

UNIVERZITA KARLOVA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA ORGANICKEJ A BIOORGANICKEJ CHÉMIE



BAKALÁRSKA PRÁCA

Zlúčeniny prírodného pôvodu aktívne voči mykobaktériám (rešerš)

Martina Kunáková

Vedúci bakalárskej práce: doc. PharmDr. Mgr. Martin Krátký, Ph.D.

HRADEC KRÁLOVÉ, 2023

Podakovanie

Rada by som sa touto cestou poďakovala svojmu školiteľovi doc. PharmDr. Mgr. Martinovi Krátkému, Ph.D., za neoceniteľné rady a pomoc počas písania bakalárskej práce.

Prehlasujem, že táto práca je mojim pôvodným autorským dielom. Všetká literatúra a ďalšie zdroje, z ktorých som pri spracovávaní čerpala, sú uvedené v zozname použitej literatúry a v práci sú riadne citované. Práca nebola použitá k získaniu iného alebo rovnakého titulu.

V Hradci Králové 01. 05. 2023

OBSAH

1. ÚVOD	7
2. TEORETICKÁ ČASŤ	8
2.1 MYKOBAKTÉRIE	8
2.1.1 <i>Charakteristika</i>	8
2.1.2 <i>Morfológia</i>	8
2.2 PÔVODCOVIA MYKOBAKTERIÁLNYCH OCHORENÍ	9
2.2.1 <i>Netuberkulózne druhy mikroorganizmov</i>	9
2.2.2 <i>Pôvodcovia tuberkulózy</i>	11
2.3 TUBERKULÓZA	11
2.3.1 <i>Klinický obraz</i>	11
2.3.2 <i>Diagnostika</i>	12
2.3.3 <i>Lokalizácia ochorenia</i>	15
2.3.4 <i>Liečba</i>	15
2.4 ANTITUBERKULOTIKÁ	17
2.4.1 <i>Antituberkulotiká prvej línie</i>	17
2.4.2 <i>Antituberkulotiká druhej línie</i>	19
3. CIEĽ PRÁCE	22
4. PRÍRODNÉ ZLÚČENINY AKTÍVNE VOČI MYKOBAKTÉRIÁM	23
4.1 ZLÚČENINY ZÍSKANÉ ZO SINIC	24
4.1.1 <i>Peptidy</i>	24
4.1.2 <i>Alkaloidy</i>	24
4.1.3 <i>Terpenoidy</i>	25
4.2 ESENCIÁLNE OLEJE A ICH ZLOŽKY	25
4.2.1 <i>Terpény</i>	25
4.2.1.1 <i>Vplyv terpénov na antimykobakteriálnu aktivitu antituberkulotík 1. línie</i>	26
4.2.1.2 <i>p-Cymén, thymol a karvakrol</i>	29
4.2.2 <i>Aldehydy</i>	31
4.2.2.1 <i>Cinnamaldehyd</i>	31
4.3 NAFTOCHINÓNY	32
4.4 INDOLOVÉ ALKALOIDY	34
4.5 TRITERPÉNY A ALKALOIDY Z PSYCHOTRIA NUDA	36
4.6 STEROIDNÉ HORMONY	37
5. ZÁVER	41
6. ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK	42
7. ZOZNAM OBÁZKOV A TABULIEK	43
8. POUŽITÁ LITERATÚRA	44

ABSTRAKT

Hlavnou témou bakalárskej práce sú zlúčeniny vyizolované z prírodných zdrojov, ktoré výrazným spôsobom prispievajú k nalezaniu nových liečebných metód v mnohých medicínskych problémoch. Cieľom práce, bolo zamerať sa konkrétne na také zlúčeniny, ktoré preukázali značnú antimykobakteriálnu aktivitu voči patogénom z rodu *Mycobacterium*, a to hlavne voči *M. tuberculosis*.

V teoretickej časti sa upriamuje pozornosť na samotný rod *Mycobacterium* a jeho základnú charakteristiku. Okrem toho, sa práca zamerala aj na konkrétne druhy spôsobujúce netuberkulózne formy ochorenia a aj na tie, ktoré stoja za prepuknutím tuberkulózy v ľudskom organizme. Poslednou kapitolou teoretickej časti je samotná tuberkulóza a jej stručný popis spolu s liečbou a problematikou, ktorá sa počas liečby preukazuje vo forme rezistencie. V nasledujúcej časti sú už popísané konkrétne zlúčeniny, ktoré majú antimykobakteriálny účinok a majú potenciál k výrobe nových liečív.

Kľúčové slová: aldehydy, alkaloidy, antituberkulotiká, esenciálne oleje, *Mycobacterium tuberculosis*, mykobaktérie, naftochinóny, rezistencia, sinice, steroidné hormony, terpény, triterpény, tuberkulóza, zlúčeniny prírodného pôvodu

ABSTRACT

The main topic of the bachelor thesis is compounds isolated from natural sources, which contribute significantly to the discovery of new therapeutic methods in many medical problems. The aim of the work, was to focus specifically on those compounds that showed significant antimycobacterial activity against pathogens of the genus *Mycobacterium*, especially against *M. tuberculosis*.

The theoretical part focuses on the genus *Mycobacterium* itself and its basic characteristics. In addition, the work also focused on the specific species causing the non-tuberculous forms of the disease and those behind the outbreak of tuberculosis in the human body. The last chapter of the theoretical part deals with tuberculosis and its brief description, together with the treatment and the issues related to development of drug resistance during treatment. In the following section, specific compounds that exhibit antimycobacterial activity and have the potential to be developed as new drugs are described.

Keywords: aldehydes, alkaloids, antituberculotics, compounds of natural origin, cyanobacteria, essential oils, *Mycobacterium tuberculosis*, mycobacteria, naphthoquinones, resistance, steroid hormones, terpenes, triterpenes, tuberculosis

1. ÚVOD

V súčasnej dobe sa na vrchných priečkach rebríčka v počte úmrtí spôsobených jedným infekčným patogénom drží ochorenie nazývané tuberkulóza (TB). Z tohto dôvodu si spomínané ochorenie celosvetovo získava každoročne najviac pozornosti. Vďaka tejto skutočnosti máme v súčasnosti radu antituberkulotík zameraných na patogény z komplexu *Mycobacterium tuberculosis*, ktoré sa považujú za pôvodcov ochorenia. Za cieľ samotnej liečby sa považuje nielen vyliečenie postihnutého pacienta a zachovanie kvality života, ale aj zabránenie nechceným úmrtiam a minimalizácia medziľudského prenosu či rovnako zabránenie vzniku liekovej rezistencie.

