za stabilnost azitromicina u kiselom mediju (poput želučanog soka). Taj drugi dušikov atom u molekuli (jedan je već ondje, u aminošećeru pričvršćenom na laktonski prsten) azitromicin čini slabom bazom i zato s većim afinitetom prema intracelularnom okruženju.

U međuvremenu je dr. sc. Zrinka Tamburašev otišla u mirovinu i na njezino mjesto voditelja Znanstvenoistraživačkog odjela PLIVE došao je dr. sc. Slobodan Đokić, koji je nastavio suradnju s prim. dr. sc. Tambić. O prvim rezultatima pretkliničkih ispitivanja novoga makrolidnog spoja prim. Tambić je, ispred autora Kobrehel, Tambić, Tamburašev, Đokić, održala usmeno predavanje u Londonu, 1975. godine, na 9th International Congress of Chemotherapy (1) (slika 2). Prvi rezultati ispitivanja osjetljivosti velikog broja izolata različitih bakterijskih vrsta na azitromicin u komparaciji s eritromicinom pokazali su veću aktivnost azitromicina (2). MIK azitromicina se za 327 gram-pozitivnih izolata kretao od 0,6 do 4,8 µg/mL, a za 469 gram-negativnih izolata od 2,8 do 51,4 µg/mL. Anaerobne bakterije su pokazivale MIK od 0,5 do 1,5 µg/mL. Ova prva istraživanja su pozicionirala azitromicin kao antibiotik odlične djelotvornosti na gram-pozitivne bakterije i anaerobe i ograničena djelovanja na gram-negativne bakterije.

Za svaki novi antibiotik nužno je odrediti optimalnu koncentraciju diska kojim bi se mogla rutinski procjenjivati njegova djelotvornost u praksi. Na osnovi regresijske linije usporedbe vrijednosti minimalnih inhibičkih koncentracija i veličine zone inhibicije (slika 3) određeno je da koncentracija diska za testiranje djelotvornosti azitromicina u rutini bude 10 µg (3).

Ova pretklinička mikrobiološka ispitivanja pokazala su da spoj prvotno zvan DCH3, a potom nazvan azitromicin pokazuje antibakterijski učinak i otvorila su mogućnosti daljnjih ispitivanja koncentracije tog spoja u raznim tjelesnim tekućinama i tkivima. Naša početna ispitivanja koncentracija azitromicina u krvi i likvoru mačaka već su dala naslutiti ono što je poslije potvrđeno u opsežnijim farmakokinetičkim istraživanjima tvrtki Dunlop i Pfizer, a to je da se azitromicin u krvi nalazi u niskim koncentracijama te da odlično prodire u tkiva. S obzirom na niske koncentracije u krvi koncentracija u likvoru mu je također niska.

Nakon pretkliničkih istraživanja slijedila su klinička ispitivanja azitromicina u raznim kliničkim indikacijama od kojih je većina napravljena u suradnji s pok. prof. Slavkom Schönwaldom i stručnjacima Klinike za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević".

Potvrdom kliničke djelotvornosti pokazalo se da je doista azitromicin, spoj nekada zvan DCH3, veliko otkriće suvremene medicine.

M-56

BACTERIOLOGICAL EXAMINATION OF THE EFFECT OF SOME NEW COMPOUNDS OF ERYTHROMYCIN ON PATHOGENIC MICRO - ORGANISMS

G.Kobrehel, T.Tambić, Z.Tamburašev and S.Đokić

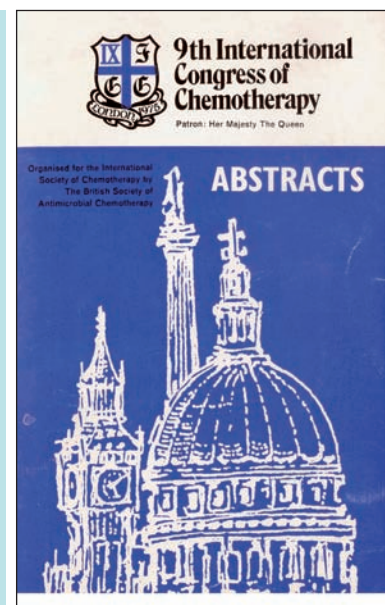
"PLIVA" Pharmaceutical and Chemical Works, Zagreb, 89 Lole Ribara, Yugoslavia

