

VILNIAUS UNIVERSITETAS

MEDICINOS FAKULTETAS

Biomedicinos mokslų institutas

Farmacijos ir farmakologijos centras

MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS

Beta-laktaminių antibiotikų stabilumo tyrimas

Studentas (-ė): Girdenė Kasparaitė

5 kursas, 2 grupė

Darbo vadovas: dr. Nora Šlekienė

Farmacijos ir farmakologijos centro vadovas: doc. dr. Kristina Garuolienė

Biomedicinos mokslų instituto direktorius: prof. dr. Algirdas Edvardas Tamošiūnas

Darbo įteikimo data: 2024-05-13 Registracijos Nr. _____

Studento elektroninio pašto adresas: girdene.kasparaite@mf.stud.vu.lt

2024

TURINYS

SANTRAUKA	4
SUMMARY	6
SANTRUMPOS IR SĄVOKOS	8
ĮVADAS	9
1. LITERATŪROS APŽVALGA	11
1.1. ANTIBIOTIKAI, JŲ SVARBA IR KLASIFIKACIJA	11
1.2. BETA-LAKTAMINIAI ANTIBIOTIKAI	14
1.3. PENICILINAI.....	15
1.3.1. AMOKSICILINAS	17
1.4. CEFALOSPORINAI	19
1.4.1. CEFTRIAKSONAS.....	20
1.5. KARBAPENEMAI.....	22
1.5.1. IMIPENEMAS.....	23
1.6. MONOBAKTAMAI.....	24
1.7. APIBENDRINIMAS	24
1.8. BETA-LAKTAMINIŲ VAISTŲ STABILUMO PROBLEMA	25
2. TYRIMO MEDŽIAGOS IR METODAI	31
2.1. UV-VIS SPEKTROFOTOMETRIJA.....	32
2.2. KOLORIMETRIJA	33
3. TYRIMO REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	34
3.1. UV-VIS SPEKTROFOTOMETRIJOS MATAVIMAI.....	34
3.1.1. AMOKSICILINO UV-VIS SPEKTRAI	36
3.1.2. CEFTRIAKSONO UV-VIS SPEKTRAI	38
3.1.3. IMIPENEMO UV-VIS SPEKTRAI	39
3.2. TIRPALŲ FLUORESCENCIJA	40
3.3. KOLORIMETRIJA - SPALVOS POKYČIO SKAIČIAVIMAS	42

3.3.1. KONCENTRACIJOS ĮTAKA STABILUMUI.....	42
3.3.2. TEMPERATŪROS REŽIMO ĮTAKA STABILUMUI	45
3.3.3. TIRPIKLIO ĮTAKA STABILUMUI.....	48
4. IŠVADOS	52
5. REKOMENDACIJOS	53
6. LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	54
PRIEDAI.....	62

SANTRAUKA

Girdenės Kasparaitės magistro baigiamasis darbas „Beta-laktaminių antibiotikų stabilumo tyrimas“. Darbo vadovė dr. Nora Šlekienė. Vilniaus universiteto medicinos fakulteto Biomedicinos mokslų instituto Farmacijos ir farmakologijos centras.

Tyrimo tikslas: Nustatyti beta-laktaminių antibiotikų (amoksicilino, ceftriaksono ir imipenemo) stabilumo priklausomybę nuo įvairių veiksnių (tirpiklio, laikymo sąlygų bei laiko intervalo ir koncentracijos) naudojant UV-VIS spektrofotometriją.

Uždaviniai:

1. Įvertinti beta-laktaminių antibiotikų (amoksicilino, ceftriaksono ir imipenemo) stabilumo priklausomybę nuo naudojamo tirpiklio, naudojant UV-VIS spektrofotometriją.
2. Nustatyti laikymo sąlygų (šaldytuvo ir kambario temperatūrų) įtaką šių antibiotikų stabilumui.
3. Nustatyti, kaip keičiasi beta-laktaminių antibiotikų stabilumas skirtingais laiko tarpais (30 min, 1, 2, 4, 6, 8, 24 valandos).
4. Nustatyti beta-laktaminių antibiotikų stabilumo priklausomybę nuo jų koncentracijos.

Darbo metodika: Paruošti kiekvieno vaisto skirtingų koncentracijų tirpalai: amoksicilino – 250 mg/ml, 125 mg/ml, 50 mg/ml, ceftriaksono – 200 mg/ml, 100 mg/ml, 50 mg/ml, imipenemo – 10 mg/ml, 5 mg/ml, 2,5 mg/ml. Naudoti du tirpikliai – 0,9% NaCl ir 5% gliukozės tirpalai. Antibiotikų tirpalai laikyti dviejuose temperatūros režimuose – kambario (20 ± 2 °C) ir šaldytuvo (3 °C). UV-VIS matavimai atlikti šiais laiko tarpais - 30 min, 1, 2, 4, 6, 8, 24 valandos. Šalia matavimų buvo darytos mėginių nuotraukos, iš kurių kolorimetrijos metodu apskaičiuotas spalvos pokytis kaip atstumas tarp dviejų spalvų.

Rezultatai: UV-VIS spektrofotometrijos rezultatuose matoma amoksicilino 250 mg/ml ir 125 mg/ml koncentracijos tirpalų spektruose po 30 min. susidaranti ir toliau laikui bėgant didėjanti papildoma smailė, kuri atsiranda tirpaluose vykstantčio beta-laktaminio žiedo skilimo metu. Didesnės koncentracijos tirpaluose šis procesas vyko greičiau, lyginant su mažesnės koncentracijos tirpalais. Antibiotikų degradavimo reakcijų metu susidarantys produktai fluorescuoja ir trukdo gauti tikslius UV-VIS spektrofotometrijos matavimų rezultatus (kambario temperatūroje laikytiems tirpalams jau po 30 min., o šaldytuve - po 1 val.). Dėl šios priežasties tirpalų stabilumo (tirpalų spalvos) pokyčiams įvertinti buvo naudotas kolorimetrijos metodas. Ryškiausi spalvos pokyčiai apskaičiuoti amoksicilino tirpaluose, kuriuose po 2 valandų, kambario

temperatūroje laikytų NaCl tirpalų spalvos pokytis skiriasi 3 kartus, lyginant didžiausios ir mažiausios koncentracijos tirpalus. 250 mg/ml tirpalo spalva iš gelsvos pakito į rusvą, o 50 mg/ml tirpalo spalva iš šviesiai gelsvos tapo gelsva.

Išvados: Nustatyta, jog šaldytuve laikomi amoksicilino, ceftriaksono ir imipenemo tirpalai išlieka stabilūs apie 2,5 karto ilgiau nei kambario temperatūroje. Nustatyta, kad ceftriaksono ir imipenemo visų tirtų koncentracijų tirpalų spalvos pokyčiai iki 8 val. nestebimi, išskyrus paskutinį 24 val. tašką, ties kuriuo matomas ceftriaksono 200 mg/ml, 100 mg/ml, imipenemo 10 mg/ml koncentracijų spalvos pokytis iš bespalvio į gelsvą. Šie antibiotikai demonstruoja pakankamai gerą stabilumą, lyginant su amoksicilinu, kurio didžiausios koncentracijos tirpalo (250 mg/ml) spalvos pokytis iš šviesiai gelsvos į tamsiai geltoną stebimas jau po 1 val. 125 mg/ml koncentracijos tirpalo toks pats spalvos pokytis stebimas po 2 val., o 50 mg/ml – po 4 val. Tyrimas parodė, kad priklausomai nuo koncentracijos, spalvos pokytis gali skirtis nuo 1,3 iki 2,5 karto, skilimo proceso greičio skirtumai tarp skirtingų koncentracijų taip pat matomi UV-VIS spektruose. Stabiliausia išliko mažiausia, 50 mg/ml amoksicilino koncentracija (iki 2 val.), o tai sutampa su didžiausia registruotojo pakuotės lapelyje nurodyta koncentracija. Ceftriaksono didžiausios tirtos koncentracijos tirpalas (200 mg/ml) išlieka stabilus iki 8 val., tai irgi atitinka registruotojo nurodymus. 10 mg/ml imipenemo tirpalas taip pat išlieka stabilus iki 8 val., o tai yra daugiau nei nurodyta vaisto pakuotės lapelyje rekomenduojama koncentracija (5 mg/ml). Duomenys dėl tirpiklio įtakos stabilumui yra prieštaringi – UV-VIS spektrofotometrijos rezultatai rodo didesnę amoksicilino stabilumą 0,9% NaCl tirpiklyje, o spalvos pokyčio skaičiavimai – 5% gliukozės tirpiklyje. Ceftriaksono ir imipenemo stabilumui tirpiklis įtakos neturi. Dėl fluorescuojančių antibiotikų skilimo produktų, UV-VIS spektrofotometrija yra nerekomenduojamas metodas beta-laktaminių antibiotikų stabilumo tyrimams.

SUMMARY

Master's thesis of Girdenė Kasparaitė „Study on the Stability of Beta-Lactam Antibiotics“. Supervisor dr. Nora Šlekienė. Vilnius University, Faculty of Medicine, Institute of Biomedical Sciences, Pharmacy and Pharmacology Center.

Aim of the study: To determine the dependence of beta-lactam antibiotics (amoxicillin, ceftriaxone, and imipenem) stability from various factors (solvent, storage conditions, time interval and concentration) using UV-VIS spectrophotometry.

Objectives:

1. To evaluate the dependence of the stability of beta-lactam antibiotics (amoxicillin, ceftriaxone, and imipenem) from a chosen solvent using UV-VIS spectrophotometry.
2. To determine the influence of storage conditions (room and fridge temperatures) to the stability of these antibiotics.
3. To determine how the stability of beta-lactam antibiotics changes at different points of time (30 min., 1, 2, 4, 6, 8, 24 hours).
4. To determine how the stability of beta-lactam antibiotics depends on their concentration.

Methods: Different concentration solutions of each antibiotic were prepared: amoxicillin – 250 mg/ml, 125 mg/ml, 50 mg/ml, ceftriaxone – 200 mg/ml, 100 mg/ml, 50 mg/ml, imipenem – 10 mg/ml, 5 mg/ml, 2,5 mg/ml. Two solvents were used – 0,9% NaCl and 5% glucose solutions. The antibiotic solutions were stored in two temperature regimes – room (20 ± 2 °C) and fridge (3 °C). UV-VIS spectrophotometry measurements were performed at these time points - 30 min, 1, 2, 4, 6, 8, 24 hours. Along with spectrophotometric measurements there were photos taken of the samples, from which the color difference, as a distance between two colors, was calculated using colorimetry method.

Results: In UV-VIS spectrophotometry spectra of amoxicillin 250 mg/ml and 125 mg/ml solutions, there was an additional peak visible, which formed after 30 minutes and increased as time went on, it reflects the opening of the beta-lactam ring. This process occurred faster in higher concentration solutions than in lower concentrations. Products formed during antibiotic degradation reactions fluoresce and interfere with UV-VIS spectrophotometer readings (this occurs after 30 minutes in room temperature and 1 hour in fridge temperature). For this reason, the colorimetry method was used to calculate the color difference and further evaluate the stability of antibiotic solutions. The most notable color difference was calculated from amoxicillin

solutions, in which after 2 hours the color difference in room temperature and NaCl solvent is 3 times higher in the highest concentration solution, compared to the lowest concentration solution. The 250 mg/ml solution changed color from light yellow to brown and the 50 mg/ml solution changed color from light yellow to yellow.

Conclusions: It was determined that amoxicillin, ceftriaxone and imipenem solutions remain stable in the fridge about 2,5 times longer than those kept in room temperature. During the first 8 hours there was no difference observed in ceftriaxone and imipenem solutions, except the last 24-hour point in which a color difference from clear to slightly yellow is seen in 200 mg/ml and 100 mg/ml ceftriaxone solutions and 10 mg/ml imipenem solution. These two antibiotics demonstrate quite good stability, compared to amoxicillin, whose highest concentration (250 mg/ml) solution changed color from light yellow to dark yellow after only 1 hour. 125 mg/ml solution changed color the same way after 2 hours, 50 mg/ml – after 4 hours. Depending on concentration of the solution, the color change can vary from 1,3 to 2,5 times and the decomposition processes are visible in UV-VIS spectra. The lowest, 50 mg/ml, amoxicillin concentration remained the most stable (up to 2 hours), which matches with the highest concentration listed in the summary of product characteristics provided for this drug. Ceftriaxone remains stable up to 8 hours even in the highest concentration solution (200 mg/ml), which matches the information provided in the summary as well. Imipenem at its highest concentration of 10 mg/ml remains stable for 8 hours, which is more than recommended in the summary (5 mg/ml). The data on the solvents influence on stability was contradictory – UV-VIS spectrophotometry results showed better amoxicillin stability in 0,9% NaCl, but colorimetry calculations showed better stability in 5% glucose. The solvent has no influence on the stability of ceftriaxone and imipenem. Due to fluorescence of the products formed during antibiotic decomposition reactions, UV-VIS spectrophotometry is not recommended as a method to investigate the stability of beta-lactam antibiotics.

SANTRUMPOS IR SAŲVOKOS

PBP – peniciliną prisijungiantys baltymai (angl. *penicillin-binding proteins*)

MSSA – meticilinui jautrus *Staphylococcus Aureus*

MRSA – meticilinui atsparus *Staphylococcus Aureus*

SPP. – rūšys (lot. *Species pluralis*)

PSO – Pasaulio Sveikatos Organizacija

DDD – nustatyta paros dozė (angl. *defined daily dose*)

EU/EEA – Europos Sąjunga/Europos Ekonominė Erdvė

UV-VIS – ultravioletinė ir regimoji šviesa (angl. *ultraviolet-visible*)

RBG – raudona, žalia, mėlyna spalvų sistema (angl. *red, green, blue*)

L*a*b (CIELAB) – spalvų erdvės modelis, kuriame naudojamas šviesumas (L*) bei raudona, žalia, mėlyna ir geltona spalvos (a* ir b*)

ĮVADAS

Antibiotikai yra pagrindiniai vaistai bakterinių infekcijų gydymui, o iš jų daugiausiai pacientams skiriami priklausantys beta-laktaminių antibiotikų grupei (1). Beta-laktaminiai antibiotikai, be vartojimo per burną, gali būti naudojami injekcijų forma, dažniausiai gydant sunkias infekcijas. Tam jie yra tirpinami vandeniniuose tirpaluose ir dėl to atsiranda stabilumo problema. Ištirpinti vandeniniuose tirpaluose beta-laktaminiai antibiotikai tampa jautrūs hidrolizei, kurios metu suardomas beta-laktaminis žiedas, o jis yra būtinas šių vaistų antimikrobiniam poveikiui (2). Norint pacientui skirti antibiotikų infuzijas, svarbu turėti tikslius stabilumo duomenis ir žinoti, kaip ilgai po paruošimo vaistas tinkamas naudojimui, neprarandant reikiamo jo poveikio. Tačiau antibiotikų preparatų charakteristikų santraukose nurodyti stabilumo duomenys daugeliu atvejų yra bendriniai ir neišsamūs, nenurodoma viena ar kelios iš šių savybių: temperatūrinis režimas, skirtingų koncentracijų stabilumas, neatsižvelgiama į tirpiklio įtaką. Kai kuriais atvejais nurodoma tik kad paruoštą vaistą reikia suvartoti nedelsiant (3). Tokie duomenys yra nepakankami, ypač vertinant, ar vaistas yra tinkamas skirti kaip nepertraukiama infuzija. Dėl šių priežasčių svarbu tirti beta-laktaminių antibiotikų stabilumą ir turėti kuo daugiau duomenų saugiam ir efektyviam šių vaistų vartojimui.

Darbo tikslas - nustatyti beta-laktaminių antibiotikų (amoksicilino, ceftriaksono ir imipenemo) stabilumo priklausomybę nuo įvairių veiksnių (tirpiklio, laikymo sąlygų bei laiko intervalo ir koncentracijos) naudojant UV-VIS spektrofotometriją.

Uždaviniai:

1. Įvertinti beta-laktaminių antibiotikų (amoksicilino, ceftriaksono ir imipenemo) stabilumo priklausomybę nuo naudojamo tirpiklio, naudojant UV-VIS spektrofotometriją.
2. Nustatyti laikymo sąlygų (šaldytuvo ir kambario temperatūrų) įtaką šių antibiotikų stabilumui.
3. Nustatyti, kaip keičiasi beta-laktaminių antibiotikų stabilumas skirtingais laiko tarpais (30 min, 1, 2, 4, 6, 8, 24 valandos)
4. Nustatyti beta-laktaminių antibiotikų stabilumo priklausomybę nuo jų koncentracijos.

Magistro darbo metu studentės savarankiškai atlikti darbai:

- Su darbo tema susijusios literatūros paieška ir analizė
- UV-VIS spektrofotometrijos matavimai
- Nuotraukų darymas ir kolorimetriniai skaičiavimai
- Darbo rezultatų analizė ir išvadų formulavimas

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. ANTIBIOTIKAI, JŲ SVARBA IR KLASIFIKACIJA

Pirmą kartą terminas „antibiotikas“ buvo panaudotas 1941 metais ir apibūdintas kaip bet kuri maža molekulė, pagaminta mikrobo, kuri trukdo kitų mikrobo augimui (4). Bėgant laikui šis apibrėžimas prasiplėtė ir šiuo metu apima natūralios ir sintetinės kilmės junginius, kurie pasižymi įvairiu antimikrobinu poveikiu. Atradus pirmuosius antibiotikus ir supratus jų reikšmę, prasidėjo antibiotikų „aukso amžius“ (Golden age of antibiotics), kurio metu buvo atrastos ir sukurtos pagrindinės antibiotikų klasės, o gyvybei pavojų kėlusios infekcijos tapo išgydomos (5).

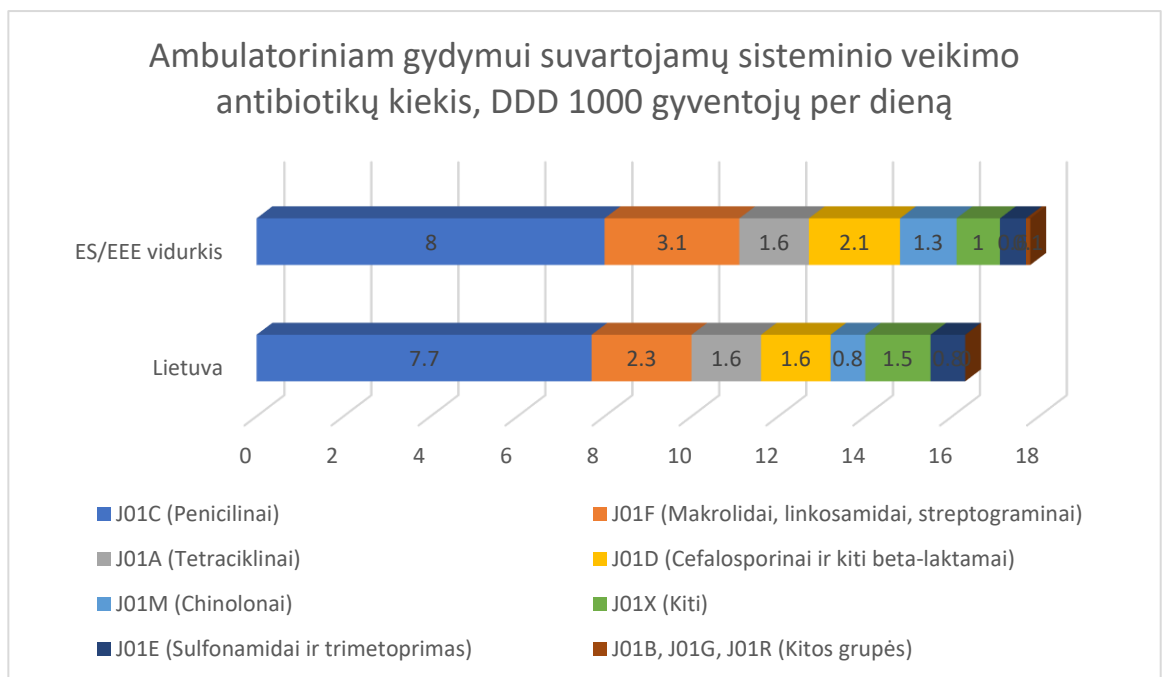
Antibiotikai savo veikimu taikosi į svarbiausius komponentus bakterinės ląstelės gyvybei – ląstelės sienelę, baltymų sintezę, nukleorūgščių replikaciją. Tuo pačiu siekiama kuo mažiau pakenkti žmogaus ląstelėms, atsižvelgiant į jų struktūros ir funkcijos skirtumus, lyginant su bakterinėmis ląstelėmis (6). Antibiotikai pagal veikimo mechanizmą skirstomi į bakteriostatinius ir baktericidinius (1 lentelė). Bakteriostatiniu poveikiu pasižymintys antibiotikai stabdo bakterijos augimą ir reprodukciją. Tokiam veikimo mechanizmui priklauso baltymų sintezės stabdymas, trukdymas DNR replikacijai bei įsiterpimas į svarbius ląstelės metabolizmo procesus. Tokiais būdais bakteriostatiniai antibiotikai sustabdo bakterijų dauginimąsi ir leidžia organizmo imuninei sistemai pačiai kovoti su infekcija (7). Baktericidiniai antibiotikai, tarp jų ir beta-laktaminiai, tiesiogiai žudo ląsteles. Jų taikynys dažniausiai yra ląstelės sienelė. Įvairiais būdais įsiterpdami į ląstelės sienelės sintezės procesą, baktericidiniai antibiotikai lemia ląstelės struktūros susilpnėjimą, o dėl to ji subliūkšta ir žūva (8).

1 lentelė. Baktericidinių ir bakteriostatinių antibiotikų klasės bei atstovų pavyzdžiai (9).

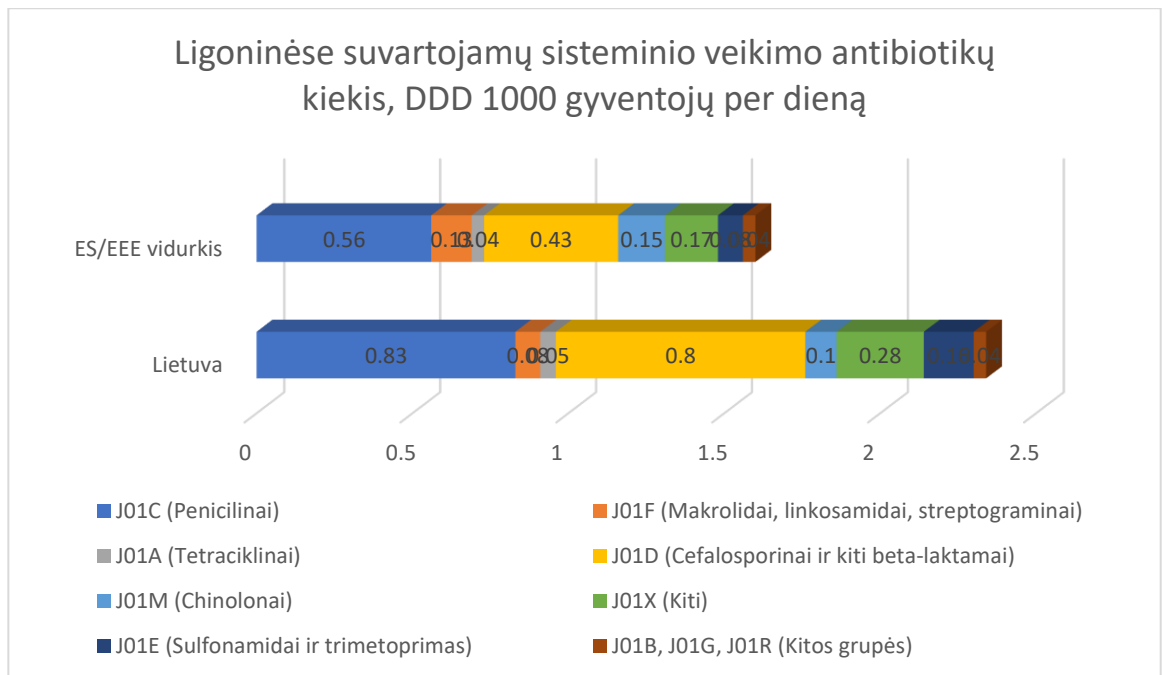
Baktericidinių antibiotikų klasės	Atstovai
Aminoglikozidai	Gentamicinas, streptomocinas
Beta-laktaminiai antibiotikai	Penicilinai – amoksicilinas, ampicilinas, penicilinas Cefalosporinai – ceftriaksonas, cefaleksinas, cefadroksilis Karbapenemai – imipenemas, meropenemas Monobaktamai – aztreonamas
Fluorochinolonai	Ciprofloksacinas, levofloksacinas
Polipeptidai	Vankomicinas, daptomicinas
Nitroimidazolai	Metronidazolis

Bakteriostatinių antibiotikų klasės	Atstovai
Tetraciklinai	Doksiciklinas, tetraciklinas
Linkozamidai	Klindamicinas
Makrolidai	Azitromicinas
Oksazolidinonai	Linezolidas
Sulfonamidai	Sulfametoksazolas

Kiekviena iš šių antibiotikų klasių turi savo išskirtinius privalumus, aktyvumo spektrą ir veikimo mechanizmus, dėl to yra reikšmingi kovojant su bakterinėmis infekcijomis. Šio magistrinio darbo objektas yra beta-laktaminių antibiotikų klasė, kuri, remiantis 2022 metų Europos ligų prevencijos ir kontrolės centro (ECDC) statistikos duomenimis, yra dažniausiai ir plačiausiai naudojami antibiotikai Lietuvoje ir visoje Europos Sąjungoje (1). Lietuvoje ambulatoriniam gydymui daugiausiai suvartojama penicilinų, kurie sudaro 47% visų skiriamų antibiotikų nustatytos paros dozės 1000 gyventojų (1 pav.). Ligoninėse penicilinai sudaro 35% visų skiriamų antibiotikų nustatytos paros dozės 1000 gyventojų, o cefalosporinai - 34% (2 pav.). Tai yra dvi pagrindinės antibiotikų grupės naudojamos pacientui gydymui ligoninėse.