Aj napriek mnohým snahám, sa nepodarilo úplne zabrániť vzniku rezistencií. Z tohto dôvodu bola tuberkulóza podľa Svetovej zdravotníckej organizácie (WHO) rozdelená do kategórií podľa typu rezistencie patogénov. Počas liečby sa začali používať kombinované formy terapie, ktorých predpokladom bolo, že bunky rezistentné na jedno konkrétne antituberkulotikum nebudú vykazovať rezistenciu na tie ostatné použité v kombinácií. Tieto kombinácie zároveň bránia rozvoju rezistencie.

Spolu s nárastom vyskytujúcej sa tuberkulózy sú spojené aj pribúdajúce hlásenia nových prípadov rezistentných foriem. Vývoj nových liečiv je preto pre budúcu kontrolu ochorenia veľmi dôležitý až nevyhnutný. Ľudia z mnohých oblastí prispievajú svojimi výsledkami zo štúdií k mnohým významným zisteniam a faktom, ktoré vedú k sľubnej budúcnosti liečby práve spomínaného závažného infekčného ochorenia. Základným kameňom týchto štúdií sú látky získané z prírodných zdrojov, ktoré nás už od nepamäti presviedčajú o svojom význame v mnohých medicínskych odvetviach.

2. TEORETICKÁ ČASŤ

2.1 *Mykobaktérie*

2.1.1 Charakteristika

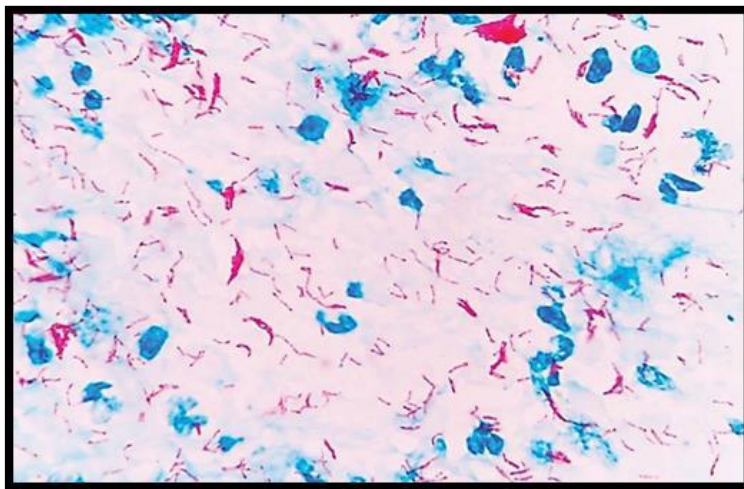
Rod *Mycobacterium* v súčasnosti zahŕňa viac ako 190 druhov mikroorganizmov. Kým väčšina druhov patrí medzi environmentálne a neškodné mikroorganizmy, ktoré sa nikdy nepodieľali na ľudských infekciách, na druhej strane poznáme aj také, ktoré patria medzi najstaršie ľudské patogény. *Mycobacterium tuberculosis* a rovnako všetci členovia *Mycobacterium tuberculosis* komplexu patria medzi najdôležitejšie príčiny infekčných ochorení. Avšak je nutné spomenúť aj také ľudské patogény, ktoré sú rovnako súčasťou rôznych ekosystémov, no v konečnom dôsledku nemajú taký veľký dopad na verejné zdravie. Spomínané organizmy poznáme pod názvom netuberkulózne mykobaktérie [1].

2.1.2 Morfológia

Mykobaktérie označujeme ako skupinu nepohyblivých, nesporolujúcich tyčínok, ktoré však nie je možné farbiť podľa Grama. Táto skutočnosť je daná faktom, že mykobakteriálne druhy obsahujú vo svojej bunkovej stene vysoký obsah lipidov, polypeptidov a mykolových kyselín, viazaných na vonkajšiu vrstvu peptidoglykanu [2]. Vo svojej podstate teda bunková stena popisuje bunkovú stenu grampozitívnych organizmov. Mimo Gramového farbenia sa teda pri identifikácii mykobakteriálnych druhov používa farbenie fuchsinom. Po zafarbení spomínaným farbivom ich nie je možné odfarbiť ani alkoholom s kyselinou chlorovodíkovou. Všetky mykobaktérie sa vďaka tomuto faktu vyznačujú spoločnou vlastnosťou a tou je acidorezistencia. Pre identifikáciu sa používa špeciálna Ziehl-Neelsenova farbiaca technika (Obrázok 1), ktorej princípom je schopnosť acidorezistentných baktérií prijímať karbolfuchsin, ktorý sa udrží v stene aj po následnom odfarbení kyslým alkoholom [3].

Z hľadiska vzťahu ku kyslíku, môžeme mykobaktérie charakterizovať ako aeróbne. Mnohé z nich sú známe svojou veľmi dlhou generačnou dobou – niekoľko

hodín až jeden deň. Narastené kolónie môžeme rozoznať podľa žltej pigmentácie a niektoré druhy sa vyznačujú drsným povrchom [4].



Obrázok 1. Diferenciácia acidorezistentnej *M. tuberculosis* pomocou Ziehl-Neelsenovho farbenia.

2.2 Pôvodcovia mykobakteriálnych ochorení

Spomedzi infekčných ochorení spôsobených mykobaktériami si celosvetovo najviac pozornosti získalo infekčné ochorenie nazývané tuberkulóza. Spomínané nákazlivé ochorenie je spôsobené skupinou obligátnych patogénov označovaných ako *Mycobacterium tuberculosis* komplex [5].

Tvrdenie, že je tuberkulóza najčastejšie a najzávažnejšie ochorenie, dokazuje aj to, že všetky ostatné mykobakteriálne druhy, ktoré spôsobujú ochorenia sa označujú ako netuberkulózne. Medzi spomínané mykobakteriálne druhy nepatria tie, ktoré sú zastúpené v *Mycobacterium tuberculosis* komplexe, ale rovnako sa v tejto skupine nenachádzajú ani pôvodcovia lepry (*Mycobacterium leprae* a *Mycobacterium lepromatosis*). Aj napriek tomu, že sa tieto mikroorganizmy v prostredí nachádzajú za bežných podmienok, ku ochoreniam dochádza len výnimočne [5].