General Hospital "J.Kajfeš", Dept. of Clinical Microbiol. and Hospital Infections, Zagreb

The minimal inhibitory concentration of parasubstituted derivatives N-/benzenesulfonyl/erythromycylamine was examined by the tube dilution method on bacteria isolated from the pathogenic material of the patients. Their combined antibacterial action "in vitro" with trimethoprim was examined also.

Their concentration in the blood of rabbits, after having been per-orally applied once, was established, as well as their stability in acid medium too.

The obtained results have been compared with the results of basic substance and the relation of their structure and bacteriological effect has been discussed.



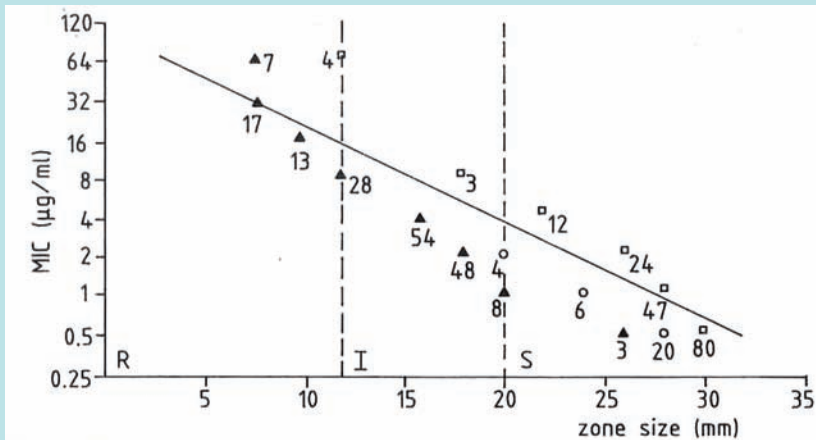


Fig. 2: Regression line of azithromycin minimal inhibitory concentrations (MICs) versus inhibition zones sizes produced with 10 µg disk. □ Gram-positive bacteria (170 strains), ▲ gram-negative bacteria (178 strains), ○ anaerobic bacteria (30 strains). S = sensitive, I = intermediate, R = resistant.

Slika 3. Prvo istraživanje odnosa minimalnih inhibitornih koncentracija i veličine zone inhibicije pri uporabi diskova s različitim koncentracijama antibiotika

## Literatura

1. KOBREHEL G, TAMBIĆ T, TAMBURAŠEV Z, ĐOKIĆ S. Bacteriological examination of the effect of some new compounds of erythromycin on pathogenic microorganisms. In: Abstracts. 9th International Congress of Chemotherapy. London, 1975.
2. TAMBIĆ T, ĐOKIĆ S, DAVILA D, KOLAČNY-BABIĆ L. Erythromycin series 14. Antibacterial activity of 15-membered macrolide antibiotic azithromycin. Acta Pharm Jugosl 1989; 39:233-7.
3. DAVILA D, TAMBIĆ T, ĐOKIĆ S, KOLAČNY-BABIĆ L. Disk diffusion sensitivity testing and antibacterial activity of azithromycin. Arzneimittel Forsch 1992; 42:156-9.