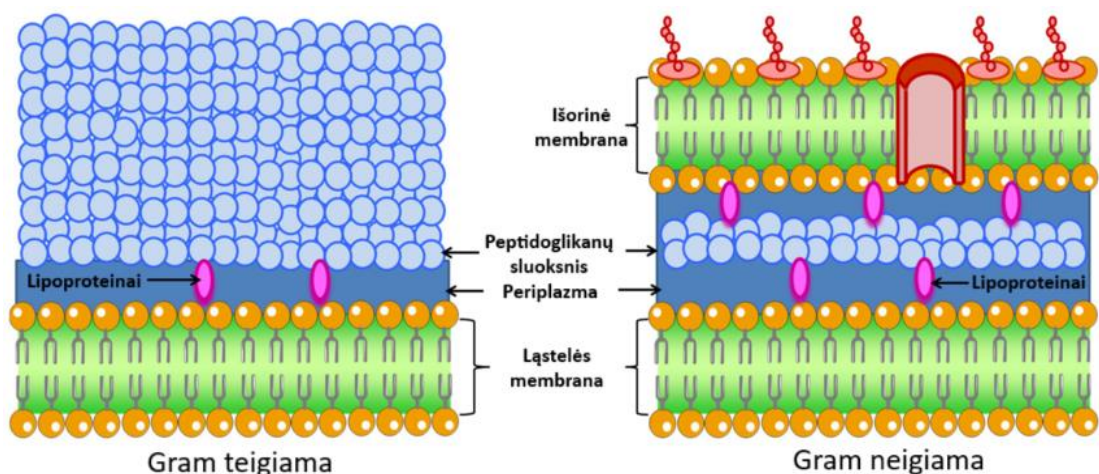


1 pav. Ambulatoriniam gydymui suvartojamų sisteminio poveikio antibiotikų kiekis, ES/EEE vidurkio ir Lietuvos duomenų palyginimas (1).



2 pav. Ligoninėse suvartojamų sisteminio poveikio antibiotikų kiekis, ES/EEE vidurkio ir Lietuvos duomenų palyginimas (1).

Bakterijos skirstomos į gram teigiamas (G+) ir gram neigiamas (G-) remiantis Gramo dažymo metodu. Gram teigiamos bakterijos turi storą peptidoglikanų sluoksnį savo sienelėje, kuris sulauko dažus ir bakterijos atrodo tamsiai violetinės. Gram neigiamos bakterijos savo ląstelės sienelėje turi ploną peptidoglikanų sluoksnį, dėl ko žiūrint pro mikroskopą atrodo rožinės. Nors šių bakterijų išorinis peptidoglikanų sluoksnis yra plonesnis, jos papildomai turi apsauginę išorinę membraną, pro kurią antibiotikams yra sunku prasibrauti (3 pav.). Dėl to, gram teigiamos bakterijos yra jautresnės antibiotikų poveikiui, nei gram neigiamos bakterijos (10).



3 pav. Gram teigiamų ir gram neigiamų bakterijų sienelės struktūra (11).

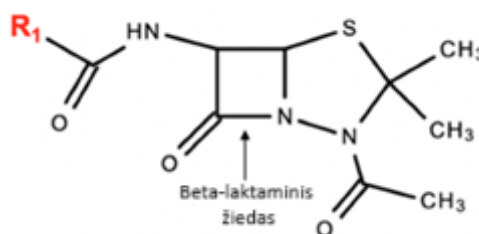
Antibiotikai gali būti skirstomi į siauro ir plataus veikimo spektro. Plataus veikimo spektro antibiotikai veikia prieš gram teigiamas ir gram neigiamas bakterijas. Šiai grupei priklauso kai

kurie cefalosporinai ir fluorochinolonai. Priešingai, siauro veikimo spektro antibiotikai yra veiksmingi tik prieš tam tikrus bakterijų tipus ar rūšis, pavyzdžiui, tik prieš gram teigiamas bakterijas veikiantis vankomicinas (12).

Nors antibiotikų atradimas pakeitė bakterinių infekcijų gydymą, nuo pat pradžių jiems pavojų kelia vis didėjantis bakterijų atsparumas, keliantis susirūpinimą visame pasaulyje. Netinkamas antibiotikų vartojimas (pvz.: neužbaigtas vartojimo kursas, nepakankama dozė, naudojimas esant virusinėms infekcijoms) dar labiau greitina šią problemą, o dėl to dalis antibiotikų laikui bėgant tapo mažiau veiksmingi ir rečiau naudojami (13).

1.2. BETA-LAKTAMINIAI ANTIBIOTIKAI

Beta-laktaminiai antibiotikai yra daugiausiai ambulatoriniame gydyme bei ligoninėse naudojama antibiotikų klasė. Remiantis ECDC 2022 m. duomenimis, Lietuvoje ši klasė sudaro 57% visų ambulatoriniam gydymui (1 pav.) ir 70% gydymui ligoninėse (2 pav.) suvartojamų antibiotikų. (7). Beta-laktaminiai antibiotikai yra antimikrobinės terapijos pagrindas, kuris apima įvairius junginius, savo struktūroje turinčius beta-laktaminį žiedą (4 pav.).

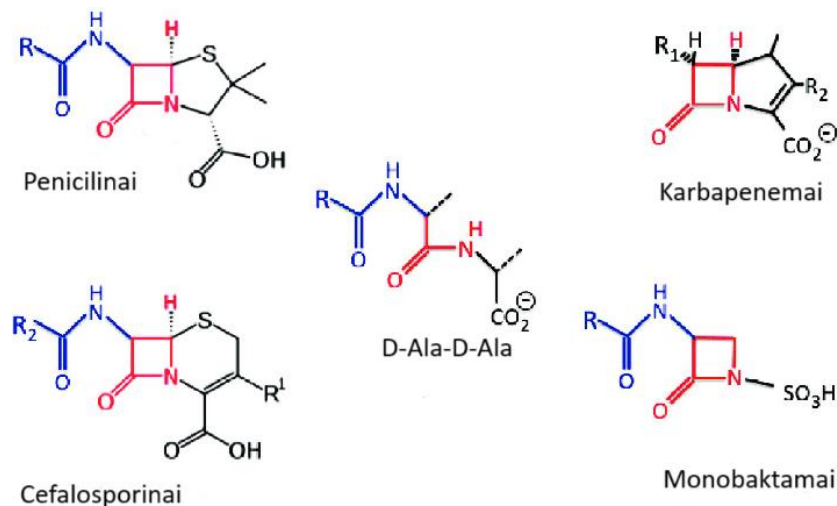


4 pav. Penicilinų cheminė struktūra (14).

Šiai klasei priklauso penicilinai, cefalosporinai, karbapenemai ir monobaktamai, kiekvienis iš jų pasižymi unikaliomis savybėmis ir klinikiniu taikymu, o jų veikimo mechanizmas nukreiptas į bakterijos ląstelės sienelės sintezės stabdymą per sąveiką su peniciliną prisijungiančiais baltymais.

Visi beta-laktaminiai antibiotikai turi baktericidinį poveikį. Jie kovalentiniu ryšiu prisijungia prie peniciliną prisijungiančių baltymų (PBP), kurie yra svarbūs paskutiniam bakterinės ląstelės sienelės sintezės etapui – peptidoglikanų tarpusavio susijungimui (angl. *cross-linking*). Šis etapas vyksta tiek gram neigiamų, tiek gram teigiamų bakterijų ląstelėse. Kiekviena bakterijų rūšis turi savo išskirtinį peniciliną prisijungiančių baltymų rinkinį, kurį sudaro nuo 3 iki 8 skirtingų baltymų. Taigi, bet kuris beta-laktaminis antibiotikas prisijungia prie šių baltymų aktyviajame centre

esančio serino, o toks prisijungimas įmanomas dėl to, kad beta-laktaminiai antibiotikai savo struktūra yra panašūs į D-alanyl-D-alaniną – tikrąjį PBP substratą (5 pav.). Įvykus šiam prisijungimui yra sustabdomas peptidoglikanų tarpusavio susijungimas, dėl to bakterinės ląstelės sienelė tampa nestabili ir galiausiai subliūkšta (15,16).



5 pav. Beta-laktaminių antibiotikų grupės ir jų struktūrinis panašumas į D-alanyl-D-alaniną (17).

Beta-laktaminių antibiotikų skyrimo indikacijos yra labai plačios – nuo prevencijos, lengvų infekcinių ligų gydymo, iki sunkių ir gyvybei pavojingų infekcijų ir sepsio, priklausomai nuo pasirinkto antibiotiko veikimo spektro.

Magistriniam tyrimui pasirinkau po vieną beta-laktaminių antibiotikų injekcinės formos atstovą iš šių trijų pogrupių – penicilinų, cefalosporinų ir karbapenemų. Monobaktamų grupė neįtraukta, kadangi Lietuvoje 2023 m. buvo registruotas aztreonamas tik inhaliacine forma. Intraveniniai antibiotikai dažnai yra lašinami per tam tikrą laiko tarpą, kuris gali būti iki kelių valandų, o inhaliacinė forma yra įkvepiama per 2-3 minutes (18), dėl to yra neaktualu monobaktamą lyginti su kitais intraveniniais antibiotikais.

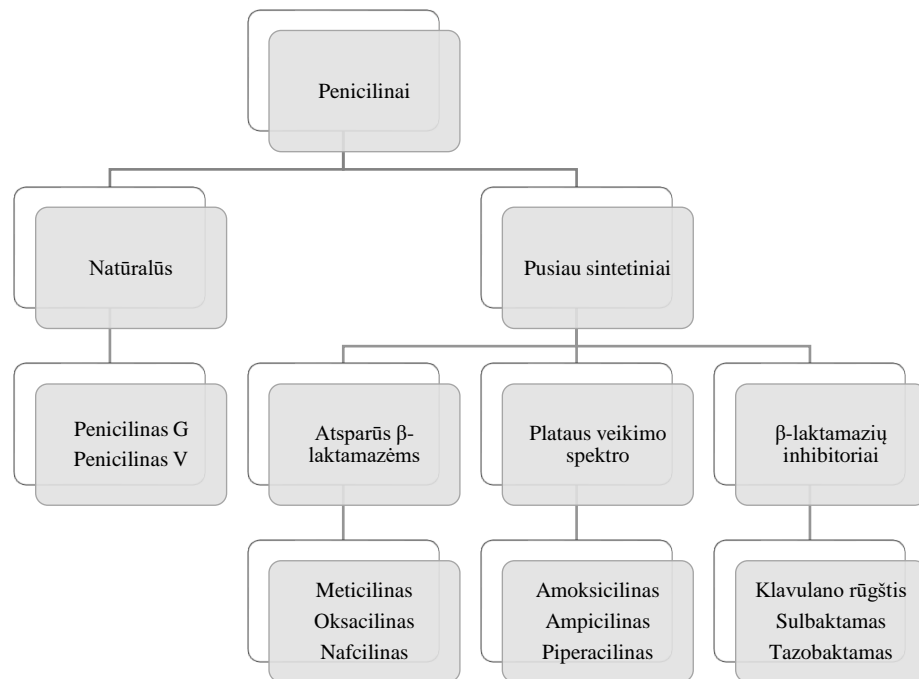
1.3. PENICILINAI

Penicilinais yra antibiotikų klasė, pirmiausia išgauta iš *Penicillium* grybo, kurios atstovus sieja bendra cheminė struktūra - beta-laktaminis žiedas. Tai yra viena iš seniausių ir plačiausiai naudojamų antibiotikų klasių. Penicilinais veikia baktericidiškai - trukdo bakterijų ląstelių sienelių sintezei, galiausiai sunaikindami bakterijas. Jie veiksmingi prieš platų bakterijų spektrą, ypač prieš gram teigiamas bakterijas, o veiksmingumas prieš gram neigiamas bakterijas skiriasi tarp preparatų. Penicilinais naudojami gydyti įvairiausias infekcijas, tokias kaip kvėpavimo takų, odos,

šlapimo takų ir kt. Tačiau bakterijų atsparumas penicilinams pastaruoju metu tampa vis didesne problema, skatinančia kurti skirtingas variacijas ir kombinacijas siekiant kovoti su atspariomis bakterijų rūšimis (19).

Penicilinų struktūrą sudaro beta-laktaminis žiedas, prijungtas prie tiazolidino žiedo, tai pagrindinis struktūros bruožas, skiriantis juos nuo kitų klasių (4 pav.). Skirtingos šoninės grandinės lemia šios grupės junginių farmakokinetines savybes, aktyvumo spektrą ir atsparumą beta-laktamazėms (20).

Penicilinai gali būti skirstomi pagal kilmę, vartojimo būdą, aktyvumo spektrą, atsparumą fermentams, atsparumą rūgštims (6 pav.).



6 pav. Penicilinų skirstymo pagal kilmę schema.

Penicilinų privalumai, lyginant su kitomis antibiotikų klasėmis:

- Baktericidinis poveikis
- Geras įsiskverbimas į audinius
- Nebrangūs
- Naujesni penicilinai yra atsparūs skrandžio rūgšties poveikiui (pvz.: penicilinas V, amoksicilinas, ampicilinas)

Penicilinų trūkumai, lyginant su kitomis antibiotikų klasėmis:

- Didelė dalis yra suardomi skrandžio rūgščių

- Mažas aktyvumas prieš Gramneigiamas bakterijas
- Skausmingos injekcijos į raumenis
- Trumpas veikimo laikas
- Šalutiniai poveikiai virškinamajam traktui

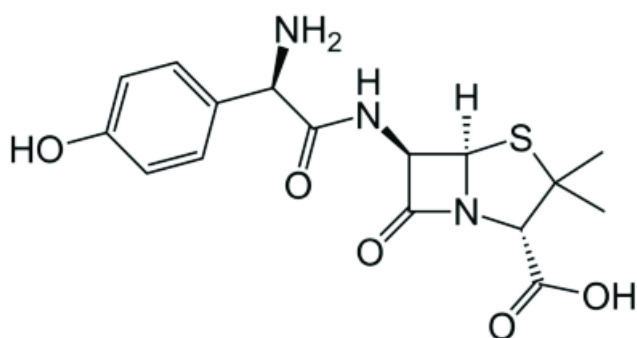
Daugiausiai naudojami gydyti infekcijas, kurias sukelia streptokokai, stafilokokai, *Clostridium*, *Neisseria*, *Listeria*. Pagrindinės penicilinais gydomos ligos:

- Šlapimo takų infekcijos
- Kvėpavimo takų infekcijos, bronchitas, pneumonija
- Meningitas
- Gonorėja ir sifilis
- Vidurių šiltinė ir dizenterija
- Kaulų ir sąnarių infekcijos
- Odos ir minkštųjų audinių infekcijos (21)

1.3.1. AMOKSICILINAS

Magistrinio darbo tyrimui buvo pasirinktas penicilinų grupės atstovas - amoksicilinas, kadangi, remiantis Europos antimikrobinių medžiagų vartojimo stebėjimo tinklo (ESAC-Net) ir Pasaulio Sveikatos Organizacijos (PSO) surinktais 2020 m. duomenimis, amoksicilinas su klavulano rūgštimi yra daugiausiai vartojamas antibiotikas iš oralinių būdu vartojamų antibiotikų (pirmoje vietoje 52% ESAC-Net tinklo šalių ir 33% PSO stebėjimo tinklo šalių), bei dažniausiai vartojamas parenteraliu būdu iš visų penicilinų (pirmoje vietoje 24% ESAC-Net tinklo šalių) (22).

Amoksicilinas, priklausantis penicilinų grupei, yra pusiau sintetinis antibiotikas, gautas iš penicilino, turintis platesnį veikimo spektrą. Pagrindinis amoksicilino struktūros komponentas yra beta-laktaminis žiedas, sujungtas su tiazolidino žiedu, o tai yra bendra visiems penicilinams. Išskirtinis amoksicilino struktūros bruožas yra laisva amino grupė (7 pav.), kuri lemia aktyvumą prieš kai kurias gram neigiamas bakterijas, palyginus su natūraliais penicilinais, kurie tokio poveikio ir struktūros neturi (23).



7 pav. Amoksicilino cheminė struktūra (24).

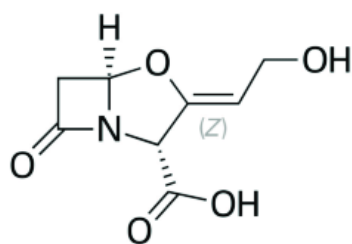
Amoksicilinas veikia baktericidiškai, kaip ir visi beta-laktaminiai antibiotikai, trukdydamas bakterijos ląstelės sienelės sintezei, prisijungdamas prie peniciliną jungiančių baltymų. Šis vaistas yra atsparus skrandžio sulčių sukeliama inaktyvacijai, dėl to yra tinkamas vartoti ne tik parenteraliai, bet ir per burną, dėl ko yra tinkamas savarankiškam vartojimui namuose (25).

Indikacijos ir veikimo spektras:

- Ausų, nosies, gerklės infekcijos – tonzilitas, faringitas, sinusitas otitas, apatinių kvėpavimo takų infekcijos, sukeltos *Streptococcus spp.*, *Streptococcus Pneumoniae*, *Staphylococcus spp.*, *Haemophilus influenza*
- Vienas iš trigubos terapijos komponentų *Helicobacter pylori* gydyme (kartu su klaritromicinu ir protonų siurblio inhibitoriumi)
- Odos infekcijos – *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Escherichia coli*
- Šlapimo takų infekcijos – *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis* (26)

Amoksicilinas dažnai skiriamas kartu viename preparate su klavulano rūgštimi, kuri yra beta-laktamazių inhibitorius. Beta-laktamazės yra bakterijų gaminami fermentai, kurie lemia bakterijų atsparumą beta-laktaminiams antibiotikams. Šie fermentai vykdo beta-laktaminio žiedo hidrolizę, dėl kurios antibiotikas praranda savo antibakterinį poveikį (27).

Didėjant bakterijų atsparumui antibiotikams, buvo pradėti sintetinti junginiai, galintys sustabdyti šių fermentų veikimą, vienas iš jų – klavulano rūgštis, kuri pati neturi antibakterinio poveikio. Klavulano rūgštis savo struktūroje taip pat turi beta-laktaminį žiedą (8 pav.), su kuriuo jungiasi prie beta-laktamazės fermento aktyvaus centro ir tokiu būdu jį negrįžtamai inaktyvuoja. Dėl to antibiotikas yra neveikiamas beta-laktamazių ir gali naikinti atsparumą įgijusias bakterijas (28).



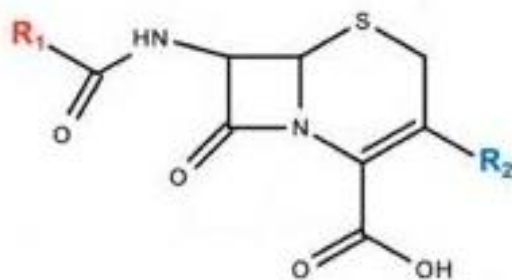
8 pav. Klavulano rūgšties cheminė struktūra (24).

Vaistiniuose preparatuose klavulano rūgštis egzistuoja tik kartu su amoksicilinu ir prieinama įvairiomis formomis – tabletėmis, suspensijomis, injekciniais tirpalais (3). Tokie preparatai, palyginus su vienu amoksicilinu, yra skiriami, kai manoma arba nustatyta, kad infekciją sukėlė beta-laktamazės gaminanti bakterija (29).

1.4. CEFALOSPORINAI

Cefalosporinai yra svarbi β -laktaminių antibiotikų grupė, struktūriškai panaši į penicilinus ir originaliai išgauta iš cefalosporino C, kurį gamina *Acromonium* grybas. Šie antibiotikai yra suskirstyti į penkias kartas (2 lentelė), kurių kiekviena turi savo išskirtinius bruožus: aktyvumo spektrą, atsparumą beta-laktamazėms ir farmakokinetines savybes (30).

Visi cefalosporinai savo struktūroje turi beta-laktaminį žiedą, prijungtą prie dihidrotiazino žiedo – tai yra jų skiriamasis bruožas, suteikiantis stabilumo beta-laktaminiam žiedui (9 pav.). Jų veikimo mechanizmas taip pat yra baktericidinis – bakterijos sienelės sintezės stabdymas (30).



9 pav. Cefalosporinų cheminė struktūra (14).

Pirmos kartos cefalosporinai pirmiausia nutaikyti į gram teigiamus kokus, o vėlesnės kartos turi platesnį veikimo spektrą, į kurį patenka ir gram neigiamos bakterijos. Trečios ir ketvirtos kartos cefalosporinai turi padidintą aktyvumą prieš gram neigiamas bakterijas (2 lentelė) (31).

2 lentelė. Cefalosporinų kartos ir jų ypatumai (31).

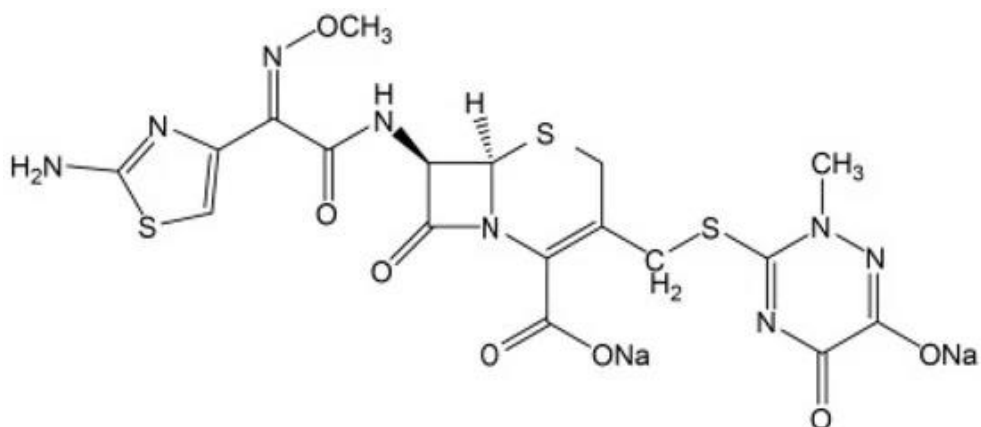
Karta	Atstovų pavyzdžiai	Aktyvumo pavyzdžiai	Naudojimas
Pirma	Cefazolinas Cefadroksilis Cefaleksinas	<i>Staphylococcus spp.</i> <i>Streptococcus spp.</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Nekomplikuotos odos ir minkštųjų audinių infekcijos, otitis media, kvėpavimo takų infekcijos profilaktika prieš chirurgines procedūras, ir kt.
Antra	Cefuroksimas Cefprozilis	<i>Haemophilus influenzae</i> <i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Neisseria spp.</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Bacteroides spp.</i>	Kvėpavimo takų infekcijos, otitis media, profilaktika prieš chirurgines procedūras Laimo liga nėščiosioms ir vaikams (cefuroksimas) ir kt.
Trečia	Ceftriaksonas Ceftazidimas Cefotaksimas	<i>Haemophilus influenzae</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Meningitas ir kitos galvos ir nugaros smegenų infekcijos, lytiškai plintančios ligos
Ketvirta	Cefepimas	<i>Streptococcus pneumoniae</i> MSSA <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Enterobacteriaceae</i>	Sunkios sisteminės infekcijos, kurias sukėlė atsparumą turinčios bakterijos
Penkta	Ceftarolinas	MRSA <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	Komplikuotos odos ir minkštųjų audinių infekcijos Visuomenėje įgyta pneumonija

1.4.1. CEFTRIAKSONAS

Magistrinio darbo tyrimui buvo pasirinktas cefalosporinų grupės atstovas - ceftriaksonas, kadangi, remiantis Europos antimikrobinų medžiagų vartojimo stebėjimo tinklo (ESAC-Net) ir Pasaulio Sveikatos Organizacijos (PSO) 2020 m. surinktais duomenimis jis yra daugiausiai parenteriniu būdu vartojamas antibiotikas (pirmoje vietoje 24% ESAC-Net tinklo šalių ir 87% PSO stebėjimo tinklo šalių). (22).

Ceftriaksonas yra trečios kartos cefalosporinas, priklausantis beta-laktaminių antibiotikų klasei. Su bakterinėmis infekcijomis kovoja tokiu pačiu veikimo mechanizmu kaip ir kiti beta-laktaminiai antibiotikai – ląstelės sienelės sintezės stabdymu. Šis antibiotikas pasižymi plačiu veikimo spektru, naudojamas daugiausia sunkesnėms infekcijoms gydyti bei prieš atsparumo mechanizmus turinčias bakterijas (31).

Ceftriaksono struktūroje, kaip ir kitų cefalosporinų, beta-laktaminis žiedas yra prijungtas prie dihidrotiazino žiedo (10 pav.) (32).



10 pav. Ceftriaksono cheminė struktūra (32).

Ceftriaksonas veikia baktericidiškai – jungiasi prie peniciliną jungiančių baltymų, stabdydamas ląstelės sienelės sintezę ir sukeldamas jos žūtį (31).

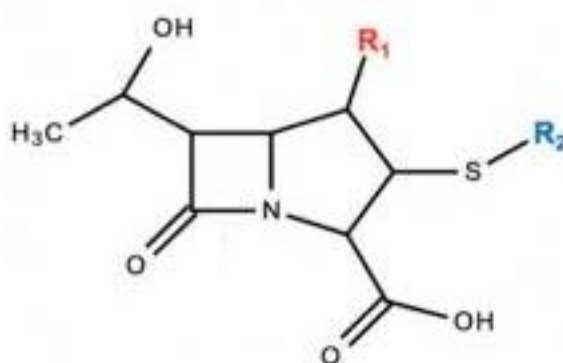
Ceftriaksonas yra aktyvus prieš MSSA, *Streptococcus pneumoniae.*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia Coli*, *Proteus mirabilis*. Ceftriaksonas yra vienas iš kelių cefalosporinų grupės antibiotikų, kurie geba pereiti kraujo-smegenų barjerą ir dėl to yra naudojamas meningito gydymui, taip pat turi aktyvumą prieš *Borrelia burgdoferi* ir naudojamas gydyti išplitusią Laimo ligą (31,33).