2.2.1 Netuberkulózne druhy mikroorganizmov

Mykobakteriálne druhy iné ako *M. tuberculosis* komplex a *M. leprae* sú vo všeobecnosti voľne žijúce organizmy prítomné v rôznych ekosystémoch. Tieto druhy

boli získané z vody, pôdy, domácich, ale rovnako aj voľne žijúcich zvierat. V čase, kedy výskyt tuberkulózy vo vyspelých krajinách klesal, frekvencia izolovaných netuberkulózných mykobaktérií začala narastať. Od tohto momentu sa upriamila zvýšená pozornosť na spomínané druhy [3].

Najbežnejšími netuberkulóznymi druhmi, ktoré spôsobujú ochorenie ľudí sú pomaly rastúce druhy komplexu *M. avium* a *M. kansasii* a rovnako aj rýchlo rastúce druhy zo skupiny *M. abscessus* (*M. abscessus*, *M. massiliense* a *M. bolletii*). Menej častými ľudskými patogénmi sú napríklad *M. marinum*, *M. xenopi*, *M. simiae*, *M. malmoense* alebo *M. fortuitum* či *M. chelonae* [3].

M. avium je oportúnny patogén pochádzajúci z čeľade *Mycobacteriaceae*. Zaujímavosťou spomínanej čeľade je, že okrem obligátnych patogénov (pôvodcov tuberkulózy a lepry) zahŕňa aj druhy, ktoré boli doposiaľ obsiahnuté len vo voľnej prírode, prípadne pôvodcov zápalových ochorení u zvierat. Okrem spomínaných, sa v čeľadi nachádza aj skupina mykobaktérií, ktoré sa v niektorých prípadoch uplatnia aj ako ľudský patogén. Tento výnimočný stav nastáva vtedy, ak je pacientov imunitný systém výrazne oslabený. Faktom je, že čím výraznejší je defekt imunity, tým má patogén väčšiu šancu sa uplatniť. V situáciách, kedy bol pacient výrazne imunosuprimovaný, boli ojedinele zaznamenané aj také prípady, kedy ochorenie spôsobili práve také mykobakteriálne druhy, ktoré boli skôr považované za neškodné [5].

Ako bolo spomínané vyššie, netuberkulózne mykobakteriálne druhy sú bežnou súčasťou ekosystémov. No aj napriek tomu, dochádza ku infikovaniu len vo vzácných prípadoch. Pokiaľ však tento prípad nastane, vtedy hovoríme o netuberkulózne mykobakteriíze. Charakteristickým znakom spomínaného chronicky prebiehajúceho zápalového ochorenia je to, že postihuje najčastejšie orgány ako pľúca, kožu a lymfatické uzliny. Menej často postihuje urogenitálny systém, kosti, tráviaci trakt alebo mozog. Klinické príznaky netuberkulózne mykobakteriízy a rovnako aj rádiologické, či histologické nálezy sú miestami až nerozoznateľné od tuberkulózy [5].

2.2.2 Pôvodcovia tuberkulózy

Ako bolo spomínané vyššie, infekčné ochorenie nazývané tuberkulóza, spôsobujú patogény z komplexu *M. tuberculosis*. Toto spoločenstvo zahrňuje niekoľko príbuzných druhov baktérií – *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canettii* a taktiež aj *M. pinnipedii* [6].

Najviac ochorení je spôsobených práve *M. tuberculosis* a všetky ostatné zmienené bakteriálne druhy sú označované za raritné [6]. Jedná sa teda o najdôležitejšieho ľudského intracelulárneho parazita, ktorým je nakazená významná časť celej ľudskej populácie [4].

2.3 Tuberkulóza

Tuberkulóza je prenosné ochorenie, ktoré považujeme za jednu z hlavných príčin úmrtí na celom svete. Až to príchodu celosvetovej pandémie koronavírusu (Covid-19), bola tuberkulóza na vrchole rebríčka v počte úmrtí spôsobených jedným infekčným patogénom [7].

Choroba sa šíri od nakazených jedincov vzdušnou cestou, a to napríklad kašľom alebo kýchaním. Väčšina ľudí, u ktorých sa choroba plne vyvinie sú dospelí ľudia, a viac prípadov je zaznamenaných v prípade mužských jedincov [7].

2.3.1 Klinický obraz

Infekcia sa do organizmu dostane najčastejšie cez pľúca, ktoré zároveň predstavujú najčastejšie postihnutý orgán. Pri postihnutých, infikovaných pacientoch sa ešte nemusia hneď preukázať príznaky ochorenia. Je totižto štatisticky dokázané, že len menej ako 10 % týchto osôb počas svojho života ochorie. Pri ostatných 90 % sa preukazuje tzv. latentná tuberkulózná infekcia (LTB), ktorá sa označuje ako subklinická mykobakteriálna infekcia [6]. Spomínaná forma predstavuje riziko v prípade oslabenia imunitného systému infikovaných jedincov. Latentná forma je definovaná na základe bunkovej imunitnej odpovede na mykobakteriálne antigény. Na diagnostikovanie LTB sa používa tuberkulínový test a test uvoľňovania interferónu gama (IGRA) [8].

Primárna infekcia je vo veľkej väčšine prípadov nediagnostikovaná kvôli miernym symptómom, ktoré sú nešpecifické a samy vymiznú. Súčasťou primárnej tuberkulózy je vytvorenie primárneho (Ghon) komplexu typicky v stredných alebo dolných častiach pľúc. Spomínaný komplex zvyčajne vymizne v priebehu niekoľkých týždňov alebo mesiacov. Na röntgenovom snímku hrudníka však zanecháva známky fibrózy a kalcifikácie [8].

Symptómy pľúcnej tuberkulózy sa zvyčajne vyznačujú postupným nástupom a ich trvanie sa pohybuje od týždňov až po mesiace. Typické príznaky ako zvýšená teplota, nočné potenie či výrazná strata hmotnosti až kachexia, však môžu v prípade malých detí a jedincov s oslabenou imunitou prísť o čosi skôr. Fyzikálny nález na pľúcach je v mnohých prípadoch normálny. V prípade keď sa postihnutie týka kĺbov a kostí, sa v mieste postihnutia objavuje tumor albus a pri cervikálnej tuberkulózne lymfadenitíde pozorujeme výčnelok na krku. Minimom symptómov sa vyznačuje postihnutie obličiek a močových ciest. Obvykle sú zachytené ako sterilná pyúria [6].