### Adresa za dopisivanje / Corresponding Address

Prim. dr. sc. Tera Tambić, dr. med.  
Akademija medicinskih znanosti Hrvatske  
10000 Zagreb, Praška 2  
e-mail: amzh@zg.t-com.hr

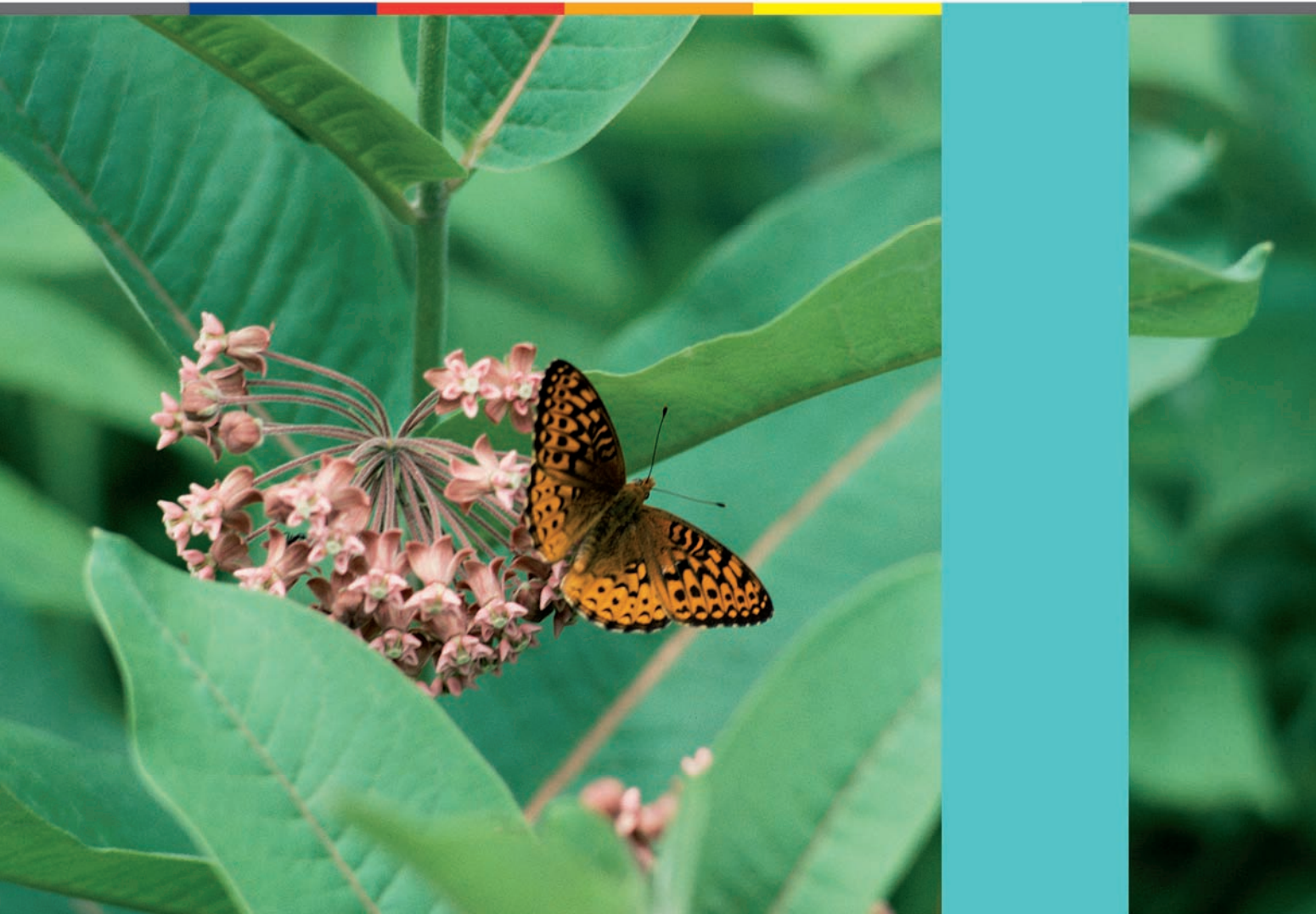
### Primljeno / Received

10. 3. 2009.  
March 10, 2009

### Prihvaćeno / Accepted

14. 3. 2009.  
March 14, 2009

**Sumamed<sup>®</sup>**  
azitromicin



*20 godina ponosa i povjerenja!*

1 g tijekom 3 dana u sklopu trojne terapije

Helicobacter  
pylori

 **PLIVA**

**PLIVA**  antibiotici