Šis antibiotikas tyrinėjamas ne tik bakterinių ligų gydymui, tačiau ir prie įvairių neurologinių būklių. Yra įrodymų, jog ceftriaksonas veiksmingai palengvina simptomus sergant Parkinsono, Alzheimerio ligomis, amiotrofinė šonine skleroze, epilepsija, smegenų išemija, po smegenų traumų ir esant neuropatiniam skausmui (34).

1.5.KARBAPENEMAI

Karbapenemų klasei priklauso plataus veikimo spektro beta-laktaminiai antibiotikai. Šie antibiotikai išsiskiria didesniu atsparumu beta-laktamazėms, dėl ko yra naudojami kovojant su daugeliui vaistų atspariomis bakterijomis (angl. *multi-drug resistant bacteria*) (35).

Karbapenemų struktūrą sudaro beta-laktaminis žiedas prijungtas prie penkianario anglies žiedo, o tai išskiria juos iš kitų šios klasės antibiotikų (11 pav.). Veikimo mechanizmas, kaip ir kitų, yra baktericidinis – bakterijos ląstelės sienelės sintezės stabdymas, prisijungiant prie peniciliną jungiančių baltymų, o tai lemia ląstelės žūtį (36).



11 pav. Karbapenemų cheminė struktūra (14).

Karbapenemai turi platų veikimo spektrą prieš gram neigiamas ir prieš gram teigiamas bakterijas. Jie efektyvūs prieš *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*), *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*. Dėl plačiausio veikimo spektro iš visų beta-laktaminių antibiotikų, veikimo prieš gram teigiamas ir gram neigiamas bakterijas, karbapenemai yra naudojami tais atvejais, kai pacientų turimos infekcijos kelia pavojų gyvybei arba yra įtariama, kad infekciją sukėlė daugeliui vaistų atspari bakterija (37). Šie vaistai skiriami gydyti komplikuotas infekcijas, pavyzdžiui: pilvo ertmės infekcijos, komplikuotos šlapimo takų infekcijos, sunkios odos ir minkštųjų audinių infekcijos bei hospitalinė pneumonija. Taip pat karbapenemai geba prasiskverbti pro kraujo smegenų barjerą, dėl ko yra efektyvūs bakterijų sukkelto meningito gydyme (38). Dėl mažos absorbcijos vartojant per burną, šie vaistai yra leidžiami intraveniniu būdu, išskyrus naujai sukurtą ir 2023 m. dar Europoje neregistruotą tebipenemą, kuris vartojamas per burną (39).

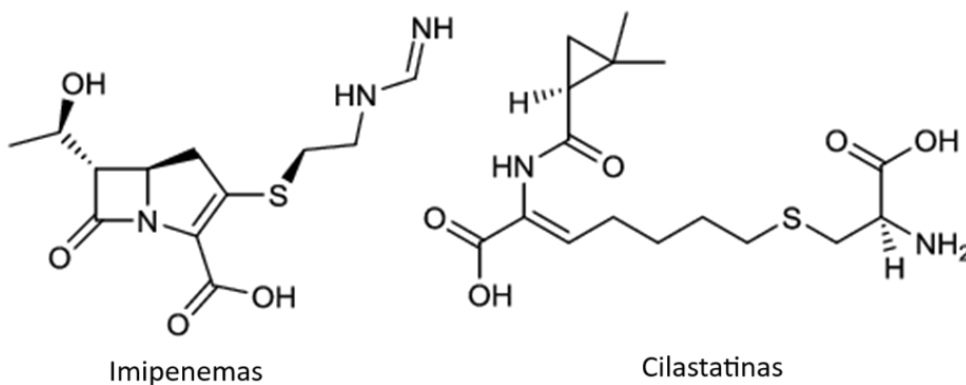
1.5.1. IMIPENEMAS

Imipenemas tyrimui pasirinktas dėl trumpo stabilumo laiko, kuris plačiau aptartas skyrelyje apie stabilumo problemą.

Imipenemas, pasižymintis dideliu atsparumu beta-laktamazėms bei plačiu veikimo spektru, dažniausiai naudojamas sunkioms bakterinėms infekcijoms, kai gydymais kitais antibiotikais yra negalimas. Tai pirmasis sukurtas ir gavęs leidimą klinikiniam naudojimui karbapenemų klasės antibiotikas (40).

Imipenemas, kaip ir kiti beta-laktaminiai antibiotikai, turi beta-laktaminį žiedą, prijungtą prie penkianario anglies žiedo (12 pav.). Ši struktūra lemia imipenemo baktericidinį poveikį – prisijungęs prie peniciliną jungiančių baltymų, neleidžia prie bakterijos ląstelės sienelės prijungti peptidoglikano, o tai lemia ląstelės žūtį (41).

Imipenemą būtina vartoti kartu su cilastatinu (12 pav.), nes savo struktūroje imipenemas neturi 1-beta-metil grupės, palyginus su po jo sukurtais karbapenemais, dėl to vyksta jo hidrolizė inkstuose vykdoma fermento žinduolių hidrolazės (DHP-1). Cilastatinas yra šio fermento inhibitorius ir taip veikdamas prailgina imipenemo veikimo pusperiodį (angl. *half-life*) (42).



12 pav. Imipenemo ir cilastatino cheminės struktūros (43)

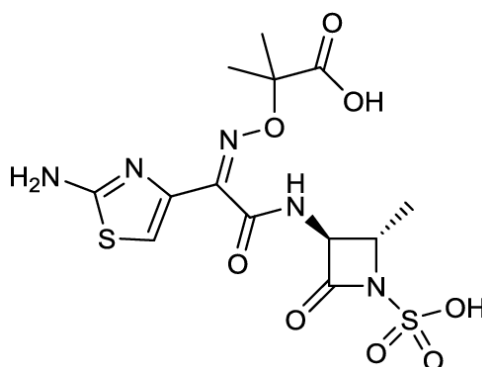
Imipenemas pasižymi plačiu veikimo spektru prieš gram teigiamas ir gram neigiamas bakterijas, įskaitant ir *Enterobacteriaceae* (pvz.: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*), *Pseudomonas aeruginosa*, tačiau yra netinkamas MRSA gydymui. Imipenemas prastai absorbuojamas iš virškinamojo trakto, dėl to skiriamas tik parenteriniu būdu (44).

Šis antibiotikas skirtas sunkioms infekcijoms, tokioms kaip komplikotos pilvo ertmės infekcijos, sunkios pneumonijos, komplikotos šlapimo takų infekcijos, komplikotos odos ir minkštųjų

audinių infekcijos. Dėl savo gebėjimo pereiti kraujo smegenų barjerą, imipenemas naudingas tam tikrų bakterijų sukeltų meningito gydymui (41).

1.6. MONOBAKTAMAI

Ši antibiotikų klasė, kurios vienas iš atstovų yra aztreonamas, pasižymi išskirtine struktūra, kurią sudaro beta-laktaminis žiedas, neprijungtas prie jokio kito žiedo (13 pav.) (14).



13 pav. Aztreonamo cheminė struktūra (43).

Jų veikimo mechanizmas iš esmės toks pats kaip ir kitų beta-laktaminių antibiotikų, tačiau monobaktamai jungiasi prie tų peniciliną jungiančių baltymų, kuriuos turi tik gram neigiamos bakterijos (pvz.: *Pseudomonas aeruginosa*). Dėl šios savybės monobaktamai gali būti naudojami tik gram neigiamų bakterijų sukeltų infekcijų gydymui, kadangi prieš gram teigiamas bakterijas jie yra neveiksmingi (45).

Aztreonamas Lietuvoje 2023 m. prieinamas tik inhaliacine forma, ir naudojamas infekcijų, atsiradusių kaip cistinės fibrozės komplikacijos, gydymui (18).

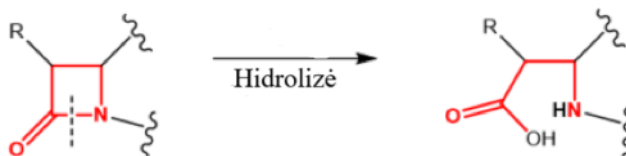
1.7. APIBENDRINIMAS

Beta-laktaminiai antibiotikai yra populiariausia ir daugiausiai gydymui naudojama antibiotikų grupė. Aptartos pagrindinės klasės – penicilinai, cefalosporinai, karbapenemai, monobaktamai. Visos šios klasės ir jų atstovai turi bendrą struktūrinį bruožą – beta-laktaminį žiedą. Visi aptarti antibiotikai – amoksicilinas, ceftriaksonas, imipenemas, aztreonamas pasižymi tokiu pačiu baktericidiniu veikimo mechanizmu. Amoksicilino indikacijos labai plačios ir jis labiausiai tinkamas nekomplikuotoms infekcijoms, taip pat yra vertingas jo atsparumas skrandžio rūgštims,

o dėl to šį vaistą galima skirti vartojimui per burną ir ambulatoriniam gydymui. Dėl šių bruožų amoksicilinas yra populiariausias antibiotikas skiriamas ambulatoriniam gydymui. Ceftriaksonas ir imipenemas yra išskirtinai ligoninių gydyme vartojami antibiotikai, skirti sunkioms infekcijoms ir parenteriniam vartojimui. Ceftriaksonas yra populiariausias antibiotikas ligoninėse dėl plataus veikimo spektro, atsparumo beta-laktamazėms. Monobaktamų grupė yra mažiausiai išplėtotą antibiotikų grupė, turinti tik vieną vartojimui patvirtintą atstovą.

1.8. BETA-LAKTAMINIŲ VAISTŲ STABILUMO PROBLEMA

Beta-laktaminių antibiotikų struktūroje esantis beta-laktaminis žiedas yra jautrus hidrolizei, o jį suardžius prarandamas vaisto antibakterinis poveikis. Ištirpinus antibiotiką vandenyje ar vandeniniame tirpale, vandens molekulė reaguoja su beta-laktaminio žiedo C-N jungtimi, šioje vietoje žiedas atsидaro nebelieka antibakterinio poveikio (14 pav.) (2). Ši reakcija taip pat svarbi ir fermentams beta-laktamazėms: Serino pagrindo beta-laktamazės naudojasi aplink esančiomis vandens molekulėmis, kurios padeda joms vykdyti antibiotikų hidrolizę ir taip sudaryti atsparumo mechanizmą (46).



14 pav. Beta-laktaminio žiedo hidrolizės reakcija (47).

Kalbant apie antibiotikų stabilumą, yra skaičiuojama, kiek procentų nepakitusio vaisto yra išlikę tirpale. Rekomenduojama riba, norint pasiekti pakankamą antimikrobinį gydymą yra 90%. Tai reiškia, kad tirpale turi būti išlikę $\geq 90\%$ nepakitusio pradinio junginio (48).

Antibiotikai kietojoje formoje (tabletėmis, milteliais, kapsulėse) laikant originalioje pakuotėje tinkamomis sąlygomis yra stabilūs 2-3 metus ir tai nekelia didelių problemų (3).

Stabilumas žymiai sumažėja žiūrint į antibiotikų geriamąsias suspensijas, kurios yra skirtos vartoti vaikams. Pavyzdžiui, amoksicilino suspensija po paruošimo su vandeniu yra stabili 14 dienų laikant šaldytuve. Kadangi tokios suspensijos vartojamos per burną, į jas galima pridėti įvairių priedų stabilumui pagerinti, kad vaistui reiktų tik vieno paruošimo visam vartojimo kursui (3).

Priedai, priklausomai nuo veikliosios medžiagos savybių, gali būti: surfaktantai, tirštikliai, tirpikliai, buferinės medžiagos, putojimą stabdančios medžiagos, flokuliuojančios medžiagos,

antioksidantai, konservantai, skonio, kvapo ir spalvos medžiagos, drėkikliai, chelatuojančios medžiagos. Suspensijų priedai skirti išlaikyti stabilumui, vientisumui, pagerinti išvaizdą, kvapą, skonį, tai ypač aktualu vaikams. Patys priedai farmakologinio poveikio neturi, bei pasirenkami tokie, kurie nesąveikauja su veikliąja medžiaga. Didžiausias jų trūkumas – galimos alerginės reakcijos (49).

Didžiausia stabilumo problema atsiranda kai antibiotikai yra vartojami parenteraliu būdu. Kadangi ruošiant injekcinį tirpalą yra tik du komponentai – grynios veikliosios medžiagos ir tirpiklis. Tokiais atvejais vaistą rekomenduojama vartoti nedelsiant, o infuzijoms taikoma ribota lašinimo trukmė – nuo 15 min. iki keleto valandų, kiekvienam vaistui individualiai (3). Parenteraliai vartojamų antibiotikų stabilumas dažniausiai skaičiuojamas valandomis (3-5 lentelės), tai detaliau aptarta prie kiekvieno antibiotiko atskirai.

Antibiotikų stabilumas priklauso nuo sąlygų, kuriose yra laikomas tirpalas. Pastebėta bendra tendencija, kad šaldytuve laikomi antibiotikų tirpalai yra stabilūs ilgesnį laiką, apie 2-3 kartus, nei laikant juos kambario temperatūroje. Palyginus su linijinės struktūros amidais, beta-laktaminio žiedo įtampa yra didesnė, dėl to jo hidrolizė lengvai įvyksta kambario temperatūroje be jokių papildomų reagentų (50).

Taip pat pastebimi stabilumo skirtumai tarp skirtingų koncentracijų tirpalų. Kuo didesnė tirpalo koncentracija, tuo hidrolizė yra greitesnė ir stabilumo laikas trumpesnis. Tai vyksta dėl to, kad tirpale esant didesnei molekulių koncentracijai, dažniau vyksta susidūrimas tarp vaisto ir vandens.

3 lentelė. Amoksicilino stabilumo duomenys.

Šaltinis	Koncentracija	Tirpiklis	Temperatūrinis režimas (°C)	Stabilumo laikas
Amoxiplus preparato charakteristikų santrauka (3)		Injekcinis vanduo	25 ir 5	4 ir 8 val.
		0,9% NaCl	25 ir 5	4 ir 8 val.
		KCl ir NaCl infuzinis tirpalas	25	3 val.
(51)	250 mg/ml	Injekcinis vanduo	25	< 4 val.

	125 mg/ml	Injekcinis vanduo	5 / 25 / 30 / 37	< 4 val. prie visų temperatūrų
	50 mg/ml	Injekcinis vanduo	25	~4 val.
	25 mg/ml	Injekcinis vanduo : 0,9% NaCl (50:50)	5 / 25	24 val., >12, bet <16 val.
(52)	20 mg/ml	0,9% NaCl	20 / 35	48 / 24 val.
	40 mg/ml	0,9% NaCl	20 / 35	Virš 12 / ~12 val.
	60 mg/ml	0,9% NaCl	20 / 35	<12 val. / <12 val.
(53)	14,3 mg/ml	0,9% NaCl	4 / kambario temperatūra / 37	10 / 8 / ~3 val.
		Injekcinis vanduo		10 / 8 / 4 val.
(54)	20 mg/ml	0,9% NaCl	20-25	12 val.
(55)	14,3 mg/ml	0,9% NaCl	4 / 25 / 37	80 / 25 / 9 val.
	Amoksicilinas + Klavulano rūgštis	0,9% NaCl	4 / 25 / 37	152 / 26 / 6 val.
(56)	20 mg/ml	0,9% NaCl	20 / 35	48 / 24 val.
	40 mg/ml	0,9% NaCl	20 / 35	24 / 24 val.
	10 mg/ml	0,9% NaCl	22	12 val.
	5 mg/ml	0,9% NaCl	25	24 val.
(57)	125 mg/ml	Injekcinis vanduo	37	Iki 2 val.

4 lentelė. Ceftriaksono stabilumo duomenys.

Šaltinis	Koncentracija	Tirpiklis	Temperatūrinis režimas (°C)	Stabilumo laikas
----------	---------------	-----------	-----------------------------	------------------

Medaxone preparato charakteristikų santrauka (3)			2-8 / 25	24 / 6
(58)	5 mg/ml	0,9% NaCl	4 / 23	21 diena / 7 dienes
	40 mg/ml	0,9% NaCl	4 / 23	14 dienų / 4 dienes
	5 mg/ml	5% gliukozės tirpalas	4 / 23	21 diena / 4 dienes
	40 mg/ml	5% gliukozės tirpalas	4 / 23	21 diena / 4 dienes
	20 mg/ml	0,9% NaCl	-20 / 5 / 25	26 savaitės / 10 dienų / 3 dienos
	20 mg/ml	5% gliukozės tirpalas	-20 / 5 / 25	26 savaitės / 10 dienų / 3 dienos
(59)	5 µg/ml	Distiliuotas vanduo	25 / 8 / -20 / -40	1,5 / 9,3 / 38 / 51 dienos

5 lentelė. Imipenemo stabilumo duomenys.

Šaltinis	Koncentracija	Tirpiklis	Temperatūrinis režimas (°C)	Stabilumo laikas
Imipenem/Cilastatin Actavis preparato charakteristikų santrauka (3)				2 valandos
(60)	5 mg/ml	0,9% NaCl	Kambario temperatūra	<2 val.
(61)	5 mg/ml	0,9% NaCl	25 / 30 / 40	6 / 6 / 6 val.
	10 mg/ml	0,9% NaCl	25 / 30 / 40	3-6 val. / <1 / <1 val.
(58)	5 mg/ml	0,9% NaCl	25	4 val.
	5 mg/ml	5% gliukozės tirpalas	25	4 val.

Pasirinkta tirpinti mėginius dviejuose tirpikliuose – 0,9% NaCl ir 5% gliukozės tirpaluose, kadangi šie tirpikliai yra daugiausiai pasikartojantys kituose tyrimuose ir naudojami praktikoje. Ringerio laktatas kaip tirpiklis buvo atmestas, nes yra netinkamas ceftriaksono tirpinimui, dėl jo sąveikos su Ca jonais, dėl to nebūtų galima palyginti antibiotikų tarpusavyje.

Taip pat pasirinkti du temperatūros režimai – kambario (22 °C) ir šaldytuvo (3 °C). Paruošti antibiotikų tirpalai yra lašinami pacientams ir visą lašinimo laiką laikomi kambario temperatūroje, dėl to yra svarbu žinoti, kaip ilgai gali trukti infuzija, neprarandant vaisto poveikio. Šaldytuve antibiotikų tirpalai gali būti laikomi po paruošimo laukiant paciento. Svarbu žinoti kaip ilgai vaistas išliks stabilus šaldytuve, kad būtų užtikrintas efektyvus gydymas.

Stebint atliktų mokslinių tyrimų rezultatus pasirinkta matuoti kambario temperatūroje laikomus mėginius dažniau, nei laikomus šaldytuve, dėl jų trumpesnio stabilumo laiko.

1.9. APIBENDRINIMAS

Antibiotikai, nepakeičiami vaistai infekcijoms gydyti, susiduria su stabilumo problemomis, kurias sukelia aplinkos sąlygos. Ypač nestabilūs jie tampa ištirpinti tirpaluose – įvykus hidrolizei antibiotikai praranda savo antimikrobinį poveikį. Šią reakciją dar labiau pagreitinti gali temperatūros, koncentracijos pokyčiai bei laikas. Vaistinių preparatų gamintojai nurodo kaip ir kiek ilgai galima laikyti antibiotikus, tačiau šie duomenys ne visada yra pakankamai išsamūs, dažniausiai neatsižvelgia į vaisto koncentraciją, naudojamą tirpiklį, paruošimo bei laikymo sąlygas. Pavyzdžiui, imipenemo preparato charakteristikų santraukoje nurodytas stabilumo laikas yra 2 valandos, bet nepaminėta kuriame tirpiklyje, kokiame temperatūros režime. Dėl šios priežasties yra svarbu tiksliai žinoti antibiotikų stabilumo informaciją prieš pradėdant juos naudoti, kad būtų pilnai išnaudotas vaisto potencialas, o vartojimas būtų saugus pacientui.

Labiausiai stabilus yra ceftriaksonas, kadangi jo struktūroje prie beta-laktaminio žiedo prijungtas šešianaris žiedas – tokia struktūra gerai stabilizuoja beta-laktaminį žiedą. Palyginus su penkianarį žiedą turinčiais antibiotikais (amoksicilinu, imipenemu), ceftriaksonas išlieka stabilus 6-12 kartų ilgiau, net iki kelių dienų ar savaičių, priklausomai nuo laikymo sąlygų.

Antibiotikų stabilumo problema neturi konkrečių sprendimo būdų, naudojant šiuos vaistus yra prisitaikoma dirbti su jų savybėmis – naudojamas tirpiklis, kuriame antibiotikas yra stabilesnis (jeigu įmanoma, atsižvelgiant į paciento būklę ir poreikius), antibiotikai laikomi miltelių formoje ir tirpalai ruošiami prieš pat naudojimą, tik reikalingais kiekiais. Kadangi tai yra parenteraliai

vartojami vaistai, priedai stabilumui pagerinti nėra dedami, siekiant išvengti alerginių reakcijų bei šalutinių poveikių.

Iš analizuotos mokslinės literatūros pastebėta, jog dažniausiai pasirinkti šie temperatūros režimai: šaldytuvo (4-5°C), kambario temperatūros (20-25°C). Taip pat kai kuriais atvejais stabilumas matuotas šaldiklyje (-20°C, -40°C), žmogaus odos temperatūroje (35-37°C). Pastebėta bendra savybė visiems antibiotikams – didėjant koncentracijai, stabilumo laikas trumpėja. Grynas amoksicilinas tirpinamas NaCl tirpale (40-250 mg/ml išlieka stabilus iki 12 val. prie įvairių temperatūrinių režimų, tačiau amoksicilino ir klavulano rūgšties derinys leidžia pagerinti stabilumą net iki 24 val. Palyginus skirtingus tirpiklius, buvo pastebėta, kad paruoštas injekcinis tirpalas yra stabilus trumpiau (4-8 val.) jeigu kaip tirpiklis buvo naudotas injekcinis vanduo. Ceftriaksonas pasižymi didžiausiu stabilumu iš šių trijų antibiotikų. Koncentracijoms esant nuo 5 iki 40 mg/ml stabilumas kambario temperatūroje buvo 3-7 dienos, o šaldytuve 10-21 dienos, stabilumo laikas buvo vienodas tirpinant NaCl ir gliukozės tirpaluose. Imipenemas pasižymi mažiausiu stabilumu iš visų trijų – esant 5-10 mg/ml koncentracijoms kambario temperatūroje tirpalas stabilus išlieka 2-6 val. Didinant temperatūrą iki 30 ir 40 °C 5 mg/ml tirpalo stabilumas nesikeičia, tačiau 10 mg/ml tirpalo stabilumas tampa mažesnis nei 1 val.

2. TYRIMO MEDŽIAGOS IR METODAI

Tyrimui naudoti antibiotikai ir tirpikliai buvo vartojimui skirti vaistiniai preparatai (6 lentelė).

6 lentelė. Tyrimo medžiagos ir priemonės.

Medžiagos	Pavadinimas
Amoksicilinas/Klavulano rūgštis, milteliai injekciniam tirpalui	Amoxiplus 1000 mg/200 mg, Amoksiklav 1000 mg/200 mg
Ceftriaksonas, milteliai injekciniam tirpalui	Medaxone 1 g
Imipenemas/cilastatinas, milteliai injekciniam tirpalui	Imipenem/Cilastatin SUN 500 mg/500 mg
0,9% NaCl infuzinis tirpalas	Sodium chloride Fresenius 0,9%
5% gliukozės infuzinis tirpalas	Glucose Fresenius 5%
Priemonės	Gamintojas
UV-VIS spektrofotometras Halo RB-10	Dynamica Scientific Ltd.
Polistireno macro kiuvetės, 12,5x12,5x45 mm	ISOLAB GmbH
2 ml, 10 ml ir 50 ml talpos centrifuginiai mėgintuvėliai	Nerbe plus GmbH
1000 µl ir 100 µl mikropipetės	Vitlab
UV lempa	Nenurodyta

Tirpalai buvo ruošiami didžiausios pasirinktos koncentracijos, mažesnes koncentracijas gaunant skiedžiant pradinį tirpalą (7 lentelė).

7 lentelė. Tirpalų paruošimas.

Vaistas	Koncentracija	Paruošimas
Amoksicilinas/klavulano rūgštis	250 mg/ml	1000/200 mg vaisto + 4 ml tirpiklio
	125 mg/ml	1 ml 250 mg/ml tirpalo + 1 ml tirpiklio
	50 mg/ml	0,4 ml 250 mg/ml tirpalo + 1,6 ml tirpiklio
Ceftriaksonas	200 mg/ml	1000 mg vaisto + 5 ml tirpiklio
	100 mg/ml	1 ml 200 mg/ml tirpalo + 1 ml tirpiklio
	50 mg/ml	0,5 ml 200 mg/ml + 1,5 ml tirpiklio
Imipenemas/cilastatinas	10 mg/ml	500/500 mg vaisto + 50 ml tirpiklio
	5 mg/ml	1 ml 10 mg/ml tirpalo + 1 ml tirpiklio
	2,5 mg/ml	0,5 ml 10 mg/ml tirpalo + 1,5 ml tirpiklio

Pastaba. Imipenemo 10 mg/ml koncentracijos tirpale milteliai iki galo neištirpo ir buvo gauta suspensija.

2.1. UV-VIS SPEKTROFOTOMETRIJA

UV-VIS spektrofotometrija yra analitinis metodas, kuriuo matuojama šviesos absorbcija ultravioletinėje ir regimojoje elektromagnetinio spektro srityse. UV-VIS spektrofotometrija veikia šviesos absorbcijos reiškiniu pagrindu, o sugertos šviesos kiekis yra tiesiogiai proporcingas analitės kiekiui mėginio tirpale. UV-VIS srityse spinduliuotės absorbcija priklauso nuo analizuojamos medžiagos struktūros ypatybių.