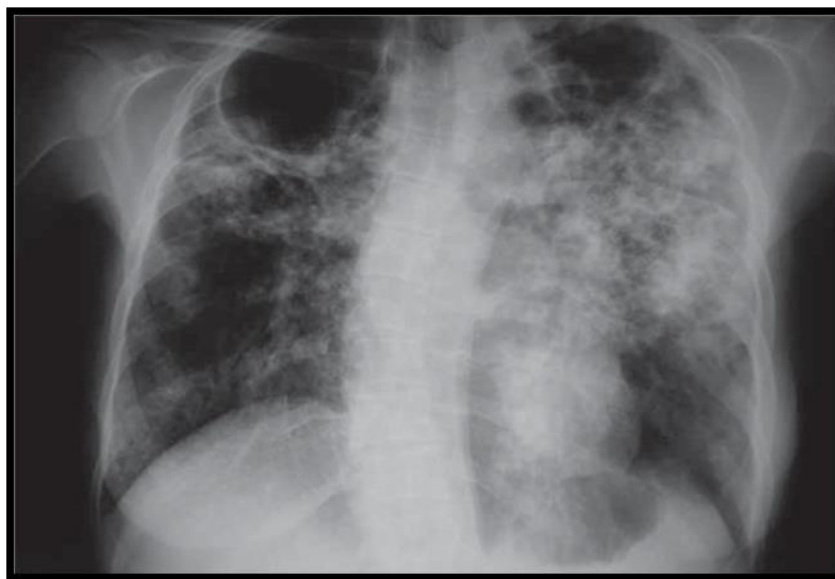
2.3.2 Diagnostika

Pre diagnostikovanie tuberkulózy sú kľúčovými ukazovateľmi symptómy, nálezy na skiagramoch hrudníka, na skenoch výpočtovej tomografie a rovnako aj nárast kolónií na kultivačných pôdach [9].

Inštrumentálne zobrazovacie metódy

Rádiologické vyšetrenie patrí spomedzi inštrumentálnych metód medzi tie najprínosnejšie. Nález pri zmienenom vyšetrení je v prípade pľúcnej tuberkulózy charakteristický, nie však špecifický. Dôležité je spomenúť, že aj mnohé iné patológie pľúc môžu imitovať tuberkulóznú infekciu. Za veľmi dôležité vyšetrenie považujeme spomínaný skiagram hrudníka v zadoprednej a bočnej projekcii (Obrázok 2) [6]. V tomto prípade sa jedná o základné vyšetrenie v rámci pľúcnej ale aj mimopľúcnej formy tuberkulózy. Typické nálezy charakterizujeme ako tiene s prejasnením a tzv. diseminácie nodulárnych tieňov. V niektorých prípadoch sa môže objaviť aj rozsiahlejšie plošné zatienenie. Pre diagnostikovanie mimopľúcnej tuberkulózne

infekcie sa používajú také zobrazovacie metódy, ktoré sú typické pre konkrétny klinický nález [6].



Obrázok 2. Zadpredný skiagram hrudníka u pacienta s rozsiahlou TB pľúc.

Mikrobiologické vyšetrenia

Diagnosticky veľmi prínosným je mikrobiologické vyšetrenie sputa, odobratého z tkaniva alebo akéhokoľvek iného biologického materiálu podozrivého z TB infekcie [10]. Dôkaz TB sa opiera o pozitívne výsledky na kultivačných pôdach z rôznych biologických materiálov – z vyššie spomínaného sputa, z aspirátu alebo z výplachu pri bronchoskopickom vyšetrení, z výpotku, mozgomiešneho moku či z inej telesnej tekutiny. Infikovaných jedincov, ktorí vykašliavajú veľké množstvo mykobaktérií, označujeme za mikroskopicky pozitívnych. Toto označenie znamená, že sme mykobaktérie schopní mikroskopicky identifikovať ako tzv. acidorezistenté tyče po nátere biologického materiálu na sklíčko. Mikrobiálna kultivácia na určenie *M. tuberculosis* je však dlho trvajúca a kultúry sa odčítavajú obvykle po 3, 6 a 9 týždňoch [6].

Neodmysliteľnou súčasťou mikrobiologického kultivačného vyšetrenia je stanovenie mykobaktérií na základné antituberkulotiká. V prípade, keď je zistená

rezistencia, sa pokračuje stanovením rozšírenej citlivosti kmeňa. V súčasnej dobe sú k detekcii mykobaktérií využívané aj modernejšie rýchle kultivačné metódy založené na detekcii CO₂, ktorý sa uvoľňuje v prítomnosti metabolicky aktívnych mykobaktérií (Bactec) alebo metódy molekularne (polymerázová reťazová reakcia, ligázová reťazová reakcia). Súčasťou týchto molekularných metód môže byť aj vyšetrenie na gény rezistencie pre rýchlu a efektívnu identifikáciu *M. tuberculosis*, ktorá sa vyznačuje značnou multirezistenciou (GeneXpert MTB/RIF) [6].

Histopatologické vyšetrenie

Podobne diagnosticky významné je aj histopatologické vyšetrenie vzorky pľúc, pohrudnice, uzlín či iného tkaniva. Tieto vzorky sa získavajú chirurgickou, bronchoskopickou alebo punkčnou biopsiou. Vyšetrenie preukazuje v typických prípadoch epiteloidný granulom, niekedy sprevádzaný nekrózou. Vzorky tkaniva je dôležité vyšetriť na prítomnosť *M. tuberculosis*, a to buď imunohistochemicky, alebo z hľadiska molekularnej genetiky [6].

Diagnóza

Na základe pozorovania pacienta a získaných poznatkov pomocou klinických vyšetrení, je možné u konkrétneho pacienta stanoviť, či sa jedná buď o podozrenie na TB, prípad TB, alebo definitívny prípad TB. Všetky spomínané kategórie odborníci hodnotia podľa nasledujúcich kritérií:

- **Podozrenie na TB** – osoba, ktorá zapadá do tejto kategórie, preukazuje značné príznaky, ktoré vzbudzujú podozrenie na TB.
- **Prípad TB** – v tejto kategórii sa jedná o definitívny prípad TB alebo o chorého pacienta, u ktorého bola TB diagnostikovaná pneumológom, a ten rozhodol o zahájení liečby pomocou príslušných antituberkulotík.
- **Definitívny prípad TB** – v tomto prípade sa jedná o chorého pacienta, u ktorého bol z biologického materiálu identifikovaný *M. tuberculosis* komplex pomocou klasickej kultivácie alebo nových moderných metód. Pozitivita

mikroskopického vyšetrenia na acidorezistentné tyčky je pokladaná za definitívny prípad TB za predpokladu, že je prevedená aj externá kontrola kvality [6].