Molekulei absorbavus tam tikrą energijos kiekį, jos valentiniai elektronai pereina iš žemesnio į aukštesnį energijos lygmenį. Tai įvyksta tik gavus reikalingą energijos kiekį, kuris kiekvienam junginiui yra skirtingas dėl jo struktūros.

Mėginys yra įdedamas į kiuvetę, o sugertos šviesos kiekis matuojamas detektoriumi (15 pav.). Kaip rezultatas gaunamas spektras, kuriame matoma absorbcijos priklausomybė nuo bangos ilgio [nm], iš jo galima spręsti apie mėginio sudėtį (62).

Matavimui pasirinktas bangos ilgis nuo 250 nm iki 500 nm, o absorbcijos fiksavimas iki 3 (didžiausia prietaiso matuojama riba).



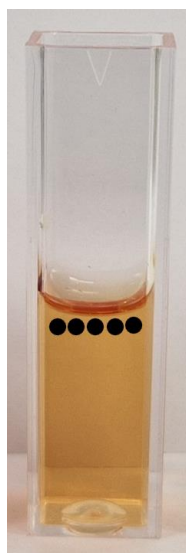
15 pav. Dynamica Halo RB-10 spektrofotometras naudotas tyrimui.

Pradinei spektrų vizualizacijai bei duomenų užfiksavimui naudota spektrofotometrui skirta programa „UV Detective 3.4“. Spektrų analizei – bazinės linijos suvienodinimui, pikų nustatymui, spektrų perdengimui ir vizualizacijai naudota programa „SpectraGryph“.

2.2. KOLORIMetriJA

Tuose pačiuose laiko taškuose kaip atliekant UV-VIS matavimus, buvo daromos mėginių nuotraukos. To paties vaisto skirtingų koncentracijų mėginiai kiuvetėse pastatyti vienas šalia kito, prie jų pastačius kiuvetę su kontroliniu tirpalu (0,9% NaCl arba 5% gliukozės tirpalai). Kaip fonas nuotraukoms naudoti du balti popieriaus lapai, patalpoje laikyta įjungta šviesa.

Naudojantis programa „Pine Tools“ iš kiekvieno mėginio nuotraukos pasirinkti 5 taškai ir nustatytos jų RGB spalvų sistemos vertės (16 pav.). Apskaičiavus šių reikšmių vidurkį gauta viena vidutinė RGB reikšmė.



16 pav. Juoda spalva žymi vietas, iš kurių buvo nustatytos RGB spalvos vertės.

Toliau naudojant programą „Color Mine“ RGB sistemos reikšmės perskaičiuotos į $L^*a^*b^*$ spalvų sistemos reikšmes. Naudojantis šiomis reikšmėmis apskaičiuotas spalvos pokytis ΔE (1 priedas).

(63)

$$\Delta a^* = a^* - a_0^* \quad (1)$$

$$\Delta b^* = b^* - b_0^* \quad (2)$$

$$\Delta L^* = L^* - L_0^* \quad (3)$$

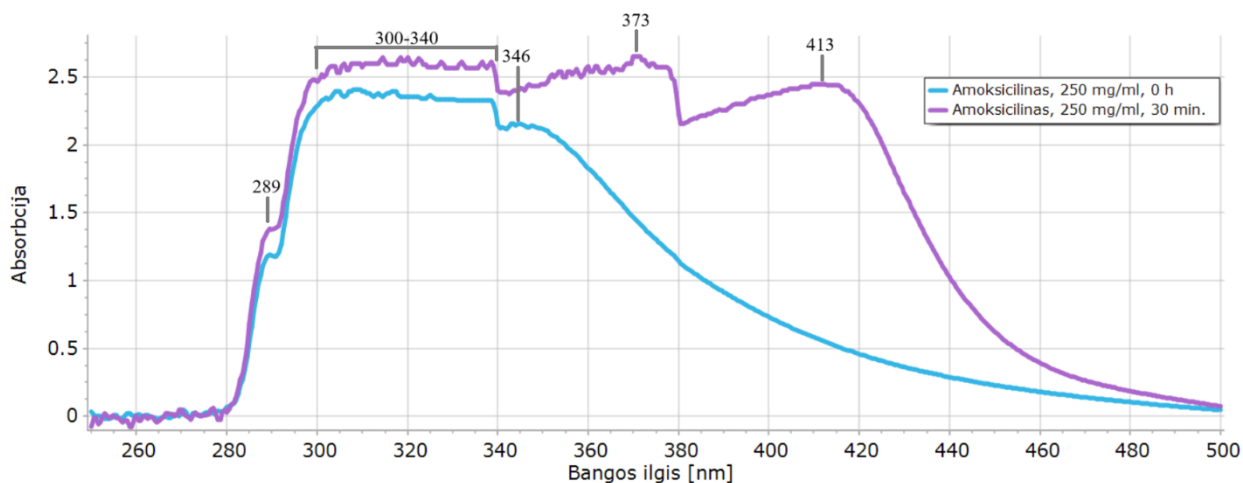
$$\Delta E = ((\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2)^{1/2} \quad (4)$$

a_0^* , b_0^* , L_0^* yra pradinės reikšmės, nustatytos 0 h taške, iškart po tirpalo paruošimo.

3. TYRIMO REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1. UV-VIS SPEKTROFOTOMETRIJOS MATAVIMAI

Iš gautų UV-VIS spektrofotometrijos rezultatų buvo nustatytos spektrų smailės ties 0 h ir 30 min. taškais (17 pav.).



17 Pav. Amoksicilino tirpalų spektrai 0 h ir 30 min. laiko taškuose, 250 mg/ml koncentracijos, 0,9% NaCl tirpiklyje, laikyti kambario temperatūroje. Skaičiais pažymėtas nustatytų smailių bangos ilgis (nm).

Lyginant šių dviejų taškų rezultatus didžiausias skirtumas matomas amoksicilino tirpaluose (8 lentelė). Po 30 min. pastebėtas atsirandanti papildoma smailė – NaCl tirpaluose prie 250 ir 125 mg/ml koncentracijų, o gliukozės tirpaluose prie beveik visų koncentracijų, išskyrus 50 mg/ml koncentracijos šaldytuvo temperatūroje laikytą tirpalą. Remiantis literatūros šaltiniais galima manyti, jog smailė ties 289 nm yra gaunama dėl junginyje esančio aromatinio žiedo. Antroji platesnė smailė, kuri apima intervalą nuo 300 nm iki 340 nm rodo junginyje esančią dviejų žiedų – beta-laktaminio ir penkianario (amoksicilinui ir imipenemui) ar šešianario (ceftriaksonui) – sistemą. Laikui bėgant atsirandančios papildomos smailės reiškia tirpale vykstančias chemines reakcijas ir naujų produktų susidarymą, pagrindinis iš jų – skilęs beta-laktaminis žiedas (14 Pav), o pagal tai galima manyti, jog pradinio antibiotiko koncentracija tirpale mažėja, taip pat ir vaisto veiksmingumas (64–66)

Lyginant ceftriaksono ir imipenemo tirpalų spektrus tuose pačiuose dviejuose laiko taškuose, papildomų smailių atsiradimas per pirmas 30 min. nenustatytas. Dėl to galima manyti, jog šių antibiotikų tirpaluose beta-laktaminio žiedo skilimas vyksta lėčiau ir vaistai išlieka stabilūs ilgesnį laiką nei amoksicilinas.

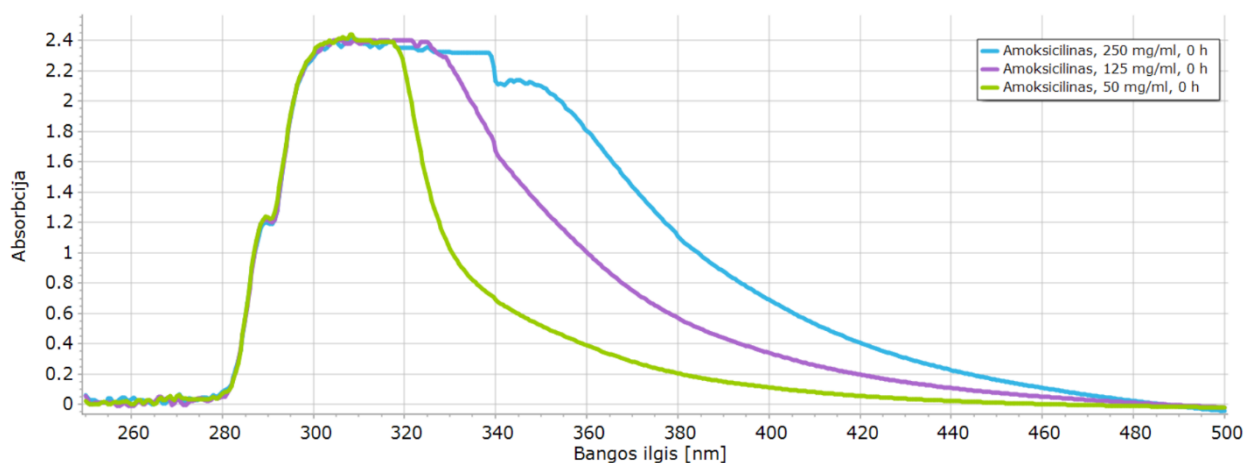
8 lentelė. Iš UV-VIS spektrofotometrijos matavimų metu gautų spektrų nustatytos smailės 0 h ir 30 min. laiko taškuose prie skirtingų laikymo sąlygų.

Antibiotikas	Koncentracija	Laikas	Nustatytos smailės, nm	
			0,9% NaCl, kambario temperatūra	0,9% NaCl, šaldytuvo temperatūra
Amoksisicilinas	250 mg/ml	0 h	289, 300-340, 346	289, 300-340, 346
		30 min.	289, 300-340, 373, 413	289, 300-340, 373, 398
	125 mg/ml	0 h	289, 300-330	289, 300-330
		30 min.	289, 300-340, 373	289, 300-340, 354
	50 mg/ml	0 h	289, 300-320	289, 300-320
		30 min.	289, 300-320	289, 300-320
Ceftriaksonas	200 mg/ml	0 h	289, 300-340, 373, 382	289, 300-340, 373, 382
		30 min.	289, 300-340, 373, 382	289, 300-340, 373, 382
	100 mg/ml	0 h	289, 300-340, 373	289, 300-340, 373
		30 min.	289, 300-340, 373	289, 300-340, 373
	50 mg/ml	0 h	289, 300-340, 363	289, 300-340, 363
		30 min.	289, 300-340, 363	289, 300-340, 363
Imipenemas	10 mg/ml	0 h	289, 300-340, 345	289, 300-340, 345
		30 min.	289, 300-340, 345	-
	5 mg/ml	0 h	289, 300-340	289, 300-340
		30 min.	289, 300-340	-
	2,5 mg/ml	0 h	289, 300-340	289, 300-340
		30 min.	289, 300-340	-
			5% gliukozė, kambario temperatūra	5% gliukozė, šaldytuvo temperatūra
Amoksisicilinas	250 mg/ml	0 h	289, 320-340, 351	289, 320-340, 351
		30 min.	289, 320-340, 373, 409	289, 330-340, 373, 400
	125 mg/ml	0 h	289, 320	289, 320
		30 min.	289, 320-340, 369	289, 320-340, 369
	50 mg/ml	0 h	289, 320	289, 320
		30 min.	289, 320-340, 346	289, 320
Ceftriaksonas	200 mg/ml	0 h	289, 320-340, 373, 383	289, 320-340, 373, 383

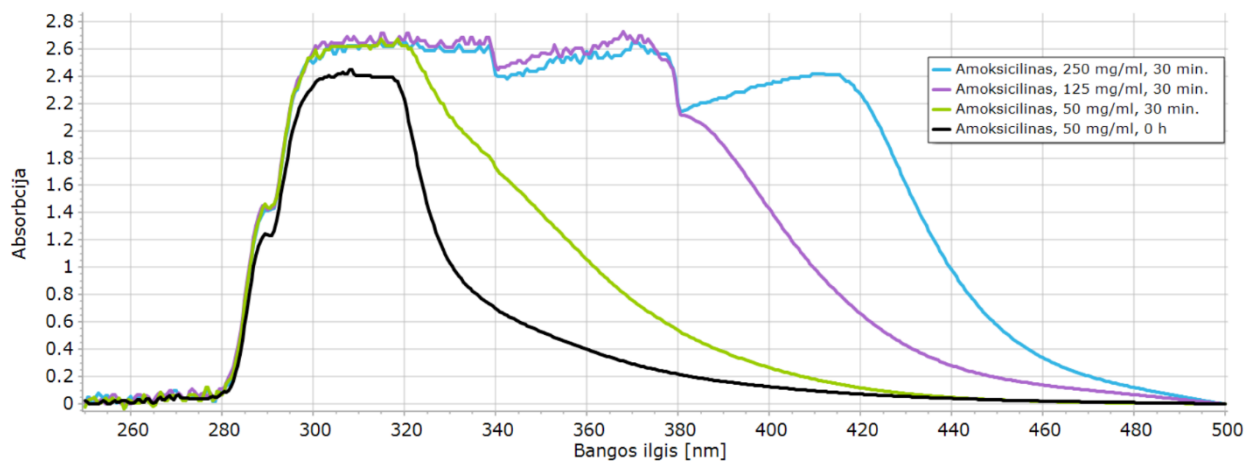
		30 min.	289, 320-340, 373, 383	289, 320-340, 373, 383
	100 mg/ml	0 h	289, 320-340, 373	289, 320-340, 373
		30 min.	289, 320-340, 373	289, 320-340, 373
	50 mg/ml	0 h	289, 320-340, 363	289, 320-340, 363
		30 min.	289, 320-340, 363	289, 320-340, 363
Imipenemas	10 mg/ml	0 h	289, 320-340, 343	289, 320-340, 343
		30 min.	289, 320-340, 343	-
	5 mg/ml	0 h	289, 320-340	289, 320-340
		30 min.	289, 320-340	-
	2,5 mg/ml	0 h	289, 320-340	289, 320-340
		30 min.	289, 320-340	-

3.1.1. AMOKSICILINO UV-VIS SPEKTRAI

Iš UV-VIS spektrofotometrijos gautų duomenų aiškiai matomi amoksicilino stabilumo skirtumai tarp skirtingų koncentracijų tirpalų (18 ir 19 pav.) – per pirmas 30 min. stabiliausias išliko mažiausios, 50 mg/ml, koncentracijos tirpalas, kurio spektro forma pakito, tačiau nestebima naujų smailių susidarymo. Nestabiliausias buvo 250 mg/ml koncentracijos tirpalas, kurio spektre po 30 min. aiškiai matomos susidariusios dvi papildomos smailės, o tai reiškia, jog tirpale jau vyksta degradaciniai procesai ir beta-laktaminio žiedo skilimas.

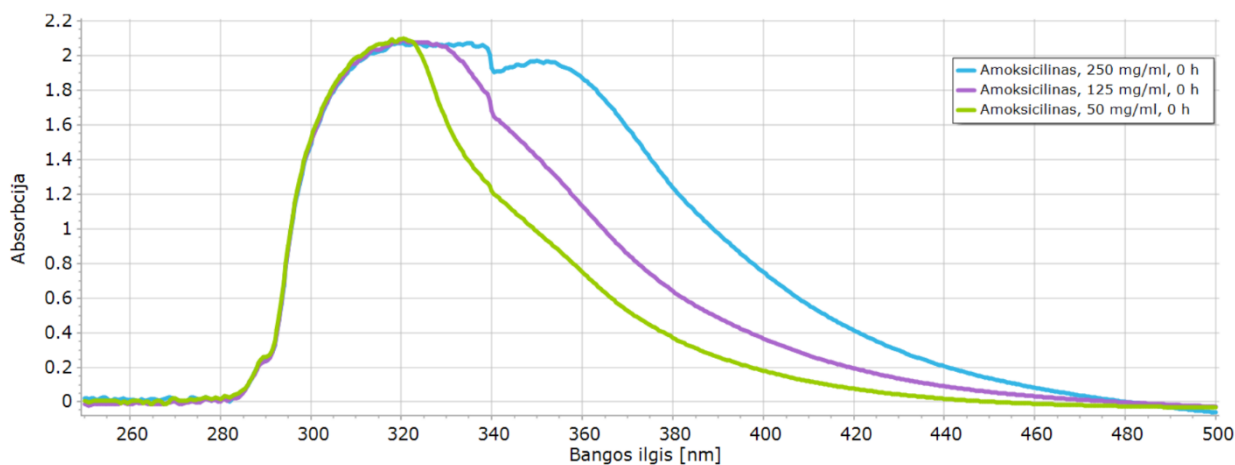


18 Pav. Skirtingų koncentracijų amoksicilino tirpalai, 0,9% NaCl tirpiklyje, laikyti kambario temperatūroje, 0 h laiko taške.

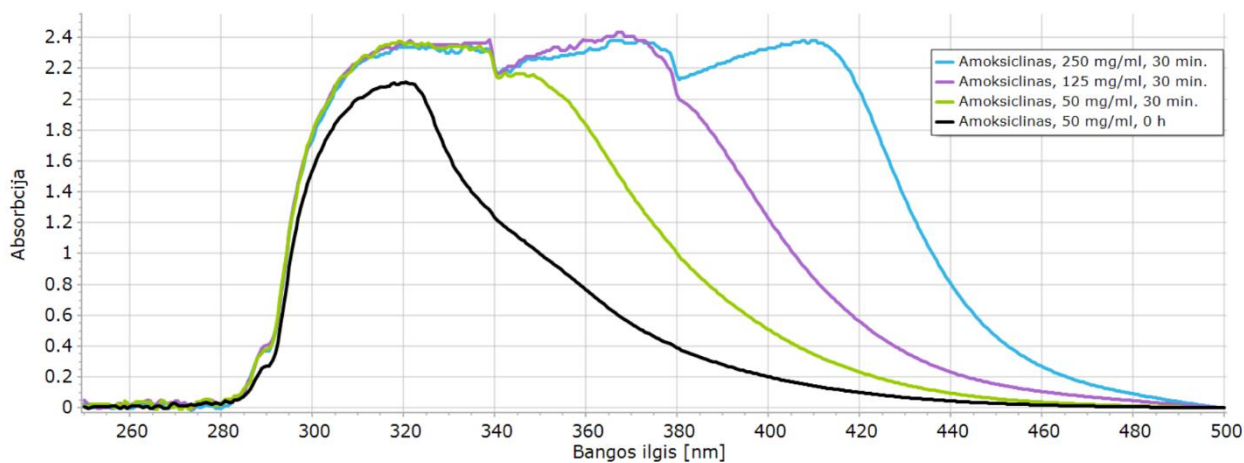


19 Pav. Skirtingų koncentracijų amoksicilino tirpalai, 0,9% NaCl tirpiklyje, laikyti kambario temperatūroje, 30 min. laiko taške.

Lyginant 5% gliukozės tirpiklyje ištirpintą amoksiciliną su tirpintu 0,9% NaCl (20 ir 21 pav.), skiriasi spektro forma, tačiau įvykusios tokios pačios cheminės reakcijos. Reikšmingas skirtumas yra 50 mg/ml koncentracijos tirpale po 30 min., kurio spektre matoma susidariusi nauja smailė, nurodanti beta-laktaminio žiedo skilimą. Tačiau tai nestebima 0,9% NaCl tirpiklyje tirpintame tos pačios koncentracijos tirpale, dėl to galima manyti, jog 5% gliukozės tirpale ištirpintas amoksicilinas išlieka stabilus trumpesnę laiką, lyginant su 0,9% NaCl tirpikliu.



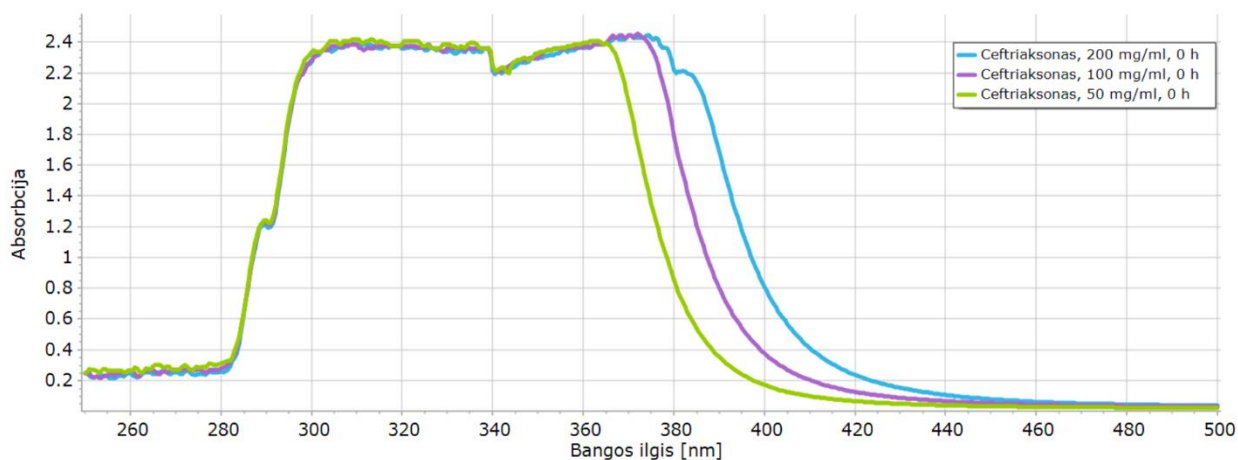
20 Pav. Skirtingų koncentracijų amoksicilino tirpalai, 5% gliukozės tirpiklyje, laikyti kambario temperatūroje, 0 h laiko taške.



21 Pav. Skirtingų koncentracijų amoksicilino tirpalai, 5% gliukozės tirpiklyje, laikyti kambario temperatūroje, 30 min. laiko taške.

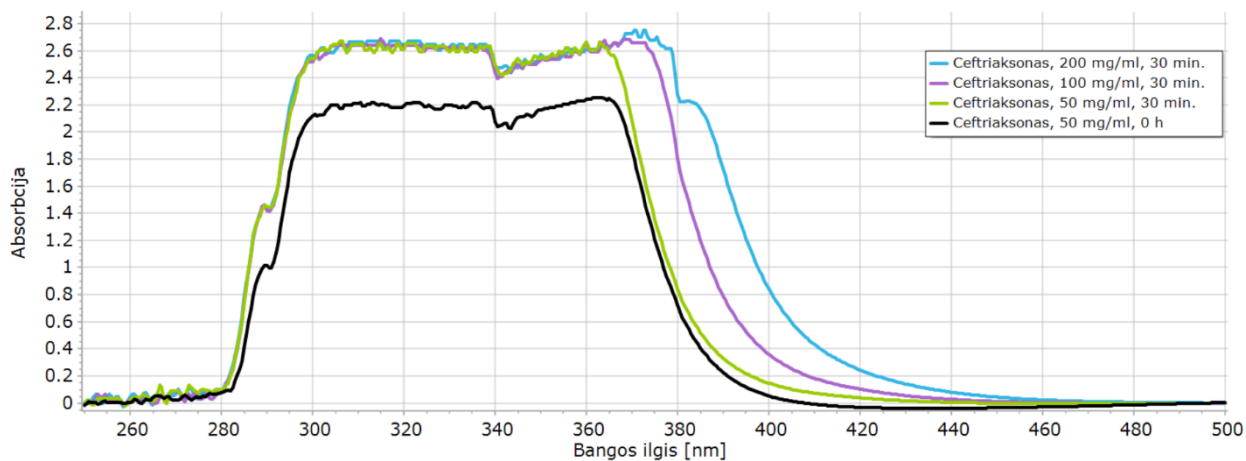
3.1.2. CEFTRIAKSONO UV-VIS SPEKTRAI

Ceftriaksono UV-VIS spektruose matomi spektro formos skirtumai tarp skirtingos koncentracijos tirpalų 0 h taške (22 pav.)



22 Pav. Skirtingų koncentracijų ceftriaksono tirpalai, 0,9% NaCl tirpiklyje, laikyti kambario temperatūroje, 0 h laiko taške.

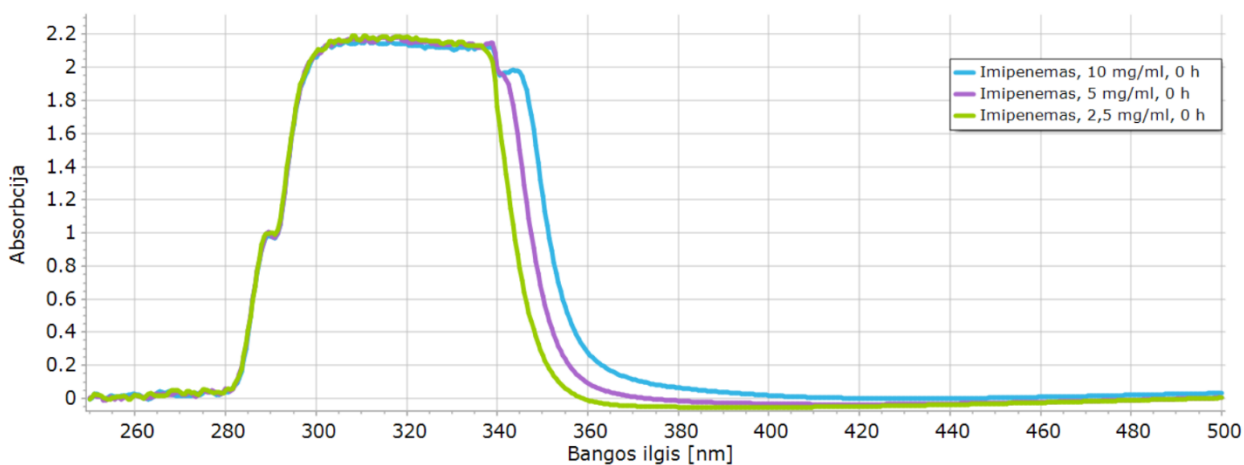
Po 30 min. ceftriaksono spektrų forma išlieka nepakitusi, taip pat nestebimos naujos smailės (23 pav.). Pokyčių tarp 0 h ir 30 min. taškų neatsiranda visų koncentracijų ceftriaksono tirpaluose, gliukozės ir NaCl tirpikliuose, kambario ir šaldytuvo temperatūrose (8 lentelė). Dėl to galima manyti, jog ceftriaksonas išlieka nepakitęs pirmas 30 min. bei yra stabilesnis ilgiau nei amoksicilinas.