2.3.3 Lokalizácia ochorenia

V súčasnosti rozlišujeme dva základné druhy tuberkulózy podľa miesta, kde ochorenie prepuklo – pľúcna a mimopľúcna forma. Zatiaľ čo pľúcna forma postihuje pľúcny parenchym, tá mimopľúcna postihuje radu iných orgánov (lymfatické uzliny, urogenitálny trakt, koža, kĺby, kosti či pleura). Samotná diagnóza spomínanej mimopľúcnej formy je v tomto prípade založená na histologickom vyšetrení bunkového materiálu, ktoré potvrdzuje prítomnosť mykobaktérií [6].

2.3.4 Liečba

Cieľom liečby tuberkulózy je nielen vyliečiť postihnutého pacienta a zachovať kvalitu života, ale aj zabrániť nechceným úmrtiam na aktívnu tuberkulózu, zabrániť relapsu, minimalizovať medziludský prenos či zabrániť vzniku liekovej rezistencie [6].

Liečba zahrňuje dve nasledujúce fázy: fázu iniciačnú, ktorá prebieha 2 mesiace a počas nej sa podávajú antituberkulotiká v štvorkombinácií (najčastejšie HRZE – izoniazid (H), rifampicin (R), pyrazinamid (Z), ethambutol (E), alebo HRZS – H, R, Z a streptomycin (S)), ďalej nasleduje fáza pokračovacia, ktorej trvanie je 4 mesiace a je vedená v ambulantnom režime, založená na aplikovaní dvojkombinácie antituberkulotík (HR) [2].

Samotná liečba je pomerne náročná, kombinovaná, prísne kontrolovaná a dlhodobá, čomu nasvedčuje aj fakt, že minimálna účinná doba podávania antituberkulotík je 6 mesiacov. Dĺžku trvania liečby výrazne ovplyvňujú mnohé faktory ako rozsah postihnutia, pridružené choroby pacienta a taktiež aj spomínané kombinácie použitých antituberkulotík [9].

Pre efektívny terapeutický proces sa využívajú látky zo skupiny antibiotík. Špecifičnosť liečby je daná hlavne kvôli samotnému pôvodcovi ochorenia, na ktorého je liečba smerovaná. Spomalenie rastu, resp. usmrtenie patogéna zahŕňa radu

komplikácií. Prvou z nich je uloženie *M. tuberculosis*, ktoré je prevažne intracelulárne. Z faktu vyplýva zhoršený prístup k pôsobeniu antibiotika. Ďalšou komplikáciou je dlhá generačná doba mykobaktérií (24 hodín). V tomto prípade je nutná dlhodobá liečba, ktorá so sebou prináša ďalšiu komplikáciu v podobe zvýšeného rizika vzniku rezistencie ku antituberkulotikám. Jedná sa obzvlášť o monoterapiu. Z tohto dôvodu sa pri liečbe pristupuje ku kombinovanej liečbe [2].

REZISTENCIA NA ANTITUBERKULOTIKÁ

Predpokladom počas kombinovanej formy terapie je, že bunky rezistentné na jedno konkrétne antituberkulotikum nebudú vykazovať rezistenciu na tie ostatné použité v kombinácií. Samotná rezistencia je daná mutáciami v genóme mykobaktérie [2].

WHO rozdelila tuberkulózu podľa typu rezistencie patogénov na antituberkulotiká do nasledovných skupín:

- **Monorezistentná forma** – rezistencia na práve jedno antituberkulotikum prvej línie
- **Polyrezistentná forma** – rezistencia na viac ako jedno liečivo prvej línie, odlišné od izoniazidu a rifampicínu
- **Multirezistentná forma (MDR)** – rezistencia súčasne na izoniazid a rifampicin
- **Extenzívna lieková rezistencia (XDR)** – je definovaná ako TBC spôsobená kmeňmi *Mycobacterium tuberculosis*, ktoré sú odolné voči izoniazidu, rifampicínu, akémukoľvek fluorochinolónu a buď bedachilínu, alebo linezolidu (alebo obom)
- **Rifampicin rezistentná forma** – rezistencia na rifampicín zistená pomocou fenotypových alebo genotypových metód, s alebo bez rezistencie na iné lieky proti tuberkulóze. Zahŕňa akúkoľvek rezistenciu na rifampicín vo forme monorezistencie, polyrezistencie, MDR alebo XDR [11].

Spomedzi všetkých foriem liekovej rezistencie je najdôležitejšie identifikovať práve MDR-TB, pretože v tomto prípade liečiť pacienta základnými antituberkulotikami je preukázané ako úplne zbytočné a zároveň sa zvyšuje sila rezistencie. Pokiaľ sa pacient preukáže ako MDR-TB pozitívny, je zahájená liečba liekmi prevažne druhej línie (bez rifampicinu a izoniazidu s pridaním chinolónu, makrolidu, aminoglykosidu, bedachilínu a delamanidu s následnou úpravou liečby podľa rozšírenej citlivosti), ktorá poskytuje vyššiu šancu na vyliečenie a zabraňuje ďalšiemu šíreniu rezistencie [6].

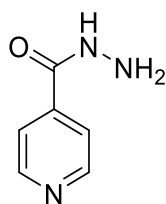
2.4 Antituberkulotiká

2.4.1 Antituberkulotiká prvej línie

V prípade, preukázania citlivej formy tuberkulózy sú nasadené lieky prvej línie, ktoré sa vyznačujú maximálnym efektom s minimálnou toxicitou. Medzi spomínané lieky patria H, R, E, Z a S [6].

IZONIAZID

Isoniazid (Obrázok 3) bol prvým syntetizovaným liekom, ktorý preukázal baktericídne účinky voči *M. tuberculosis*. Táto látka inhibuje syntézu mykolových kyselín, ktoré sú dôležitou súčasťou bunkovej steny mykobaktérií. Účinok izoniazidu sa vzťahuje teda len na spomínané mykobaktérie. Pri podávaní lieku je nutné preventívne dodávať pyridoxin, ktorého je počas liečby nedostatok [2].

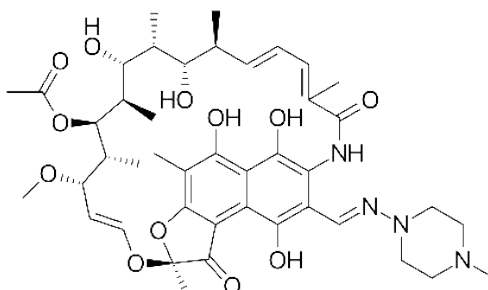


Obrázok 3. Štruktúrny vzorec izoniazidu.

RIFAMPICIN

Rifampicin (Obrázok 4) sa taktiež zaraďuje do skupiny antituberkulotík prvej línie. Jedná sa o baktericídne antibiotikum, ktorého účinok spočíva v inhibícii syntézy

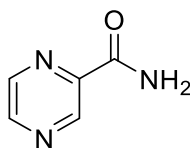
RNA, čím je blokovaný proces samotnej proteosyntézy. Rifampicin však neinhibuje len *M. tuberculosis*, ale používa sa rovnako aj pri liečbe infekcií spôsobených G+ kokmi a ďalšími patogénmi. Pri používaní rifampicinu dochádza ku špecifickému zafarbeniu telesných sekrétov, a to konkrétne do červenooranžovej farby [2].



Obrázok 4. Štruktúrny vzorec rifampicinu.

PYRAZINAMID

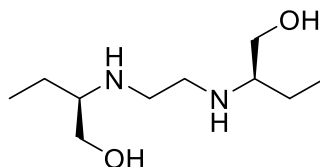
Pyrazinamid (Obrázok 5) sa označuje ako baktericídne chemoterapeutikum, ktorého pôsobenie sa obmedzuje len na intracelulárne lokalizované mykobaktérie [2].



Obrázok 5. Štruktúrny vzorec pyrazinamidu.

ETHAMBUTOL

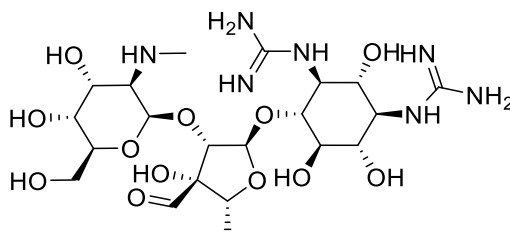
Ďalším antituberkulotikom prvej línie je bakteriostatické chemoterapeutikum. Jeho pôsobenie sa obmedzuje rovnako ako v prípade izoniazidu len na mykobaktérie. Počas podávania ethambutolu (Obrázok 6) môže dôjsť k poruchám farbcitu. Z tohto dôvodu je počas liečby nutná oftalmologická kontrola [2].



Obrázok 6. Štruktúrny vzorec ethambutolu.

STREPTOMYCIN

Základným liekom využívaným pri liečbe tuberkulózy je baktericidné aminoglykosidové antibiotikum (Obrázok 7), ktoré spôsobuje inhibíciu bakteriálnej proteosyntézy. Látka pôsobí na extracelulárne uložené mykobaktérie. Preukazuje však aj nefrotoxické a neurotoxické účinky, kvôli ktorým sa dnes už tak často nevyužíva [2].



Obrázok 7. Štruktúrny vzorec streptomycínu.

2.4.2 Antituberkulotiká druhej línie

V momente, keď sa preukáže rezistencia na základné antituberkulotiká, dochádza k podávaniu ďalších liekov, opäť vždy v kombinácií. Výber antituberkulotík druhej línie sa riadi výsledkami testov citlivosti *in vitro* so zapojením odborníka na liečbu tuberkulózy. Medzi tieto preparáty patria aminoglykosidy (kanamycin, amikacin), fluorochinolony (levofloxacin, moxifloxacin) či cykloserin, ktorý je veľmi účinný, no zároveň sa preukazuje značnými nežiadúcimi účinkami na centrálnu nervovú sústavu [2], bedachilín, delamanid či linezolid.

FLUOROCHINOLONY

Tieto látky majú široké spektrum antimikrobiálnej aktivity, a preto sa široko používajú na liečbu bakteriálnych infekcií dýchacích ciest, gastrointestinálneho traktu, močových ciest, ale aj na liečbu sexuálne prenosných ochorení či osteomyelitídy. Na rozdiel od mnohých iných antibiotík používaných na liečbu bakteriálnych infekcií majú fluorochinolony vynikajúcu *in vitro* a *in vivo* aktivitu proti *M. tuberculosis*. Nežiaduce účinky sú relatívne zriedkavé a zahŕňajú gastrointestinálnu intoleranciu, vyrážky, závrate a bolesti hlavy. Bunkovým cieľom v patogéne je DNA gyráza a topoizomeráza II [12].

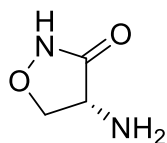
AMINOGLYKOSIDY

Aminoglykosidy amikacin, kanamycin a cyklický polypeptid kapreomycin sú dôležité injekčné lieky v liečbe multirezistentnej tuberkulózy. Hoci patria do dvoch rôznych rodín antibiotík, všetky uplatňujú svoju aktivitu na úrovni translácie proteínov. Pri týchto liekoch však dochádza k renálnej toxicite [12].

CYKLOSERIN

Presný mechanizmus účinku cykloserinu (Obrázok 8) nie je známy, ale predpokladá sa, že zabraňuje baktériám vytvárať peptidoglykany, ktoré sú potrebné na tvorbu bakteriálnej bunkovej steny. To má za následok oslabenie bunkovej steny baktérií [12].

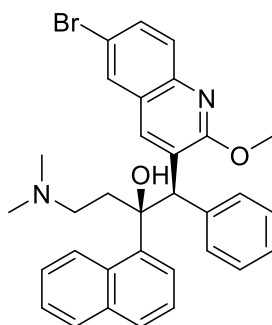
Okrem cykloserinu poznáme pri liečbe rezistentných foriem aj jeho derivát nazývaný terizidon. Obe spomínané zlúčeniny sa považujú za posledné možnosti vzhľadom k profilu toxicity. Aj napriek tejto skutočnosti sa však široko využívajú [13].



Obrázok 8. Štruktúrny vzorec cykloserinu.

BEDACHILIN

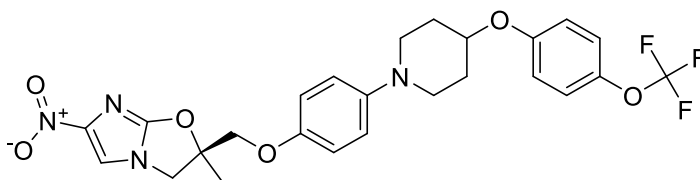
Ďalšou zlúčeninou, ktorá sa cielene využíva pri liečbe MDR-TB v kombinácií s inými antituberkulotikami, je bedachilin (Obrázok 9). Táto látka špecificky inhibuje enzým, dôležitý pre získávanie energie v *M. tuberculosis* – mykobakteriálnu ATP syntázu [14].



Obrázok 9. Štruktúrny vzorec bedachilinu.