23 Pav. Skirtingų koncentracijų ceftriaksono tirpalai, 0,9% NaCl tirpiklyje, laikyti kambario temperatūroje, 30 min. laiko taške.

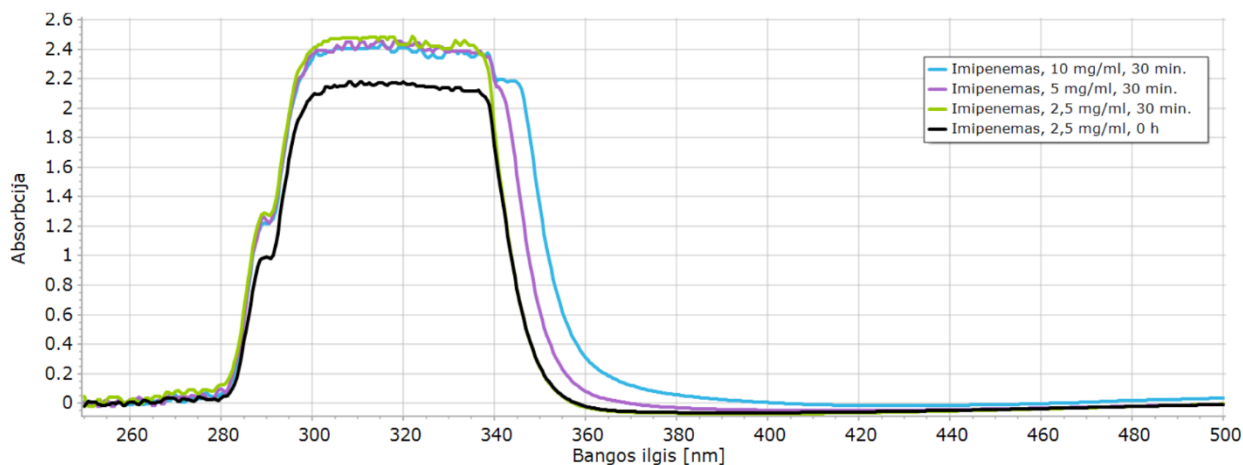
3.1.3. IMIPENEMO UV-VIS SPEKTRAI

Imipenemo, taip pat kaip ir ceftriaksono, UV-VIS spektruose pradiniam taške stebimi spektro formos skirtumai tarp skirtingų koncentracijų tirpalų (24 pav.).



24 Pav. Skirtingų koncentracijų imipenemo tirpalai, 0,9% NaCl tirpiklyje, laikyti kambario temperatūroje, 0 h laiko taške.

Atlikus matavimus po 30 min. nustatytas visų trijų koncentracijų tirpalų absorbcijos padidėjimas, tačiau, lyginant su pradiniu tašku, spektro forma išliko nepakitusi bei nenustatyta naujų smailių (25 pav.). Tokie patys rezultatai stebimi visų koncentracijų tirpaluose, NaCl ir gliukozės tirpikliuose (8 lentelė). Remiantis šiais rezultatais galima daryti išvadą, kad per pirmas 30 min. imipenemo tirpalai išlieka stabilūs ir nepakitę, bei šis antibiotikas yra stabilus ilgesnį laiką nei amoksisilinas.

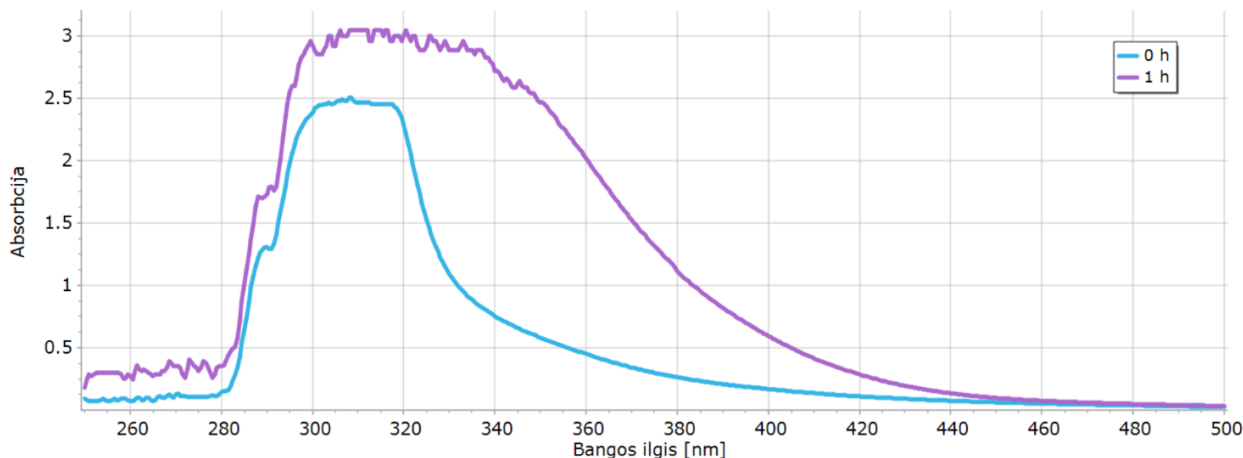


25 Pav. Skirtingų koncentracijų imipenemo tirpalai, 0,9% NaCl tirpiklyje, laikyti kambario temperatūroje, 30 min. laiko taške.

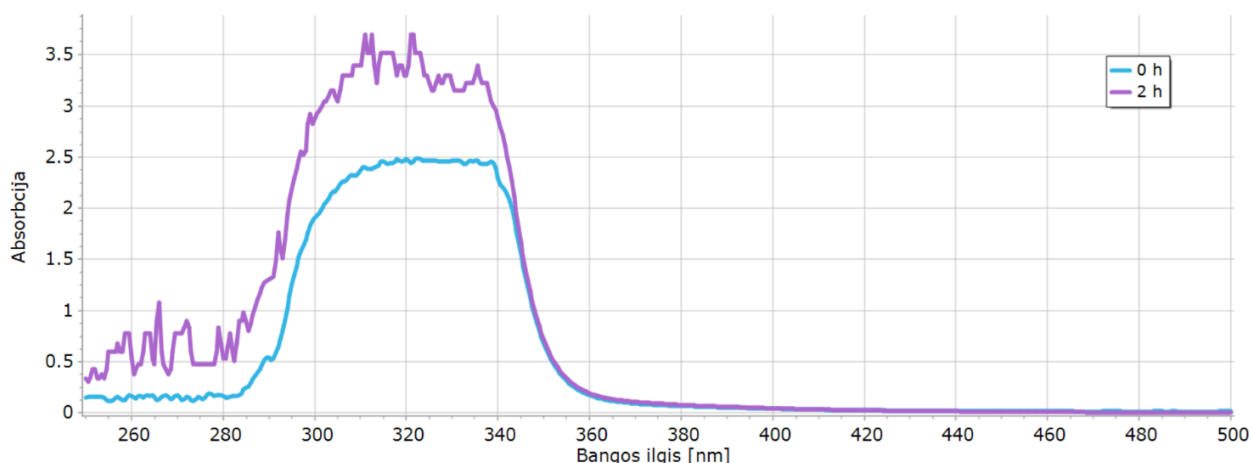
Remiantis UV-VIS spektrų duomenimis, galima teigti, jog per pirmas 30 min. nuo tirpalo paruošimo stabiliausi išlieka ceftriaksono ir imipenemo tirpalai. Amoksicilino tirpalų spektruose matomas beta-laktaminio žiedo skilimas bei stabilumo skirtumai tarp skirtingų koncentracijų. 250 mg/ml koncentracijos tirpalas yra nestabiliausias, 125 mg/ml yra stabilesnis, o stabiliausias išliko 50 mg/ml tirpalas. Taip pat nustatyta, kad amoksicilinas yra mažiau stabilus ištirpintas 5% gliukozės tirpiklyje, lyginant su 0,9% NaCl tirpalu.

3.2. TIRPALŲ FLUORESCENCIJA

Atliekant matavimus su UV-VIS spektrofotometru pastebėti neįprasti rezultatai – bėgant laikui mėginių absorbcija didėja bei pasiekia spektrofotometro matavimų ribą, spektrai tampa iškreipti, lyginant su pradiniame taške gautais duomenimis (2 priedas). Šis reiškinys buvo matomas visuose tirtuose tirpaluose (26 ir 27 pav.).

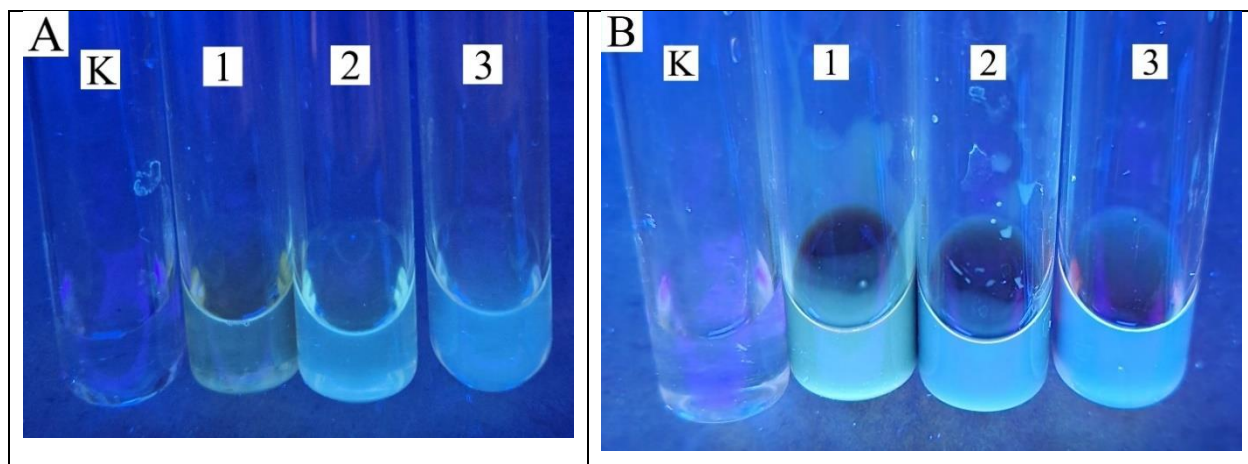


26 Pav. Amoksicilino tirpalas, 50 mg/ml koncentracijos, 0,9% NaCl tirpiklyje, laikytas kambario temperatūroje, 0 h ir 1 h laiko taškuose.



27 Pav. Imipenemo tirpalas, 5 mg/ml koncentracijos, 5% gliukozės tirpiklyje, laikytas kambario temperatūroje, 0 h ir 2 h laiko taškuose.

Atmetus galimas technines klaidas, tokias kaip netinkamas kiuvetės tipas (palygintos polistireno ir kvarco kiuvetės), blogas kiuvečių išplovimas, naudojimosi prietaisu klaidos, nuspręsta apšviesti mėginius ultravioletinės lempos šviesa. Gauti rezultatai parodo antibiotikų tirpalų fluorescenciją, kuri laikui bėgant ryškėja (28 pav.).



28 Pav. Amoksicilino tirpalai UV šviesoje: A – pradiniam taške 0 h, B – praėjus 3 dienoms.

Mėginių žymėjimas: K-kontrolinis tirpalas - 0,9% NaCl, 1-250 mg/ml, 2-125 mg/ml, 3-50 mg/ml koncentracija.

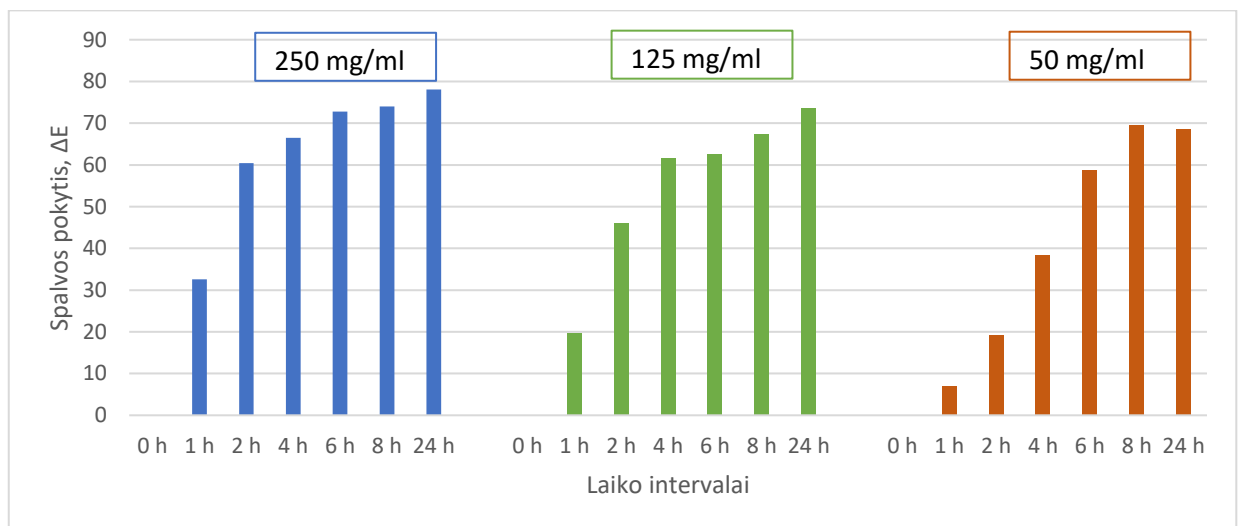
Remiantis literatūros šaltiniais bei UV-VIS spektrų smailėmis nustatyta, jog antibiotikų degradavimo reakcijų metu susidarantys produktai fluorescuoja ir galimai trukdo gauti tikslius matavimų UV-VIS spektrofotometru rezultatus (67,68). Galime daryti išvadą, kad UV-VIS spektrofotometrija yra nerekomenduojamas metodas beta-laktaminių antibiotikų stabilumo

tyrimams. Kadangi šalia spektrofotometrinių matavimų buvo daromos mėginių nuotraukos ir stebimas spalvos pokytis, tolimesniam stabilumo tyrimui buvo naudotas kolorimetrijos metodas.

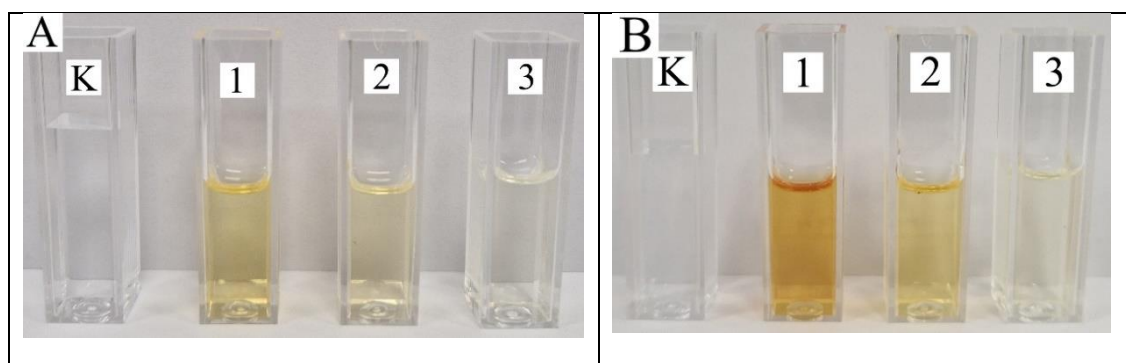
3.3. KOLORIMETRIJA - SPALVOS POKYČIO SKAIČIAVIMAS

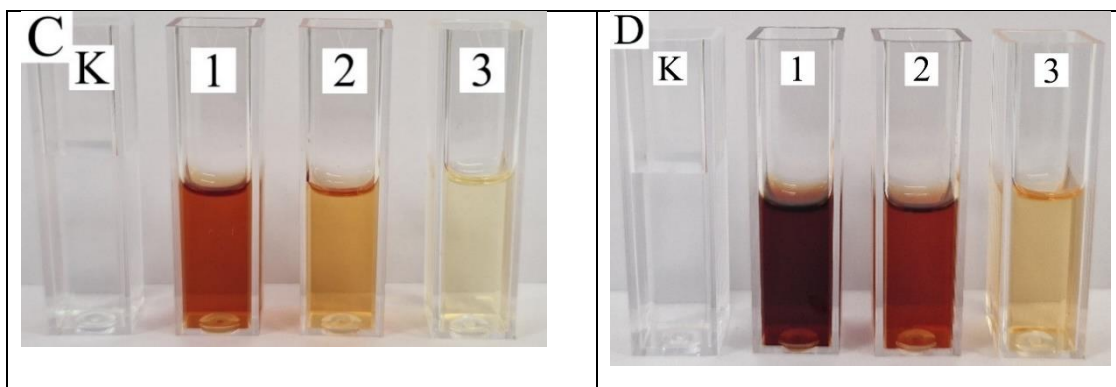
3.3.1. KONCENTRACIJOS ĮTAKA STABILUMUI

Vertinant tirpalus, kuriuose ištirpintas amoksisilinas, matoma, jog mažėjant koncentracijai, tirpalo spalva per tą patį laiko intervalą pakinta mažiau. Didžiausias skirtumas stebimas taške ties 2 h, kai spalvos pokyčio skirtumas tarp didžiausios ir mažiausios koncentracijos tirpalų yra ~3 kartai (29 pav). Šis pokytis aiškiai atsispindi taip pat ir žiūrint į tirpalus plika akimi (30 pav.). Remiantis šiais duomenimis, amoksicilino 250 mg/ml tirpalas išlieka stabilus mažiau nei 1 h, 125 mg/ml tirpalas – iki 1 h, 50 mg/ml tirpalas – iki 2 h.



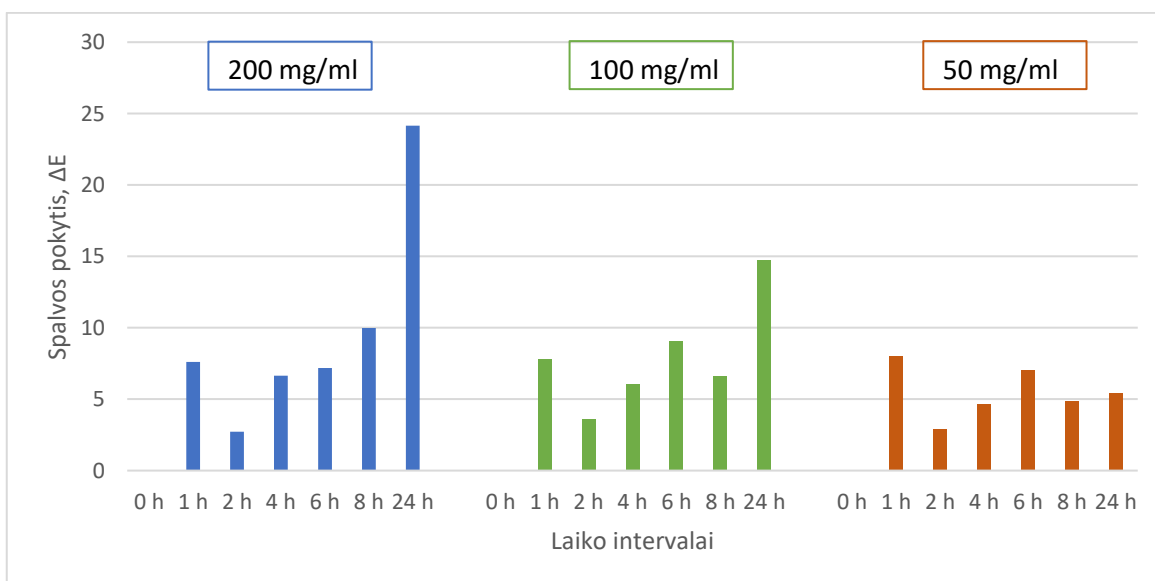
29 Pav. Skirtingų koncentracijų amoksicilino tirpalų apskaičiuotas spalvos pokytis įvairiuose laiko taškuose nuo 0 h iki 24 h. Tirpiklis: 0,9% NaCl, laikymo temperatūra: kambario.



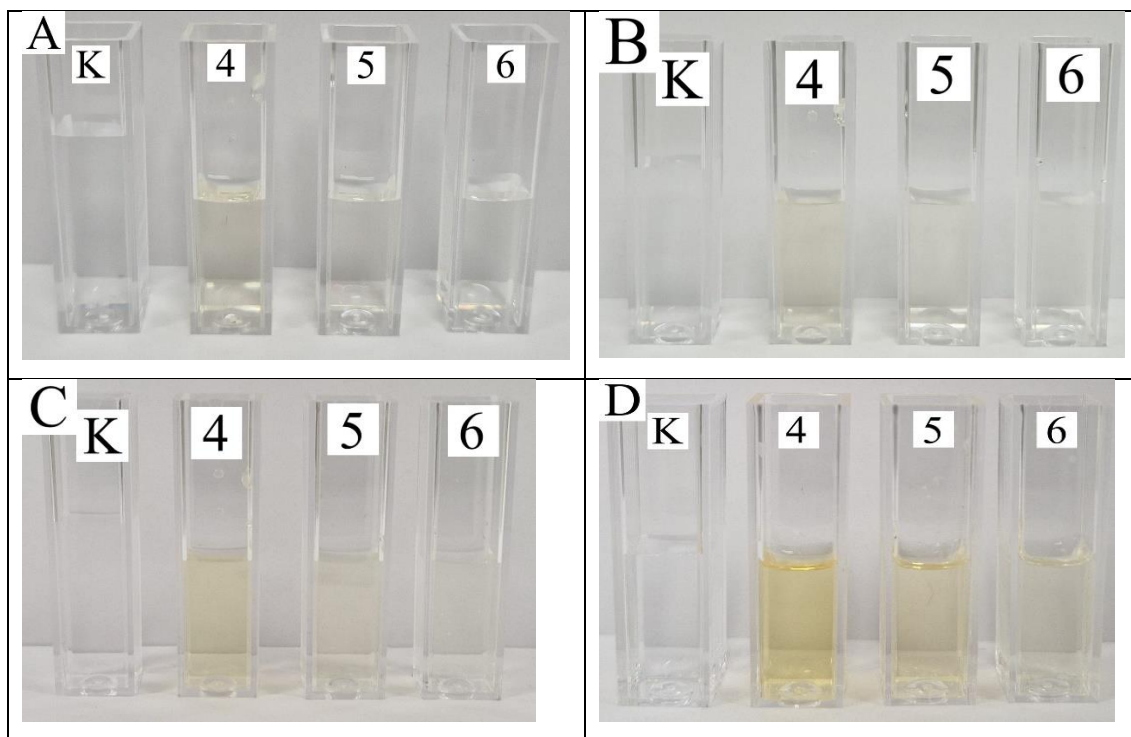


30 Pav. Amoksicilino tirpalų nuotraukos skirtinguose laiko tarpuose (tirpiklis 0,9% NaCl, laikymo temperatūra – kambario): A – 0 h, B – 1 h, C – 2 h, D – 4 h. Žymėjimas: K – kontrolinis tirpalas, 0,9% NaCl, 1-250 mg/ml, 2-125 mg/ml, 3-50 mg/ml koncentracijos.

Apskaičiavus ceftriaksono tirpalų spalvos pokytį, aiškios priklausomybės nėra, išskyrus 200 mg/ml bei 100 mg/ml tirpalus, kuriuose žymesnis spalvos pokytis apskaičiuotas praėjus 24 valandoms (31 pav.). Šių tirpalų spalvos pokytis iš šviesiai gelsvos į gelsvą matomas ir nuotraukose (32 pav.). Remiantis šiais duomenimis galima manyti, jog ceftriaksono 200 mg/ml ir 100 mg/ml tirpalai išlieka stabilūs iki 8 val., o 50 mg/ml tirpalas – iki 24 h.

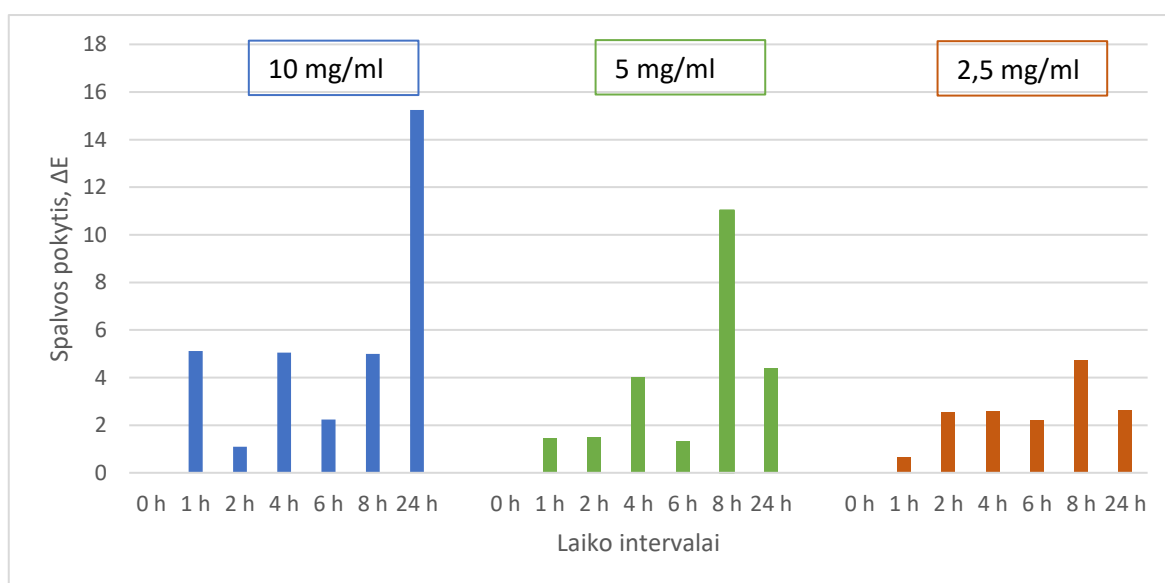


31 Pav. Skirtingų koncentracijų ceftriaksono tirpalų apskaičiuotas spalvos pokytis įvairiuose laiko taškuose nuo 0 h iki 24 h. Tirpiklis: 0,9% NaCl, laikymo temperatūra: kambario.