DELAMANID

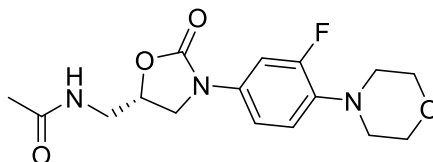
Delamanid (Obrázok 10) pôsobí ako inhibítor biosyntézy mykolových kyselín, čím narúša metabolizmus bunkovej steny a umožňuje lepší prienik liečiva do mykobaktérií [15].



Obrázok 10. Štruktúrny vzorec delamanidu.

LINEZOLID

Linezolid (Obrázok 11) je syntetické antibiotikum, ktoré zabraňuje syntéze bakteriálnych bielkovín prostredníctvom väzby na obidve podjednotky rRNA, a to 30S a 50S. Inhibuje tvorbu iniciačného komplexu, ktorý môže znížiť dĺžku vytvorených peptidových reťazcov, a rovnako aj rýchlosť translačnej reakcie [16].



Obrázok 11. Štruktúrny vzorec linezolidu.

3. CIEĽ PRÁCE

Obsahom tejto práce je priblížiť celosvetovú problematiku prenosného infekčného ochorenia tuberkulózy a s ňou prichádzajúce rezistentné kmene, ktoré výrazne komplikujú priebeh liečby. Rovnako sa práca zameriava na vyhovujúce, nové alternatívy liečby, ktoré zahŕňajú testovanie prírodných látok, ktoré preukázali značnú antimikrobiálnu aktivitu.

4. PRÍRODNÉ ZLÚČENINY AKTÍVNE VOČI MYKOBAKTÉRIÁM

Nárast vyskytujúcej sa tuberkulózy je spojený s pribúdajúcimi hláseniami nových prípadov MDR-TB a XDR-TB. Vývoj nových liečiv je pre budúcu kontrolu tuberkulózy veľmi dôležitý a v súčasnej dobe sa v rôznych štádiách objavovania liečiv pripravuje niekoľko sľubných zlúčenín. Vývoj nových látok proti tuberkulóze je teda nevyhnutný pre vývoj nových farmakologických terapií [17].

Už v časoch dávno minulých ľudia využívali prírodné produkty, ako sú rastliny, živočíchy, mikroorganizmy a rovnako aj morské organizmy v boji proti rôznym ochoreniam. Podľa nálezov bolo možné zhodnotiť, že ľudia používajú rastliny ako formu liekov už najmenej 60 000 rokov [18].

Začiatkom 19. storočia sa začala éra tzv. moderných liekov, kedy v roku 1805 nemecký lekárnik Friedrich Sertürner izoloval z rastliny *Papaver somniferum* prvú farmakologicky účinnú zlúčeninu morfín, ktorá sa dodnes aktívne využíva. Následne na to, sa z prírodných produktov vyizolovalo veľmi veľké množstvo účinných zlúčenín. Postupom času, rozvoj syntetických techník viedol k významnej redukcii významu prírodných látok a vznikli obavy, že používanie niektorých prírodných produktov na liečebné účely by mohlo byť úplne zakázané. Tieto prírodné zlúčeniny boli však natoľko dôležité pre vývoj nových liekov, že ich zakázanie by bolo neefektívne [18].

Prírodné zlúčeniny, ktoré sa vyvíjali milióny rokov, sa vyznačujú jedinečnou chemickou rozmanitosťou, ktorá vedie k rôznorodosti ich biologických aktivít a vlastností podobných liečivám. Tieto produkty sa stali jedným z najdôležitejších zdrojov na vývoj nových zlúčenín a skeletov. Ich účinnosť súvisí s komplexnosťou ich dobre organizovaných chemických a sterických vlastností, ktoré z hľadiska účinnosti a selektivity molekulárnych cieľov ponúkajú mnohé výhody. Ako úspešný príklad vývoja liečiv z prírodných produktov môžeme uviesť artemisinin a jeho analógy, ktoré sú v súčasnosti využívané v liečbe proti malárií. Ďalšími príkladmi úspešných liekov, tentokrát proti rakovine sú alkaloidy z *Catharanthus roseus* alebo terpén z *Taxus baccata*. V období od roku 1981 do 2002 zaznamenala aplikácia prírodných látok

pri vývoji nových liečiv, a to najmä pri hľadaní nových chemických štruktúr, výrazný úspech. V tomto 22-ročnom období boli lieky odvodené z prírodných produktov významné. V prípade takých antihypertenzív má približne 64 % novosyntetizovaných liečiv pôvod v štruktúrach prírodných produktov [18].

Ako plynul čas, tak aj prírodné zlúčeniny prešli zaujímavým a významným vývojom v ich schopnosti interagovať s mnohými biologickými cieľmi účinku a niektoré z nich sa stali najdôležitejšími liekmi v systéme zdravotnej starostlivosti [18].

4.1 Zlúčeniny získané zo siníc

Sinice sú významným zdrojom peptidov, *trans*-mastných kyselín, aminokyselín, vitamínov alebo aj minerálnych látok. Zlúčeniny získané zo siníc preukázali výrazný antibakteriálny, antimykotický alebo antivírusový potenciál. Je možné ich teda využívať aj v prípade rezistentných kmeňov *M. tuberculosis* [19].

4.1.1 Peptidy

Sinica *Tychonema sp.* je známa hlavne tým, že produkuje cyklické hexapeptidy brunsvicamidy A-C. Dnes je už známe, že brunsvicamid B a C dokážu selektívne inhibovať proteín tyrosínfosfatázu B s preukázanými hodnotami IC_{50} 7,3 a 8,0 μ M. Spomínaný proteín je vylučovaný patogénom *M. tuberculosis* a je považovaný za sľubný terapeutický cieľ proti patogénu. Okrem toho, je stále predmetom ďalších výskumov spojených s liečbou tuberkulózy [20].

4.1.2 Alkaloidy

Spomedzi alkaloidov, ktoré sú produkované sinicami, boli ambiguinové izonitrily A, K a M účinné voči *M. tuberculosis in vitro*. Spomínané izonitrily sú produkované konkrétne *Fischerella ambigua*. Najsilnejšiu aktivitu proti *M. tuberculosis* vykazovali izonitrily K a M s hodnotami MIC 6,6 a 7,5 μ M [19].

Ďalšou zlúčeninou, ktorá bola izolovaná z rovnakej sinice, je fischambiguin B. Tentokrát sa však jedná o indolový alkaloid. Spomínaná zlúčenina vykazovala inhibičnú aktivitu voči patogénu, a to konkrétne s hodnotou MIC 2 μM [19].