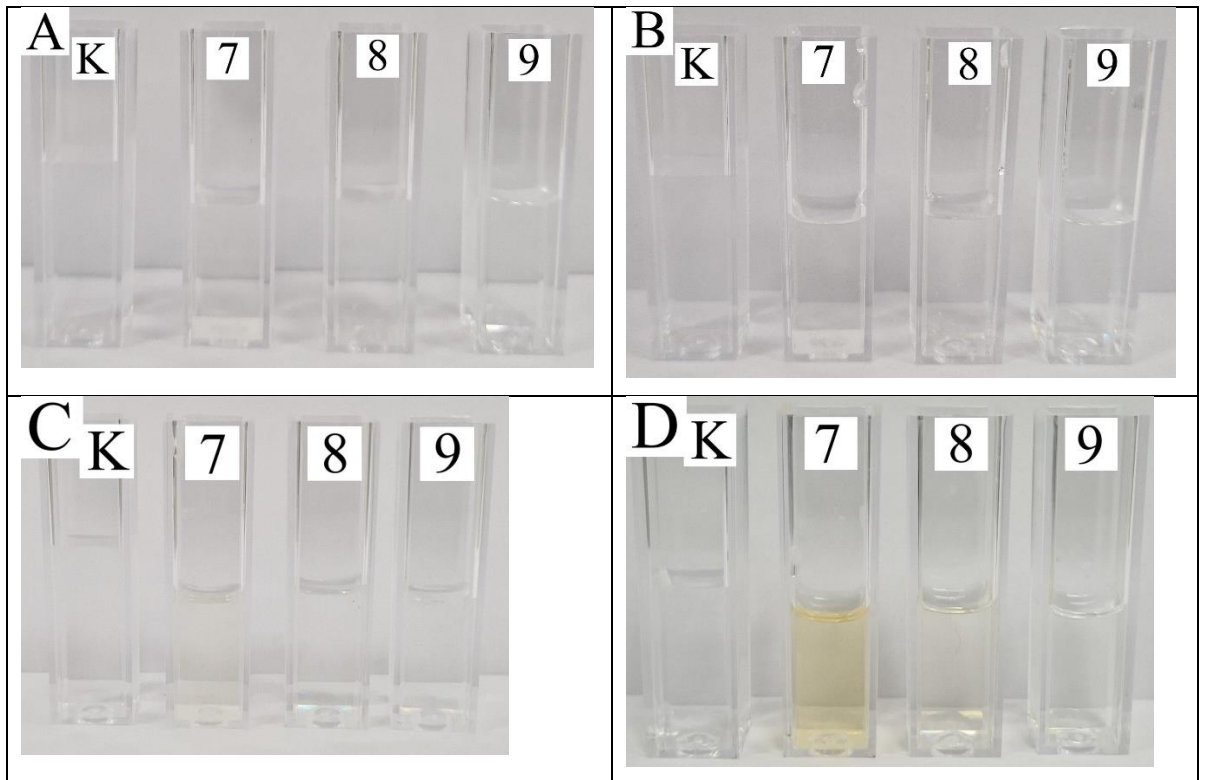


32 Pav. Ceftriaksono tirpalų nuotraukos skirtinguose laiko tarpuose (tirpiklis 0,9% NaCl, laikymo temperatūra – kambario): A – 0 h, B – 1 h, C – 8 h, D – 24 h. Žymėjimas: K – kontrolinis tirpalas, 0,9% NaCl, 4-200 mg/ml, 5-100 mg/ml, 6-50 mg/ml koncentracijos.

Iš apskaičiuotų imipenemo tirpalų spalvos pokyčio reikšmių nėra aiškios priklausomybės nuo koncentracijos, išskyrus 10 mg/ml koncentracijos tirpalą, kurio žymus spalvos pokytis stebimas praėjus 24 valandoms (33 pav.). Šis pokytis iš bespalvio į gelsvą matomas nuotraukose (34 pav.). Remiantis šiais duomenimis nustatyta, jog 10 mg/ml koncentracijos imipenemo tirpalas išlieka stabilus iki 8 val., o 5 ir 2,5 mg/ml tirpalai išlieka stabilūs iki 24 val.



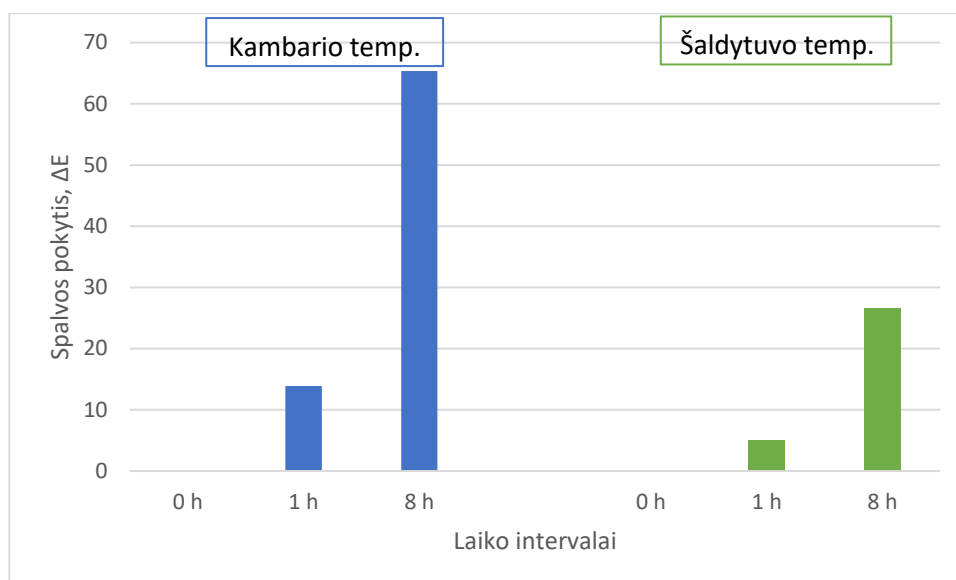
33 Pav. Skirtingų koncentracijų imipenemo tirpalų apskaičiuotas spalvos pokytis įvairiuose laiko taškuose nuo 0 h iki 24 h. Tirpiklis: 0,9% NaCl, laikymo temperatūra: kambario.



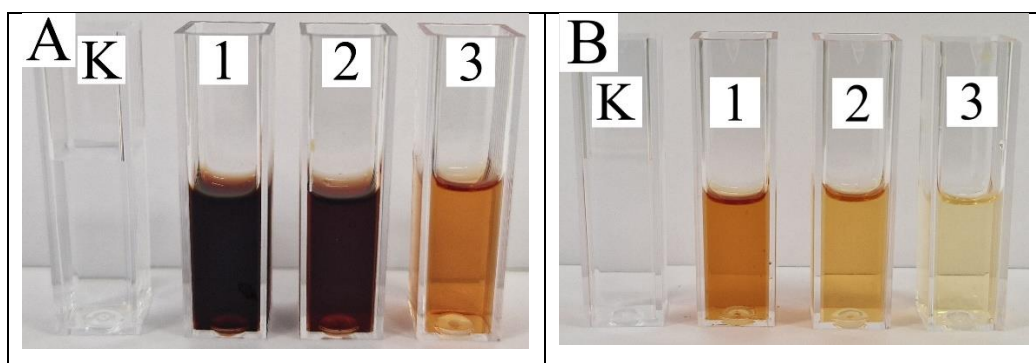
34 Pav. Imipenemo tirpalų nuotraukos skirtinguose laiko tarpuose (tirpiklis 0,9% NaCl, laikymo temperatūra – kambario): A – 0 h, B – 1 h, C – 8 h, D – 24 h. Žymėjimas: K – kontrolinis tirpalas, 0,9% NaCl, 7-200 mg/ml, 8-100 mg/ml, 9-50 mg/ml koncentracijos.

3.3.2. TEMPERATŪROS REŽIMO ĮTAKA STABILUMUI

Lyginant amoksicilino 125 mg/ml koncentracijos tirpalus 0,9% NaCl tirpiklyje, laikytus kambario ir šaldytuvo temperatūrose, apskaičiuotas daugiau nei 2 kartus mažesnis šaldytuve laikyto tirpalo spalvos pokytis tame pačiame laiko taške (35 pav.), o tai reiškia, jog šaldytuve laikomi amoksicilino tirpalai išlieka stabilūs daugiau nei dvigubai ilgiau. Šis pokytis taip pat aiškiai atsispindi mėginių nuotraukose (36 pav.)



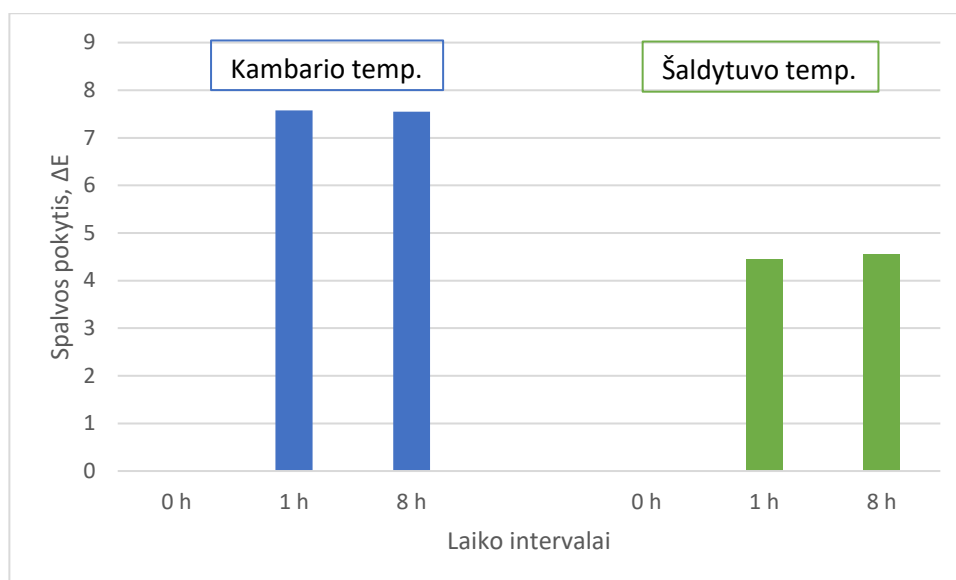
35 pav. Amoksicilino 125 mg/ml koncentracijos tirpalų spalvos pokytis 1 h ir 8 h laiko taškuose skirtingose temperatūrose, tirpiklis 0,9% NaCl.



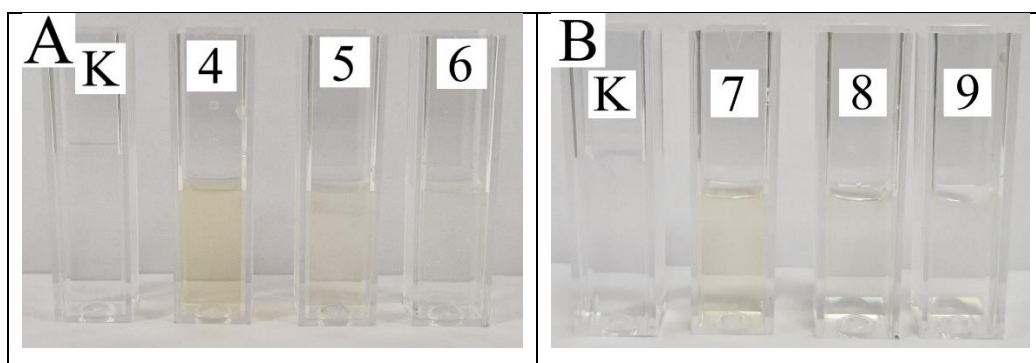
36 pav. Amoksicilino tirpalų nuotraukos A - kambario ir B – šaldytuvo temperatūrose po 8 h.

Žymėjimas: K – kontrolinis tirpalas, 0,9% NaCl, 1-250 mg/ml, 2-125 mg/ml, 3-50 mg/ml koncentracijos.

Ceftriaksono tirpalų spalvos pokyčio skirtumas tarp kambario ir šaldytuvo temperatūrose laikytų tirpalų yra nežymus, lyginant su amoksicilinu, tačiau šaldytuve laikytų tirpalų spalvos pokytis yra apie 1,6 karto mažesnis nei kambario temperatūroje laikytų tirpalų (37 pav.). Taigi, ceftriaksono tirpalai laikomi šaldytuve išlieka stabilesni šiek tiek ilgiau, nei laikomi kambario temperatūroje, tačiau žiūrint į tirpalus plika akimi, šis skirtumas nėra matomas (38 pav.)



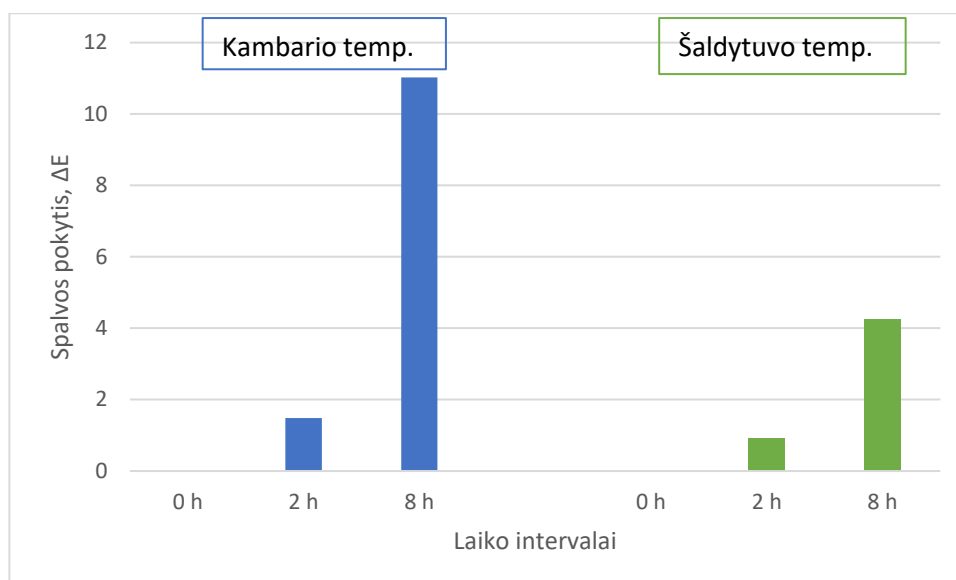
37 pav. Ceftriaksono 200 mg/ml koncentracijos tirpalų spalvos pokytis 1 h ir 8 h laiko taškuose skirtingose temperatūrose, tirpiklis 0,9% NaCl.



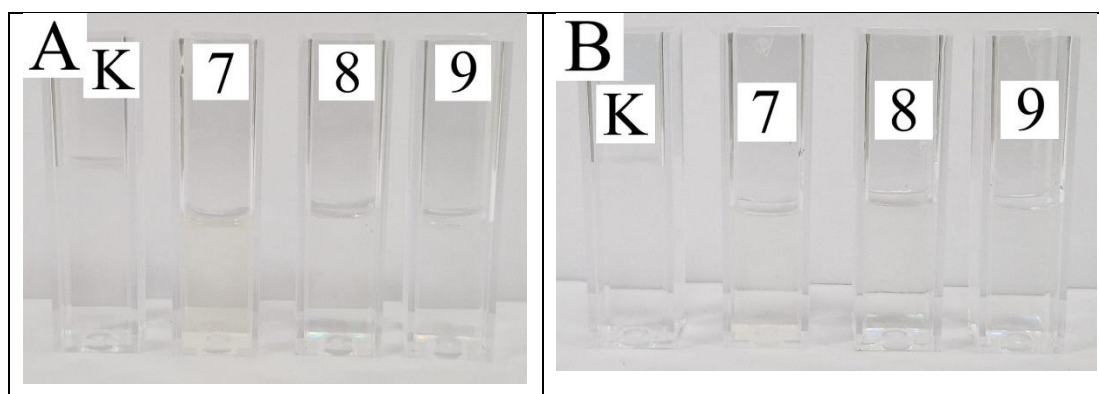
38 pav. Ceftriaksono tirpalų nuotraukos A - kambario ir B – šaldytuvo temperatūrose po 8 h.

Žymėjimas: K – kontrolinis tirpalas, 0,9% NaCl, 4-200 mg/ml, 5-100 mg/ml, 6-50 mg/ml koncentracijos.

Imipenemo 5 mg/ml koncentracijos tirpalas, laikytas šaldytuve, spalvą pakeitė 2,5 karto mažiau, nei tirpalas laikytas kambario temperatūroje (39 pav.). Iš šių duomenų galima spręsti, jog šaldytuve laikomi imipenemo tirpalai taip pat išlieka stabilūs ilgiau. Žiūrint į tirpalų nuotraukas šis spalvos pokytis nestebimas (40 pav.)



39 pav. Imipenemo 10 mg/ml koncentracijos tirpalų spalvos pokytis 2 h ir 8 h laiko taškuose skirtingose temperatūrose, tirpiklis 0,9% NaCl.

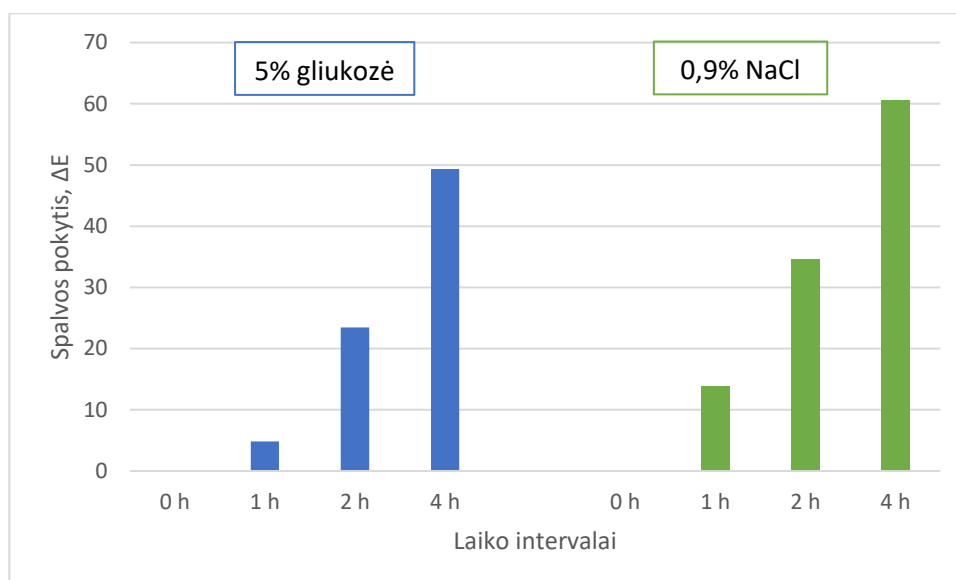


40 pav. Imipenemo tirpalų nuotraukos A - kambario ir B – šaldytuvo temperatūrose po 8 h.

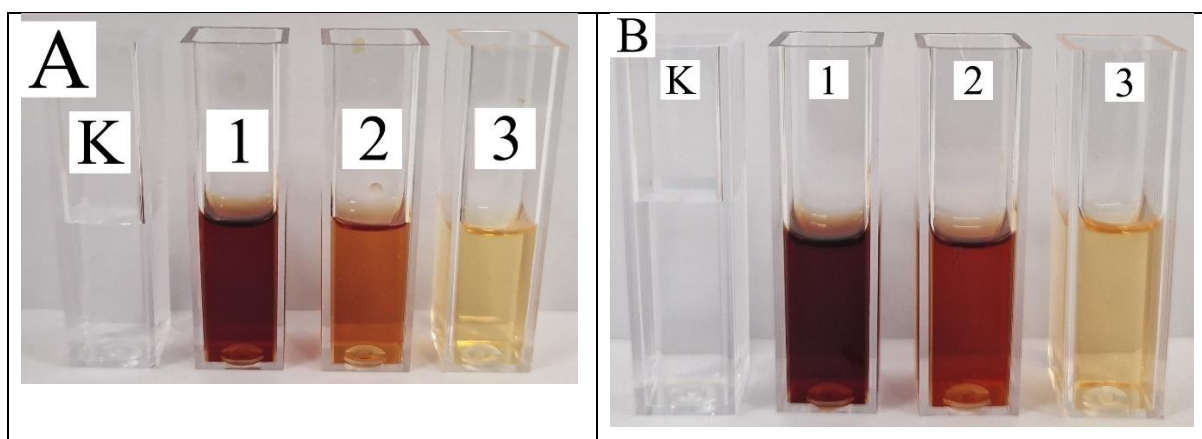
Žymėjimas: K – kontrolinis tirpalas, 0,9% NaCl, 7-10 mg/ml, 8-5 mg/ml, 9-2,5 mg/ml koncentracijos.

3.3.3. TIRPIKLIO ĮTAKA STABILUMUI

Lyginant amoksicilino 125 mg/ml koncentracijos tirpalus 5% gliukozės ir 0,9% NaCl tirpikliuose, apskaičiuota, kad tirpalų su gliukozės tirpikliu spalvos pokytis po 2 h yra 1,4 karto mažesnis, nei tirpalų su NaCl tirpikliu (41 pav.). Po 8 h šis skirtumas buvo 1,2 karto. Galima daryti išvadą, jog amoksicilinas yra šiek tiek stabilesnis 5% gliukozės tirpiklyje, tačiau plika akimi šis skirtumas tarp spalvų nėra matomas (42 pav.).

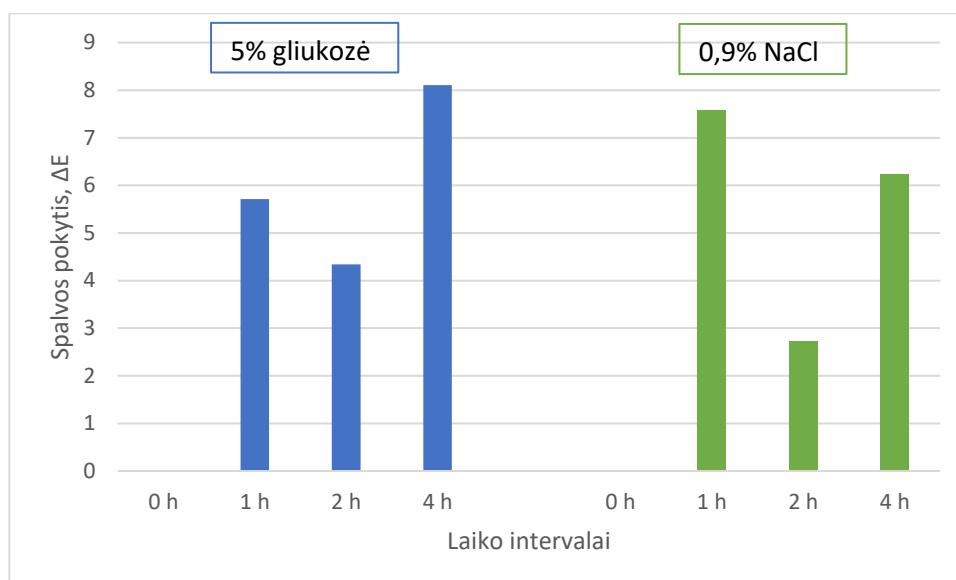


41 pav. Amoksicilino 125 mg/ml koncentracijos tirpalų spalvos pokytis skirtinguose tirpikliuose, laikymo temperatūra – kambario.

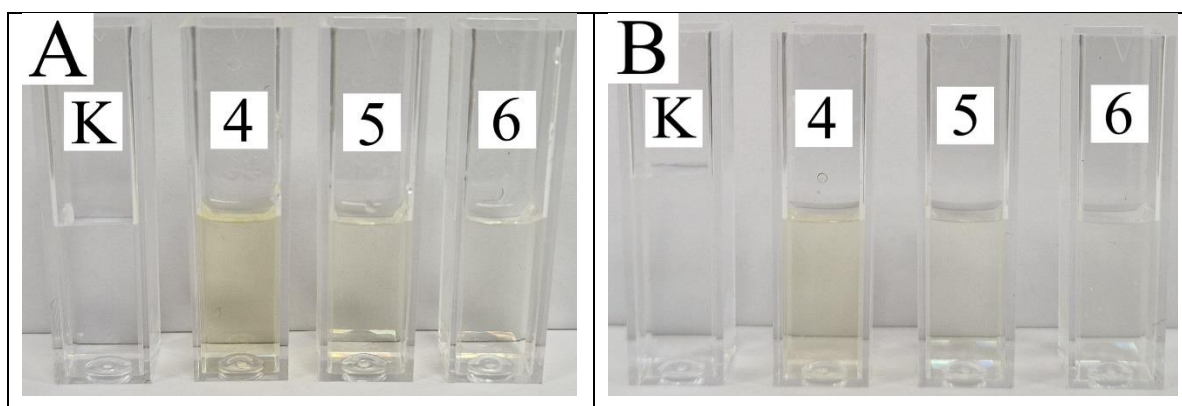


42 pav. Amoksicilino tirpalų nuotraukos A – 5% gliukozės ir B – 0,9% NaCl tirpikliuose po 8 h. Žymėjimas: K – tirpiklis (A - 5% gliukozė, B - 0,9% NaCl), 1-250 mg/ml, 2-125 mg/ml, 3-50 mg/ml koncentracijos.

Ceftriaksono 200 mg/ml koncentracijos tirpalo spalvos pokytis priklausomai nuo naudoto tirpiklio apskaičiuotas, tačiau aiškios priklausomybės nėra, tirpalas vienodai stabilus abiejuose tirpikliuose (43 pav.). Spalvos pokyčio skirtumas nėra matomas ir žiūrint į tirpalus plika akimi (44 pav.).

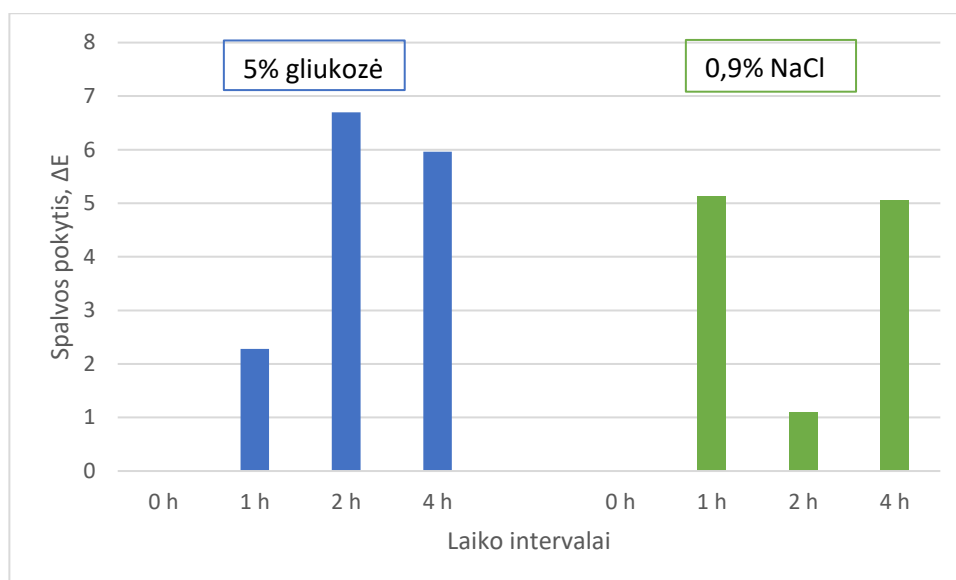


43 pav. Ceftriaksono 200 mg/ml koncentracijos tirpalų spalvos pokytis skirtinguose tirpikliuose, laikymo temperatūra – kambario.

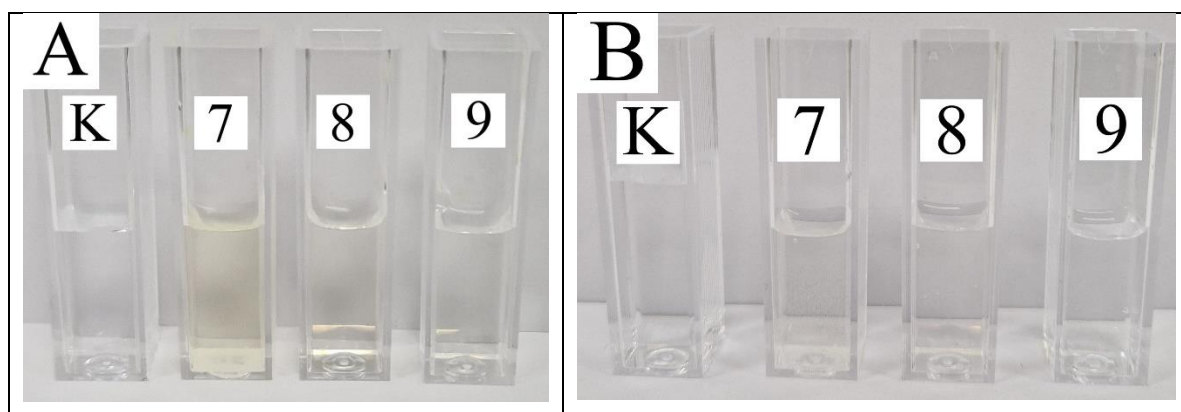


44 pav. Ceftriaksono tirpalų nuotraukos A – 5% gliukozės ir B – 0,9% NaCl tirpikliuose po 8 h. Žymėjimas: K – tirpiklis (A - 5% gliukozė, B - 0,9% NaCl), 4-200 mg/ml, 5-100 mg/ml, 6-50 mg/ml koncentracijos.

Imipenemo 10 mg/ml tirpaluose apskaičiuoti panašūs rezultatai, kaip ir ceftriaksono tirpaluose – aiškios spalvos pokyčio priklausomybės nuo naudoto tirpiklio nėra. Imipenemo tirpalai vienodai stabilūs tiek 5% gliukozės, tiek 0,9% NaCl tirpikliuose (45 pav.). Plika akimi stebimas neryškus spalvos skirtumas didžiausios koncentracijos tirpale – gliukozės tirpiklyje ištirpintas imipenemas yra gelsvesnis nei ištirpintas NaCl (46 pav.).



45 pav. Imipenemo 10 mg/ml koncentracijos tirpalų spalvos pokytis skirtinguose tirpikliuose, laikymo temperatūra – kambario.



46 pav. Imipenemo tirpalų nuotraukos A – 5% gliukozės ir B – 0,9% NaCl tirpikliuose po 8 h. Žymėjimas: K – tirpiklis (A - 5% gliukozė, B - 0,9% NaCl), 7-10 mg/ml, 8-5 mg/ml, 9-2,5 mg/ml koncentracijos.

Apibendrinant kolorimetrijos rezultatus, stabiliausi antibiotikai buvo ceftriaksonas ir imipenemas. Tiek šaldytuve, tiek kambario temperatūroje jie buvo stabilūs iki 8 valandų, tirpiklis stabilumui įtakos neturėjo. Amoksicilinas pasižymėjo mažiausiu stabilumu, 250 mg/ml koncentracijos tirpalas išliko stabilus mažiau nei 1 h. Stebėtas ryškus skirtumas tarp kambario ir šaldytuvo temperatūrų – šaldytuve laikytų tirpalų spalva pakito 2,5 karto mažiau nei laikytų kambario temperatūroje. Taip pat nustatyta, jog amoksicilinas yra šiek tiek stabilesnis ištirpintas 5% gliukozės tirpale. Lyginant su kitais moksliniais tyrimais, amoksicilino stabilumo duomenys yra panašūs – mažiau nei 4 h (51). Ceftriaksonas mokslinių tyrimų duomenimis yra stabilesnis ilgiau nei 24 h (58), o imipenemo stabilumas šiek tiek mažesnis – iki 6 valandų (61).

4. IŠVADOS

- 1) Duomenys dėl tirpiklio įtakos stabilumui yra priešaringi – UV-VIS spektrofotometrijos rezultatai rodo didesnę amoksicilino stabilumą 0,9% NaCl tirpiklyje, o spalvos pokyčio skaičiavimai – 5% gliukozės tirpiklyje. Ceftriaksono ir imipenemo tirpalų stabilumui tirpiklis įtakos neturi.
- 2) Nustatyta, jog šaldytuve laikomi amoksicilino, ceftriaksono ir imipenemo tirpalai išlieka stabilūs apie 2,5 karto ilgiau nei kambario temperatūroje.
- 3) Nustatyta, kad ceftriaksono ir imipenemo visų tirtų koncentracijų tirpalų spalvos pokyčiai iki 8 val. nestebimi, išskyrus paskutinį 24 val. tašką, ties kuriuo matomas ceftriaksono 200 mg/ml, 100 mg/ml, imipenemo 10 mg/ml koncentracijų spalvos pokytis iš bespalvio į gelsvą. Šie antibiotikai demonstruoja pakankamai gerą stabilumą, lyginant su amoksicilinu, kurio didžiausios koncentracijos tirpalo (250 mg/ml) spalvos pokytis iš šviesiai gelsvos į tamsiai geltoną stebimas jau po 1 val. 125 mg/ml koncentracijos tirpalo toks pats spalvos pokytis stebimas po 2 val., o 50 mg/ml – po 4 val.
- 4) Tyrimas parodė, kad priklausomai nuo koncentracijos, spalvos pokytis gali skirtis nuo 1,3 iki 2,5 karto, skilimo proceso greičio skirtumai tarp skirtingų koncentracijų taip pat matomi UV-VIS spektruose. Stabiliausia išliko mažiausia, 50 mg/ml amoksicilino koncentracija (iki 2 val.), o tai sutampa su didžiausia vaisto pakuotės lapelyje nurodyta koncentracija. Ceftriaksono didžiausios tirtos koncentracijos tirpalas (200 mg/ml) išlieka stabilus iki 8 val., tai irgi atitinka registruotojo nurodymus. 10 mg/ml imipenemo tirpalas taip pat išlieka stabilus iki 8 val., o tai yra daugiau nei nurodyta vaisto pakuotės lapelyje rekomenduojama koncentracija (5 mg/ml).
- 5) Dėl fluorescuojančių antibiotikų skilimo produktų, UV-VIS spektrofotometrija yra nerekomenduojamas metodas beta-laktaminių antibiotikų stabilumo tyrimams.

5. REKOMENDACIJOS

Rekomendacijos skirtos sveikatos priežiūros specialistams:

- 1) Prieš vartojimą paruoštus antibiotikų tirpalus laikyti šaldytuve, siekiant prailginti jų tinkamumo vartojimui laiką.
- 2) Amoksicilino tirpalus ruošti pagal poreikį ir suleisti/sulašinti pacientui nedelsiant. 250 mg/ml koncentracija nerekomenduojama infuziniam tirpalui ruošti, dėl itin mažo stabilumo.
- 3) Ceftriaksono ir imipenemo tirpalus rekomenduojama suvartoti per 8 val. nuo tirpalo paruošimo
- 4) Tirpalų paruošimui yra tinkami visi antibiotikų preparatų charakteristikų santraukose nurodyti tirpikliai.

6. LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Antimicrobial consumption in the EU/EEA (ESAC-Net) - Annual Epidemiological Report for 2022 [Prieiga per internetą]. [žiūrėta 2024 m. sausio 2 d.]. Adresas: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-consumption-europe-2022>
2. Olivares B, Martínez F, Rivas L, Calderón C, M. Munita J, R. Campodonico P. A Natural Deep Eutectic Solvent Formulated to Stabilize β -Lactam Antibiotics. *Scientific Reports* 2018 8:1 [Prieiga per internetą]. 2018 m. spalio 8 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 15 d.];8(1):1–12. Adresas: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-33148-w>
3. VVKT - Vaistai [Prieiga per internetą]. [žiūrėta 2024 m. sausio 6 d.]. Adresas: <https://vapris.vvkt.lt/vvkt-web/public/medications>
4. Clardy J, Fischbach MA, Currie CR. The natural history of antibiotics. *Current Biology* [Prieiga per internetą]. 2009 m. birželio 9 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 14 d.];19(11):R437–41. Adresas: <http://www.cell.com/article/S096098220900918X/fulltext>
5. Baran A, Kwiatkowska A, Batoni G, Baran A, Kwiatkowska A, Potocki L. Antibiotics and Bacterial Resistance—A Short Story of an Endless Arms Race. *International Journal of Molecular Sciences* 2023, Vol 24, Page 5777 [Prieiga per internetą]. 2023 m. kovo 17 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 14 d.];24(6):5777. Adresas: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/6/5777/htm>
6. Guilhelmelli F, Vilela N, Albuquerque P, Derengowski L da S, Silva-Pereira I, Kyaw CM. Antibiotic development challenges: The various mechanisms of action of antimicrobial peptides and of bacterial resistance. *Front Microbiol.* 2013 m. gruodžio 9 d.;4(DEC):71808.
7. Patil SM, Patel P, Patil SM, Patel P. Bactericidal and Bacteriostatic Antibiotics. *Infections and Sepsis Development* [Prieiga per internetą]. 2021 m. rugpjūčio 31 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 14 d.]; Adresas: <https://www.intechopen.com/chapters/78345>
8. Wang F, Zhou H, Olademehin OP, Kim SJ, Tao P. Insights into Key Interactions between Vancomycin and Bacterial Cell Wall Structures. *ACS Omega* [Prieiga per internetą]. 2018 m. sausio 1 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 14 d.];3(1):37. Adresas: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsomega.7b02338>
9. Etebu E, Ariekpar I. Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *IJAMBR.* 2016 m.;4:90–101.

10. Silhavy TJ, Kahne D, Walker S. The Bacterial Cell Envelope. Cold Spring Harb Perspect Biol [Prieiga per internetą]. 2010 m. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 14 d.];2(5). Adresas: [/pmc/articles/PMC2857177/](https://pmc/articles/PMC2857177/)
11. Jiménez-Jiménez C, Moreno VM, Vallet-Regí M. Bacteria-Assisted Transport of Nanomaterials to Improve Drug Delivery in Cancer Therapy. Nanomaterials. 2022 m. sausio 1 d.;12(2).
12. Demeke CA, Adinew GM, Abebe TB, Gelaye AT, Gameda SG, Yimenu DK. Comparative analysis of the effectiveness of narrow-spectrum versus broad-spectrum antibiotics for the treatment of childhood pneumonia. SAGE Open Med [Prieiga per internetą]. 2021 m. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 14 d.];9. Adresas: [/pmc/articles/PMC8436284/](https://pmc/articles/PMC8436284/)
13. Uddin TM, Chakraborty AJ, Khusro A, Zidan BRM, Mitra S, Emran T Bin, ir kt. Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. J Infect Public Health. 2021 m. gruodžio 1 d.;14(12):1750–66.
14. Chaudhry SB, Veve MP, Wagner JL. Cephalosporins: A Focus on Side Chains and β -Lactam Cross-Reactivity. Pharmacy 2019, Vol 7, Page 103 [Prieiga per internetą]. 2019 m. liepos 29 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 14 d.];7(3):103. Adresas: <https://www.mdpi.com/2226-4787/7/3/103/htm>
15. Bush K, Bradford PA. β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors: An Overview. Cold Spring Harb Perspect Med [Prieiga per internetą]. 2016 m. rugpjūčio 1 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 14 d.];6(8). Adresas: [/pmc/articles/PMC4968164/](https://pmc/articles/PMC4968164/)
16. Zeng X, Lin J. Beta-lactamase induction and cell wall metabolism in Gram-negative bacteria. Front Microbiol. 2013 m.;4(MAY).
17. Tomar AS, Mandaliya VB. Antibiotic Resistance. Red Biotechnology. Daya Publishing House, A Division of Astral International Pvt. Ltd.; 2019. p. 179–200.
18. Cayston | European Medicines Agency [Prieiga per internetą]. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 15 d.]. Adresas: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/cayston>
19. Wiegand TJ. The penicillins. Encyclopedia of Toxicology [Prieiga per internetą]. 2024 m. sausio 1 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 15 d.];299–305. Adresas: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128243152010198>
20. Fernandes R, Amador P, Prudêncio C. β -Lactams: Chemical structure, mode of action and mechanisms of resistance. Reviews and Research in Medical Microbiology [Prieiga per

- interneta]. 2013 m. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 15 d.];24(1):7–17. Adresas: https://journals.lww.com/revmedmicrobiol/fulltext/2013/01000/___lactams___chemical_structure,_mode_of_action_and.2.aspx
21. Sahoo BM, Banik BK. Therapeutic Potentials of β -Lactam. Synthetic Approaches to Nonaromatic Nitrogen Heterocycles, 2 Volume Set [Prieiga per internetą]. 2020 m. lapkričio 20 d. [žiūrėta 2024 m. vasario 11 d.];59–88. Adresas: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/9781119708841.ch4>
 22. Robertson J, Vlahović-Palčevski V, Iwamoto K, Högberg LD, Godman B, Monnet DL, ir kt. Variations in the Consumption of Antimicrobial Medicines in the European Region, 2014–2018: Findings and Implications from ESAC-Net and WHO Europe. *Front Pharmacol*. 2021 m. birželio 17 d.;12:639207.
 23. Castle SS. Amoxicillin. *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*. 2007 m. sausio 1 d.;1–6.
 24. Stocco G, Lucafò M, Decorti G. Pharmacogenomics of antibiotics. *Int J Mol Sci* [Prieiga per internetą]. 2020 m. rugsėjo 1 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 15 d.];21(17):1–20. Adresas: https://www.researchgate.net/publication/343767237_Pharmacogenomics_of_Antibiotics
 25. Bush K. Other β -lactam antibiotics. *Antibiotic and Chemotherapy: Expert Consult*. 2010 m. sausio 1 d.;226–44.
 26. Akhavan BJ, Khanna NR, Vijhani P. Amoxicillin. *Helicobacter pylori* [Prieiga per internetą]. 2023 m. lapkričio 17 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 15 d.];387–96. Adresas: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482250/>
 27. Tooke CL, Hinchliffe P, Bragginton EC, Colenso CK, Hirvonen VHA, Takebayashi Y, ir kt. β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *J Mol Biol* [Prieiga per internetą]. 2019 m. rugpjūčio 8 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 15 d.];431(18):3472. Adresas: </pmc/articles/PMC6723624/>
 28. Uto LR, Gerriets V. Clavulanic Acid. *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference* [Prieiga per internetą]. 2023 m. gegužės 29 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 15 d.];1–6. Adresas: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545273/>
 29. Drawz SM, Bonomo RA. Three Decades of β -Lactamase Inhibitors. *Clin Microbiol Rev* [Prieiga per internetą]. 2010 m. sausio [žiūrėta 2023 m. gruodžio 15 d.];23(1):160. Adresas: </pmc/articles/PMC2806661/>

30. García-Estrada C, Martín JF. Penicillins and Cephalosporins. *Comprehensive Biotechnology*, Second Edition. 2011 m. sausio 1 d.;3:255–68.
31. Bui T, Preuss C V. Cephalosporins. NCBI [Prieiga per internetą]. 2023 m. kovo 24 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 14 d.]; Adresas: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551517/>
32. Rebec G V. Vitamin C and Glutamate Uptake: Implications for Huntington’s Disease. *Diet and Nutrition in Dementia and Cognitive Decline*. 2015 m. sausio 1 d.;669–78.
33. Wellington ICU Drug Manual v3a 2020-09 | Enhanced Reader.
34. Yimer EM, Hishe HZ, Tuem KB. Repurposing of the β -lactam antibiotic, ceftriaxone for neurological disorders: A review. *Front Neurosci*. 2019 m. kovo 26 d.;13:2260–71.
35. Meletis G. Carbapenem resistance: overview of the problem and future perspectives. *Ther Adv Infect Dis* [Prieiga per internetą]. 2016 m. vasario 1 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 14 d.];3(1):15. Adresas: </pmc/articles/PMC4735501/>
36. Armstrong T, Fenn SJ, Hardie KR. JMM Profile: Carbapenems: a broad-spectrum antibiotic. *J Med Microbiol* [Prieiga per internetą]. 2021 m. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 14 d.];70(12):1462. Adresas: </pmc/articles/PMC8744278/>
37. Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, Bonomo RA. Carbapenems: Past, Present, and Future. *Antimicrob Agents Chemother* [Prieiga per internetą]. 2011 m. lapkričio [žiūrėta 2023 m. gruodžio 15 d.];55(11):4943. Adresas: </pmc/articles/PMC3195018/>
38. Wilson APR. Sparing carbapenem usage. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [Prieiga per internetą]. 2017 m. rugsėjo 1 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 15 d.];72(9):2410–7. Adresas: <https://dx.doi.org/10.1093/jac/dkx181>
39. Arya R, Goldner BS, Shorr AF. Novel agents in development for multidrug-resistant Gram-negative infections: potential new options facing multiple challenges. *Curr Opin Infect Dis*. 2022 m. gruodžio 1 d.;35(6):589–94.
40. Rodloff AC, Goldstein EJC, Torres A. Two decades of imipenem therapy. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [Prieiga per internetą]. 2006 m. lapkričio 1 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 15 d.];58(5):916–29. Adresas: <https://dx.doi.org/10.1093/jac/dkl354>
41. Salmon-Rousseau A, Martins C, Blot M, Buisson M, Mahy S, Chavanet P, ir kt. Comparative review of imipenem/cilastatin versus meropenem. *Med Mal Infect*. 2020 m. birželio 1 d.;50(4):316–22.

42. Imipenem-Cilastatin. LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Prieiga per internetą]. 2017 m. sausio 17 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 15 d.]; Adresas: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548708/>
43. Qin W, Panunzio M, Biondi S. β -Lactam antibiotics renaissance. *Antibiotics*. 2014 m. gegužės 9 d.;3(2):193–215.
44. Maddison JE, Watson ADJ, Elliott J. Antibacterial drugs. *Small Animal Clinical Pharmacology*. 2008 m. sausio 1 d.;148–85.
45. Sauberan JB, Bradley JS. Antimicrobial Agents. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*. 2018 m. sausio 1 d.;1499-1531.e3.
46. He Y, Lei J, Pan X, Huang X, Zhao Y. The hydrolytic water molecule of Class A β -lactamase relies on the acyl-enzyme intermediate ES* for proper coordination and catalysis. *Scientific Reports* 2020 10:1 [Prieiga per internetą]. 2020 m. birželio 23 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 15 d.];10(1):1–13. Adresas: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-66431-w>
47. Development of metallo-beta-lactamase inhibitors - Uppsala Antibiotic Center - Uppsala University, Sweden [Prieiga per internetą]. [žiūrėta 2024 m. balandžio 29 d.]. Adresas: <https://www.uac.uu.se/uac-research/metallo-beta-lactmase-inhibitors/>
48. Akahane M, Enoki Y, Saiki R, Hayashi Y, Hiraoka K, Honma K, ir kt. Stability of antimicrobial agents in an elastomeric infusion pump used for outpatient parenteral antimicrobial therapy. *International Journal of Infectious Diseases* [Prieiga per internetą]. 2021 m. vasario 1 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 15 d.];103:464–8. Adresas: <http://www.ijidonline.com/article/S1201971220324899/fulltext>
49. Manchanda S, Chandra A, Bandopadhyay S, Kishore Deb P, Tekade RK. Chapter 22. Formulation Additives Used in Pharmaceutical Products: Emphasis on Regulatory Perspectives and GRAS. 2018 m. [žiūrėta 2024 m. vasario 11 d.]; Adresas: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814423-7.00022-8>
50. McMurry J. *Organic chemistry: A Tenth Edition*. OpenStax; 2023.
51. Binson G, Grignon C, Le Moal G, Lazaro P, Lelong J, Roblot F, ir kt. Overcoming stability challenges during continuous intravenous administration of high-dose amoxicillin using portable elastomeric pumps. *PLoS One* [Prieiga per internetą]. 2019 m. rugpjūčio 1 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 16 d.];14(8):e0221391. Adresas: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0221391>

52. Arlicot N, Marie A, Cade C, Laffon M, Antier D. Stability of amoxicillin in portable pumps is drug concentration dependent. *Pharmazie*. 2011 m. rugpjūčio;66(8):631–2.
53. Fawaz S, Dixon B, Barton S, Mohamed A, Nabhani-Gebara S. Suitability of amoxicillin–clavulanic acid for administration via prolonged infusion. *Drug Des Devel Ther* [Prieiga per internetą]. 2020 m. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 16 d.];14:103–9. Adresas: <https://doi.org/10.2147/DDDT.S230459>
54. Loeuille G, D’huart E, Vigneron J, Nisse YE, Beiler B, Polo C, ir kt. Stability Studies of 16 Antibiotics for Continuous Infusion in Intensive Care Units and for Performing Outpatient Parenteral Antimicrobial Therapy. *Antibiotics* 2022, Vol 11, Page 458 [Prieiga per internetą]. 2022 m. kovo 29 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 16 d.];11(4):458. Adresas: <https://www.mdpi.com/2079-6382/11/4/458/htm>
55. Fawaz S, Merzouk M, Barton S, Nabhani-Gebara S. Stability of amoxicillin and clavulanic acid in separate containers for administration via a y-site. *Drug Des Devel Ther* [Prieiga per internetą]. 2021 m. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 16 d.];15:3979–84. Adresas: <https://doi.org/10.2147/DDDT.S310418>
56. Perks SJ, Lanskey C, Robinson N, Pain T, Franklin R. Systematic review of stability data pertaining to selected antibiotics used for extended infusions in outpatient parenteral antimicrobial therapy (OPAT) at standard room temperature and in warmer climates. *European Journal of Hospital Pharmacy* [Prieiga per internetą]. 2020 m. kovo 1 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 16 d.];27(2):65–72. Adresas: <https://ejhp.bmj.com/content/27/2/65>
57. Jenkins A, Shanu S, Jamieson C, Santillo M. Widening the net: a literature review of antimicrobial agents with potential suitability for outpatient parenteral antimicrobial therapy services—the importance of storage and stability. *European Journal of Hospital Pharmacy* [Prieiga per internetą]. 2023 m. kovo 1 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 16 d.];30(2):64–9. Adresas: <https://ejhp.bmj.com/content/30/2/64>
58. Esteban-Cartelle B, Vicente-Oliveros N, Pérez Menéndez-Conde C, Serrano DR, Martín-Dávila P, Fortún-Abete J, ir kt. Antibiotic stability in portable elastomeric infusion devices: A systematic review. *American Journal of Health-System Pharmacy* [Prieiga per internetą]. 2022 m. rugpjūčio 5 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 16 d.];79(16):1355–68. Adresas: <https://dx.doi.org/10.1093/ajhp/zxac122>

59. De M, Glaría D, Moscciati GG, Ramos RG, Riquelme MM. Stability of ceftriaxone in water and cerebrospinal fluid939. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 16 d.]; Adresas: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jssc.200301306>
60. Curti C, Harti Souab K, Lamy E, Mathias F, Bornet C, Guinard B, ir kt. Stability Studies of Antipyocyanic Beta-Lactam Antibiotics Used in Continuous Infusion. *Pharmazie*. 2019 m.;74(6):357–62.
61. Sornsuvit C, Wientong P, Uitrakul S, Okonogi S, Katip W. Influence of Concentration and Temperature on Stability of Imipenem Focused on Solutions for Extended Infusion. Dose-Response [Prieiga per internetą]. 2021 m. lapkričio 20 d. [žiūrėta 2023 m. gruodžio 17 d.];19(4):1–8. Adresas: [/pmc/articles/PMC8851140/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/348851140/)
62. Akash MSH, Rehman K. Ultraviolet-Visible (UV-VIS) Spectroscopy. *Essentials of Pharmaceutical Analysis* [Prieiga per internetą]. 2020 m. [žiūrėta 2024 m. balandžio 4 d.];29–56. Adresas: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-15-1547-7_3
63. Sakiroff LM, Chennell P, Yessaad M, Pereira B, Bouattour Y, Sautou V. Evaluation of color changes during stability studies using spectrophotometric chromaticity measurements versus visual examination. *Scientific Reports* 2022 12:1 [Prieiga per internetą]. 2022 m. gegužės 27 d. [žiūrėta 2024 m. balandžio 4 d.];12(1):1–9. Adresas: <https://www.nature.com/articles/s41598-022-13025-3>
64. Takeuchi D, Akeda Y, Sugawara Y, Sakamoto N, Yamamoto N, Shanmugakani RK, ir kt. Establishment of a dual-wavelength spectrophotometric method for analysing and detecting carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Scientific Reports* 2018 8:1 [Prieiga per internetą]. 2018 m. spalio 24 d. [žiūrėta 2024 m. balandžio 23 d.];8(1):1–8. Adresas: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-33883-0>
65. Ataklti A, Alemu K, Abebe B. Study of the self-association of amoxicillin, thiamine and the hetero-association with biologically active compound chlorgenic acid. *Afr J Pharm Pharmacol*. 2016 m. gegužės 15 d.;10(18):393–402.
66. De Ruyck J, Famerée M, Wouters J, Perpète EA, Preat J, Jacquemin D. Towards the understanding of the absorption spectra of NAD(P)H/NAD(P)⁺ as a common indicator of dehydrogenase enzymatic activity. *Chem Phys Lett*. 2007 m. gruodžio 14 d.;450(1–3):119–22.

67. Hameed A, Azam A. Sensing Capability of Fluorescent Sodium Salt of Amoxicillin. *American Journal of Nanomaterials* [Prieiga per internetą]. 2013 m. [žiūrėta 2024 m. gegužės 1 d.];1(2):27–30. Adresas: <https://pubs.sciepub.com/ajn/1/2/3/index.html>
68. Shen LH, Wang HN, Chen PJ, Yu CX, Liang YD, Zhang CX. The analytical determination and electrochemiluminescence behavior of amoxicillin. *J Food Drug Anal.* 2016 m. sausio 1 d.;24(1):199–205.

PRIEDAI

1 priedas. Spalvos pokyčio skaičiavimai.

Mėginys	RGB (5 taškų vidurkis)	L*	a*	b*	$\Delta L^*=L^*-L^*_0$	$\Delta a^*=a^*-a^*_0$	$\Delta b^*=b^*-b^*_0$	$\Delta E=\sqrt{(\Delta L^*)^2+(\Delta a^*)^2+(\Delta b^*)^2}$
Am-250-gliu-š-0	193, 166, 83	68.92	-0.33	45.96				
Am-250-gliu-š-0.5	190, 159, 70	66.66	1.19	49.52	-2.26	1.52	3.56	4.48
Am-250-gliu-š-1	186, 150, 50	63.74	3.16	55.08	-5.18	3.49	9.12	11.05
Am-250-gliu-š-1.5	186, 135, 44	59.84	11.12	53.70	-9.08	11.45	7.74	16.54
Am-125-gliu-š-0	193, 179, 136	73.13	-1.65	23.81				
Am-125-gliu-š-0.5	194, 176, 121	72.16	-1.53	30.54	-0.97	0.12	6.73	6.80
Am-125-gliu-š-1	188, 165, 87	68.23	-1.60	43.06	-4.90	0.05	19.25	19.86
Am-125-gliu-š-1.5	192, 162, 79	67.73	1.08	46.51	-5.40	2.73	22.70	23.49
Am-50-gliu-š-0	185, 180, 168	73.41	-0.35	6.74				
Am-50-gliu-š-0.5	193, 187, 171	75.96	-0.66	8.85	2.55	-0.31	2.11	3.32
Am-50-gliu-š-1	187, 182, 159	73.88	-2.17	12.35	0.47	-1.82	5.61	5.92
Am-50-gliu-š-1.5	191, 182, 152	74.06	-1.75	16.44	0.65	-1.4	9.7	9.82
Am-250-nacl-š-0	186, 169, 123	69.64	-0.77	26.01				
Am-250-nacl-š-0.5	193, 176, 118	72.02	-2.28	31.93	2.38	-1.51	5.92	6.56
Am-250-nacl-š-1	186, 147, 55	63.00	5.05	52.24	-6.64	5.82	26.23	27.68
Am-250-nacl-š-1.5	178, 118, 38	54.62	16.77	50.81	-15.02	17.54	24.8	33.89
Am-250-nacl-š-8	176, 98, 32	49.58	26.78	48.48	-20.06	27.55	22.47	40.82
Am-125-nacl-š-0	188, 175, 149	71.91	0.39	15.02				
Am-125-nacl-š-0.5	192, 183, 149	74.35	-2.35	18.47	2.44	-2.74	3.45	5.04
Am-125-nacl-š-1	195, 171, 96	70.58	-1.05	41.52	-1.33	-1.44	26.5	26.57
Am-125-nacl-š-1.5	185, 154, 73	64.89	1.93	45.97	-7.02	1.54	30.95	31.77

Am-125- nacl-š-8	189, 141, 65	61.87	10.24	46.55	-10.04	9.85	31.53	34.52
Am-50- nacl-š-0	190, 182, 173	74.46	1.25	5.58				
Am-50- nacl-š-0.5	190, 187, 170	75.69	-1.92	8.98	1.23	-3.17	3.4	4.81
Am-50- nacl-š-1	190, 183, 164	74.50	-0.79	10.54	0.04	-2.04	4.96	5.36
Am-50- nacl-š-1.5	185, 180, 159	73.19	-1.85	11.35	-1.27	-3.1	5.77	6.67
Am-250- gliu-š-1	195, 180, 138	73.6	-1.13	23.4	-0.86	-2.38	17.82	18.00
Cef-200- gliu-š-0	183, 178, 170	72.77	0.34	4.70				
Cef-200- gliu-š-0.5	178, 174, 162	71.11	-0.72	6.65	-1.66	-1.06	1.95	2.77
Cef-200- gliu-š-1	184, 180, 171	73.40	-0.20	5.08	0.63	-0.54	0.38	0.91
Cef-200- gliu-š-1.5	185, 178, 167	72.86	0.55	6.50	0.09	0.21	1.8	1.81
Cef-100- gliu-š-0	192, 189, 184	76.72	0.15	2.88				
Cef-100- gliu-š-0.5	185, 182, 176	74.13	-0.03	3.41	-2.59	-0.18	0.53	2.65
Cef-100- gliu-š-1	184, 179, 175	73.24	1.05	2.66	-3.48	0.9	-0.22	3.60
Cef-100- gliu-š-1.5	187, 182, 177	74.31	0.87	3.16	-2.41	0.72	0.28	2.53
Cef-50- gliu-š-0	192, 188, 186	76.51	1.04	1.50				
Cef-50- gliu-š-0.5	184, 183, 179	74.39	-0.38	2.14	-2.12	-1.42	0.64	2.63
Cef-50- gliu-š-1	186, 184, 180	74.83	-0.03	2.27	-1.68	-1.07	0.77	2.14
Cef-50- gliu-š-1.5	187, 183, 180	74.65	0.87	2.01	-1.86	-0.17	0.51	1.94
Cef-200- nacl-š-0	190, 186, 177	75.60	-0.20	5.05				
Cef-200- nacl-š-0.5	186, 182, 171	74.08	-0.55	6.09	-1.52	-0.35	1.04	1.87
Cef-200- nacl-š-1	179, 175, 163	71.48	-0.72	6.65	-4.12	-0.52	1.60	4.45
Cef-200- nacl-š-1.5	182, 177, 163	72.25	-0.69	7.79	-3.35	-0.49	2.74	4.36
Cef-200- nacl-š-8	202, 198, 186	79.89	-0.71	6.49	4.29	-0.51	1.44	4.55
Cef-100- nacl-š-0	197, 193, 189	78.28	0.68	2.49				
Cef-100- nacl-š-0.5	191, 189, 178	76.49	-1.26	5.79	-1.79	-1.94	3.3	4.23

Cef-100- nacl-š-1	184, 181, 174	73.74	-0.21	3.93	-4.54	-0.89	1.44	4.85
Cef-100- nacl-š-1.5	184, 180, 171	73.40	-0.20	5.08	-4.88	-0.88	2.59	5.59
Cef-100- nacl-š-8	199, 199, 191	80.04	-1.44	3.99	1.76	-2.12	1.5	3.14
Cef-50- nacl-š-0	186, 183, 179	74.55	0.33	2.39				
Cef-50- nacl-š-0.5	196, 195, 191	78.77	-0.38	2.12	4.22	-0.71	-0.27	4.29
Cef-50- nacl-š-1	180, 181, 175	73.45	-1.45	2.92	-1.1	-1.78	0.53	2.16
Cef-50- nacl-š-1.5	182, 180, 175	73.34	-0.21	2.79	-1.21	-0.54	0.4	1.38
Cef-50- nacl-š-8	199, 198, 194	79.86	-0.37	2.11	5.31	-0.7	-0.28	5.36
Am-250- nacl-k-0	189, 174, 132	71.39	-1.09	23.55				
Am-250- nacl-k-1	184, 145, 69	62.40	6.13	45.06	-8.99	7.22	21.51	24.41
Am-250- nacl-k-2	152, 46, 24	35.39	43.11	37.66	-36	44.2	14.11	58.73
Am-250- nacl-k-4	58, 25, 30	13.76	16.91	4.11	-57.63	18	-19.44	63.43
Am-250- nacl-k-6	33, 23, 29	9.20	6.36	-2.26	-62.19	7.45	-25.81	67.74
Am-250- nacl-k-8	27, 22, 27	8.00	3.74	-2.61	-63.39	4.83	-26.16	68.75
Am-250- nacl-k-24	21, 19, 22	6.17	1.54	-1.59	-65.22	2.63	-25.14	69.95
Am-125- nacl-k-0	187, 177, 151	72.39	-0.76	14.60				
Am-125- nacl-k-1	195, 177, 126	72.60	-1.06	28.47	0.21	-0.3	13.87	13.87
Am-125- nacl-k-2	192, 140, 69	61.99	12.36	44.84	-10.4	13.12	30.24	34.57
Am-125- nacl-k-4	123, 32, 30	27.68	38.95	24.46	-44.71	39.71	9.86	60.61
Am-125- nacl-k-6	66, 25, 31	15.24	20.55	5.66	-57.15	21.31	-8.94	61.65
Am-125- nacl-k-8	38, 22, 27	9.52	9.08	-0.19	-62.87	9.84	-14.79	65.33
Am-125- nacl-k-24	21, 20, 22	6.48	0.91	-1.13	-65.91	1.67	-15.73	67.78
Am-50- nacl-k-0	184, 180, 174	73.47	0.33	3.55				
Am-50- nacl-k-1	195, 190, 176	77.02	-0.69	7.68	3.55	-1.02	4.13	5.54
Am-50- nacl-k-2	206, 196, 166	79.25	-1.4	16.33	5.78	-1.73	12.78	14.13

Am-50-nacl-k-4	194, 163, 113	68.65	4.54	30.2	-4.82	4.21	26.65	27.41
Am-50-nacl-k-6	191, 133, 70	60.15	15.85	42.21	-13.32	15.52	38.66	43.74
Am-50-nacl-k-8	182, 105, 43	52.09	25.93	46.34	-21.38	25.6	42.79	54.25
Am-50-nacl-k-24	85, 23, 24	18.41	28.7	15.5	-55.06	28.37	11.95	63.08
Cef-200-nacl-k-0	180, 176, 165	71.87	-0.55	6.13				
Cef-200-nacl-k-1	199, 197, 184	79.35	-1.6	6.75	7.48	-1.05	0.62	7.58
Cef-200-nacl-k-2	189, 182, 171	74.33	0.54	6.47	2.46	1.09	0.34	2.71
Cef-200-nacl-k-4	195, 192, 176	77.54	-1.75	8.43	5.67	-1.2	2.3	6.24
Cef-200-nacl-k-6	199, 192, 176	77.86	-0.3	8.93	5.99	0.25	2.8	6.62
Cef-200-nacl-k-8	194, 186, 163	75.6	-1.06	12.67	3.73	-0.51	6.54	7.55
Cef-200-nacl-k-24	196, 183, 141	74.52	-1.93	23.07	2.65	-1.38	16.94	17.20
Cef-100-nacl-k-0	181, 180, 175	73.26	-0.56	2.66				
Cef-100-nacl-k-1	201, 201, 193	80.76	-1.43	3.98	7.5	-0.87	1.32	7.66
Cef-100-nacl-k-2	193, 187, 183	76.25	1.39	2.76	2.99	1.95	0.1	3.57
Cef-100-nacl-k-4	197, 194, 185	78.44	-0.56	4.88	5.18	0	2.22	5.64
Cef-100-nacl-k-6	205, 201, 190	81	-0.54	5.97	7.74	0.02	3.31	8.42
Cef-100-nacl-k-8	194, 189, 177	76.7	-0.36	6.68	3.44	0.2	4.02	5.29
Cef-100-nacl-k-24	200, 192, 169	77.78	-1.06	12.6	4.52	-0.5	9.94	10.93
Cef-50-nacl-k-0	178, 179, 174	72.73	-1.27	2.42				
Cef-50-nacl-k-1	200, 201, 195	80.73	-1.43	2.86	8	-0.16	0.44	8.01
Cef-50-nacl-k-2	187, 183, 180	74.65	0.87	2.01	1.92	2.14	-0.41	2.90
Cef-50-nacl-k-4	192, 191, 186	77.29	-0.56	2.63	4.56	0.71	0.21	4.62
Cef-50-nacl-k-6	200, 197, 192	79.62	0.15	2.86	6.89	1.42	0.44	7.05
Cef-50-nacl-k-8	193, 190, 183	77.03	-0.21	3.89	4.3	1.06	1.47	4.67
Cef-50-nacl-k-24	186, 182, 171	74.08	-0.55	6.09	1.35	0.72	3.67	3.98

Im-10-nacl-k-0	196, 192, 191	77.99	1.22	0.99				
Im-10-nacl-k-1	182, 178, 177	72.87	1.23	1	-5.12	0.01	0.01	5.12
Im-10-nacl-k-2	199, 195, 194	79.08	1.21	0.98	1.09	-0.01	-0.01	1.09
Im-10-nacl-k-4	183, 178, 177	72.95	1.59	1.13	-5.04	0.37	0.14	5.06
Im-10-nacl-k-6	197, 194, 189	78.54	0.15	2.87	0.55	-1.07	1.88	2.23
Im-10-nacl-k-8	208, 205, 200	82.51	0.15	2.84	4.52	-1.07	1.85	5.00
Im-10-nacl-k-24	188, 181, 153	73.57	-2.21	15.17	-4.42	-3.43	14.18	15.24
Im-5-nacl-k-0	200, 196, 195	79.44	1.21	0.98				
Im-5-nacl-k-1	196, 192, 191	77.99	1.22	0.99	-1.45	0.01	0.01	1.45
Im-5-nacl-k-2	200, 199, 197	80.27	-0.01	1.11	0.83	-1.22	0.13	1.48
Im-5-nacl-k-4	189, 185, 184	75.44	1.22	1	-4	0.01	0.02	4.00
Im-5-nacl-k-6	199, 197, 194	79.6	0.15	1.74	0.16	-1.06	0.76	1.31
Im-5-nacl-k-8	210, 189, 205	78.76	10.23	-5.32	-0.68	9.02	-6.3	11.02
Im-5-nacl-k-24	199, 198, 189	79.73	-1.26	4.62	0.29	-2.47	3.64	4.41
Im-2.5-nacl-k-0	191, 190, 188	77	-0.01	1.12				
Im-2.5-nacl-k-1	192, 191, 190	77.39	0.17	0.62	0.39	0.18	-0.5	0.66
Im-2.5-nacl-k-2	198, 197, 195	79.54	-0.01	1.11	2.54	0	-0.01	2.54
Im-2.5-nacl-k-4	184, 183, 182	74.47	0.17	0.62	-2.53	0.18	-0.5	2.59
Im-2.5-nacl-k-6	197, 196, 193	79.16	-0.2	1.62	2.16	-0.19	0.5	2.23
Im-2.5-nacl-k-8	204, 203, 201	81.71	-0.01	1.11	4.71	0	-0.01	4.71
Im-2.5-nacl-k-24	195, 196, 191	78.95	-1.25	2.38	1.95	-1.24	1.26	2.63
Im-10-nacl-š-0	196, 195, 191	78.77	-0.38	2.12				
Im-10-nacl-š-2	187, 186, 182	75.49	-0.38	2.14	-3.28	0	0.02	3.28
Im-10-nacl-š-8	209, 208, 206	83.51	-0.01	1.1	4.74	0.37	-1.02	4.86
Im-5-nacl-š-0	194, 195, 192	78.64	-0.89	1.37				

Im-5-nacl-š-2	196, 195, 191	78.77	-0.38	2.12	0.13	0.51	0.75	0.92
Im-5-nacl-š-8	207, 206, 204	82.79	-0.01	1.1	4.15	0.88	-0.27	4.25
Im-2.5-nacl-š-0	192, 192, 190	77.65	-0.36	1				
Im-2.5-nacl-š-2	192, 193, 188	77.86	-1.26	2.38	0.21	-0.9	1.38	1.66
Im-2.5-nacl-š-8	203, 202, 200	81.35	-0.01	1.11	3.7	0.35	0.11	3.72
Am-250-gliu-k-0	193, 166, 83	68.92	-0.33	45.96				
Am-250-gliu-k-1	194, 141, 63	62.4	12.3	48.25	-6.52	12.63	2.29	14.40
Am-250-gliu-k-2	147, 50, 28	35.14	39.69	34.99	-33.78	40.02	-10.97	53.51
Am-250-gliu-k-4	78, 23, 30	17.11	26.46	9.33	-51.81	26.79	-36.63	68.87
Am-125-gliu-k-0	193, 179, 136	73.13	-1.65	23.81				
Am-125-gliu-k-1	201, 183, 132	74.79	-1.12	28.3	1.66	0.53	4.49	4.82
Am-125-gliu-k-2	191, 143, 79	62.75	10.99	40.66	-10.38	12.64	16.85	23.48
Am-125-gliu-k-4	158, 72, 36	41.27	33.41	37.6	-31.86	35.06	13.79	49.34
Am-50-gliu-k-0	185, 180, 168	73.41	-0.35	6.74				
Am-50-gliu-k-1	197, 190, 171	77.06	-0.79	10.47	3.65	-0.44	10.82	11.43
Am-50-gliu-k-2	198, 184, 151	75.15	-0.29	18.58	1.74	0.06	18.93	19.01
Am-50-gliu-k-4	200, 172, 117	71.6	2.59	32.03	-1.81	2.94	32.38	32.56
Cef-200-gliu-k-0	183, 178, 170	72.77	0.34	4.7				
Cef-200-gliu-k-1	197, 193, 181	78.08	-0.72	6.52	5.31	-1.06	1.82	5.71
Cef-200-gliu-k-2	185, 179, 163	73.02	-0.66	8.92	0.25	-1	4.22	4.34
Cef-200-gliu-k-4	184, 178, 155	72.49	-1.8	12.52	-0.28	-2.14	7.82	8.11
Cef-100-gliu-k-0	192, 189, 184	76.72	0.15	2.88				
Cef-100-gliu-k-1	201, 198, 191	79.94	-0.21	3.86	3.22	-0.36	0.98	3.39
Cef-100-gliu-k-2	190, 186, 176	75.58	-0.37	5.55	-1.14	-0.52	2.67	2.95
Cef-100-gliu-k-4	190, 187, 173	75.76	-1.42	7.45	-0.96	-1.57	4.57	4.93

Cef-50-gliu-k-0	192, 188, 186	76.51	1.04	1.5				
Cef-50-gliu-k-1	199, 196, 193	79.31	0.5	1.86	2.8	-0.54	0.36	2.87
Cef-50-gliu-k-2	189, 186, 181	75.62	0.15	2.89	-0.89	-0.89	1.39	1.88
Cef-50-gliu-k-4	189, 189, 181	76.41	-1.45	4.03	-0.1	-2.49	2.53	3.55
Im-10-gliu-k-0	196, 192, 191	77.99	1.22	0.99				
Im-10-gliu-k-1	190, 186, 184	75.78	1.04	1.5	-2.21	-0.18	0.51	2.28
Im-10-gliu-k-2	189, 184, 172	74.87	-0.35	6.71	-3.12	-1.57	5.72	6.70
Im-10-gliu-k-4	194, 190, 178	76.99	-0.72	6.54	-1	-1.94	5.55	5.96
Im-5-gliu-k-0	200, 196, 195	79.44	1.21	0.98				
Im-5-gliu-k-1	200, 196, 195	79.44	1.21	0.98	0	0	0	0.00
Im-5-gliu-k-2	187, 182, 176	74.29	0.69	3.67	-5.15	-0.52	2.69	5.83
Im-5-gliu-k-4	190, 187, 182	75.99	0.15	2.89	-3.45	-1.06	1.91	4.08
Im-2.5-gliu-k-0	191, 190, 188	77	-0.01	1.12				
Im-2.5-gliu-k-1	197, 196, 194	79.18	-0.01	1.11	2.18	0	-0.01	2.18
Im-2.5-gliu-k-2	188, 185, 182	75.31	0.51	1.88	-1.69	0.52	0.76	1.92
Im-2.5-gliu-k-4	188, 187, 183	75.85	-0.38	2.14	-1.15	-0.37	1.02	1.58

2 priedas. Mėginių ženklimas ir UV-VIS spektrofotometrijos rezultatai

Mėginio nr.	Antibiotikas	Koncentracija, mg/ml	Tirpiklis	Laikymo temp.	Matavimai (paryškintas laikas, kuriame jau nusikerta spektras)
1	Amoksicilinas	250	0,9% NaCl	Kambario	0, 10 min, 20 min, 30 min , 40 min, 1 h
2	Amoksicilinas	125	0,9% NaCl	Kambario	0, 10 min, 20 min, 30 min , 40 min, 1 h
3	Amoksicilinas	50	0,9% NaCl	Kambario	0, 10 min, 20 min, 30 min , 40 min, 1 h
4	Ceftriaksonas	200	0,9% NaCl	Kambario	0, 0,5 , 1 h
5	Ceftriaksonas	100	0,9% NaCl	Kambario	0, 0,5 , 1 h
6	Ceftriaksonas	50	0,9% NaCl	Kambario	0, 0,5 , 1 h
7	Imipenemas	10	0,9% NaCl	Kambario	0, 0,5 , 1 h
8	Imipenemas	5	0,9% NaCl	Kambario	0, 0,5 , 1 h
9	Imipenemas	2,5	0,9% NaCl	Kambario	0, 0,5 , 1 h
10	Amoksicilinas	250	5% gliuk.	Kambario	0, 0,5, 1 , 2 h
11	Amoksicilinas	125	5% gliuk.	Kambario	0, 0,5, 1 , 2 h
12	Amoksicilinas	50	5% gliuk.	Kambario	0, 0,5, 1 , 2 h
13	Ceftriaksonas	200	5% gliuk.	Kambario	0, 0,5 , 1, 2 h
14	Ceftriaksonas	100	5% gliuk.	Kambario	0, 0,5 , 1, 2 h
15	Ceftriaksonas	50	5% gliuk.	Kambario	0, 0,5 , 1, 2 h
16	Imipenemas	10	5% gliuk.	Kambario	0, 0,5 , 1, 2 h
17	Imipenemas	5	5% gliuk.	Kambario	0, 0,5 , 1, 2 h
18	Imipenemas	2,5	5% gliuk.	Kambario	0, 0,5 , 1, 2 h
C1	Amoksicilinas	250	0,9% NaCl	Šaldytuvo	0, 0,5, 1 , 1,5, 2 h
C2	Amoksicilinas	125	0,9% NaCl	Šaldytuvo	0, 0,5, 1 , 1,5, 2 h
C3	Amoksicilinas	50	0,9% NaCl	Šaldytuvo	0, 0,5, 1 , 1,5, 2 h
C4	Ceftriaksonas	200	0,9% NaCl	Šaldytuvo	0, 0,5, 1 , 1,5, 2 h
C5	Ceftriaksonas	100	0,9% NaCl	Šaldytuvo	0, 0,5, 1 , 1,5, 2 h
C6	Ceftriaksonas	50	0,9% NaCl	Šaldytuvo	0, 0,5, 1 , 1,5, 2 h
C7	Imipenemas	10	0,9% NaCl	Šaldytuvo	0, 2 h
C8	Imipenemas	5	0,9% NaCl	Šaldytuvo	0, 2 h
C9	Imipenemas	2,5	0,9% NaCl	Šaldytuvo	0, 2 h
F1	Amoksicilinas	250	5% gliuk.	Šaldytuvo	0, 0,5, 1 , 1,5, 2 h
F2	Amoksicilinas	125	5% gliuk.	Šaldytuvo	0, 0,5, 1 , 1,5, 2 h
F3	Amoksicilinas	50	5% gliuk.	Šaldytuvo	0, 0,5, 1 , 1,5, 2 h
F4	Ceftriaksonas	200	5% gliuk.	Šaldytuvo	0, 0,5, 1 , 1,5, 2 h
F5	Ceftriaksonas	100	5% gliuk.	Šaldytuvo	0, 0,5, 1 , 1,5, 2 h
F6	Ceftriaksonas	50	5% gliuk.	Šaldytuvo	0, 0,5, 1 , 1,5, 2 h
F7	Imipenemas	10	5% gliuk.	Šaldytuvo	0, 2 h
F8	Imipenemas	5	5% gliuk.	Šaldytuvo	0, 2 h
F9	Imipenemas	2,5	5% gliuk.	Šaldytuvo	0, 2 h