4.1.3 Terpenoidy

Izolované terpenoidy zo siníc ako abietan, komnostiny A-E, norabietan, noskomin a scytoscalarol vykazovali antibakteriálne, antifungálne a rovnako aj antimykobakteriálne účinky [19].

Terpenoidy sú významné hlavne preto, lebo znižujú bunkovú pohyblivosť baktérií a spôsobujú štruktúrne a funkčné zmeny v cytoplazmatickej membráne vďaka depolarizácií. V dôsledku toho, tieto zlúčeniny menia transport iónov tým, že narúšajú integritu vonkajšej a vnútornej bakteriálnej membrány [19].

Zo všetkých spomínaných má antimykobakteriálne účinky práve scytoscalarol, guainidinový sesterterpen izolovaný zo sinice *Scytonema sp.*, ktorý vykazoval antimikrobakteriálnu aktivitu voči viacerým patogénom vrátane *M. tuberculosis* s hodnotami MIC v rozsahu od 2 do 110 μM [21].

4.2 Esenciálne oleje a ich zložky

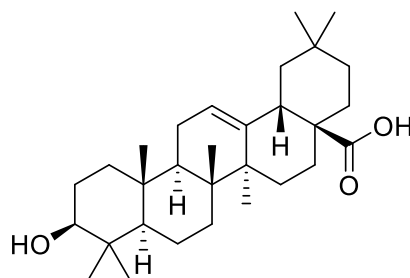
Esenciálne oleje (EO) sú komplexné zmesi prchavých zlúčenín, ktoré je možné získať z rôznych častí rastlín a to rôznymi metódami. Ich zloženie je premenlivé ale zvyčajne ide o terpény alebo fenylypropány. Vzhľadom na ich biologické vlastnosti vrátane antimykobakteriálnych účinkov sa zvyšuje záujem o terpény a ďalšie molekuly prítomné v EO. Ich biologická aktivita sa líši v závislosti od štruktúrnej konfigurácie a funkčných skupín [22].

4.2.1 Terpény

Terpény môžeme označiť za najväčšiu a najrozmanitejšiu skupinu prirodzene sa vyskytujúcich zlúčenín. Terpény sa klasifikujú na základe usporiadania a počtu izoprenových jednotiek, ktoré tieto zlúčeniny obsahujú. Spomínané izoprenové

jednotky sú prirodzene sa vyskytujúce prchavé nenasýtené cyklické zlúčeniny s piatimi uhlíkmi. Terpény majú v rastlinách napríklad signálnu funkciu a rovnako sa vyznačujú svojou rôznou liečebnou aktivitou [23].

Prírodné terpény sú dobre známe svojimi antimikrobiálnymi účinkami a ich negatívny vplyv na štruktúru a hlavne funkciu mikrobiálnych membrán a rovnako aj na bunkovú stenu sú považované za príčinu antimikrobiálneho pôsobenia. Štúdie, ktoré sa venovali liečivým účinkom terpénov, preukázali, že kombinácie esenciálnych olejov a ich zložiek majú synergickú, aditívnu alebo inhibičnú aktivitu proti rade mikroorganizmov. Popísaná bola vysoká antimykobakteriálna aktivita monoterpénov thymolu a karvakrolu proti patogénom ako *M. tuberculosis* a *M. bovis*. Taktiež boli popísané aj synergické interakcie *in vitro* medzi kyselinou oleanolovou (Obrázok 12) a izoniazidom, rifampicinom alebo ethambutolom proti *M. tuberculosis* [24].



Obrázok 12. Štruktúrny vzorec kyseliny oleanolovej.

4.2.1.1 Vplyv terpénov na antimykobakteriálnu aktivitu antituberkulotík 1. línie

Výskum, ktorý sa venoval práve vplyvu jednotlivých terpénov na antimykobakteriálnu aktivitu, sa konkrétne zameril na popis vplyvu myrcénu, sabinénu, α -pinénu, β -eleménu (Obrázok 13) a (*R*)-limonénu, či (*S*)-limonénu (Obrázok 14) na účinnosť antituberkulotík 1. línie (H, R, E) [24].

Všetky získané hodnoty MIC pre kombinácie terpénov a antituberkulotík, a rovnako aj hodnoty terpénov a liekov testovaných samostatne sú uvedené v Tabuľke 1. Cyklický monoterpén limonén vykazoval najnižšiu antimykobakteriálnu aktivitu (MIC 64 $\mu\text{g/ml}$). Naopak acyklický monoterpén myrcén a bicyklické monoterpény sabinén a

α -pinén mali v porovnaní s limonénom aktivitu o čosi vyššiu (MIC 16-32 $\mu\text{g/ml}$). Spomedzi všetkých testovaných látok vykazoval najnižšiu hodnotu MIC β -elemén, a to konkrétne 2 $\mu\text{g/ml}$. Tento fakt možno vysvetliť vyššou lipofilitou v porovnaní s ostatnými skúmanými látkami a väčšou afinitou k lipofilným štruktúram v bunkovej stene mykobaktérií a fosfolipidovej dvojvrstve [24].

ZLÚČENINA	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	ZLÚČENINA	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
Ethambutol	16	(S)-limonén	64
Rifampicin	16	(S)-limonén + ethambutol	0,475
Isoniazid	32	(S)-limonén + isoniazid	0,475
α -Pinén	16	(S)-limonén + rifampicin	0,237
α -Pinén + ethambutol	125	(R)-limonén	64
α -Pinén + isoniazid	125	(R)-limonén + ethambutol	0,95
α -Pinén + rifampicin	0,475	(R)-limonén + isoniazid	15
β -Elemén	2	(R)-limonén + rifampicin	0,475
β -Elemén + ethambutol	0,475	Sabinén	32
β -Elemén + isoniazid	0,475	Sabinén + ethambutol	3,9
β -Elemén + rifampicin	0,237	Sabinén + isoniazid	1,95
Myrcén	32	Sabinén + rifampicin	0,475
Myrcén + ethambutol	3,9		
Myrcén + isoniazid	0,95		
Myrcén + rifampicin	0,475		

Tabuľka 1. Hodnoty MIC jednotlivých terpénov, antituberkulotík a ich kombinácií testovaných voči *M. tuberculosis*.

Získané hodnoty MIC pre terpény testované samostane naznačujú, že acyklická, monocyklická alebo bicyklická štruktúra a rovnako aj počet dvojitých väzieb, nemajú žiadny významný vplyv na antimykobakteriálnu aktivitu monoterpénov [24].

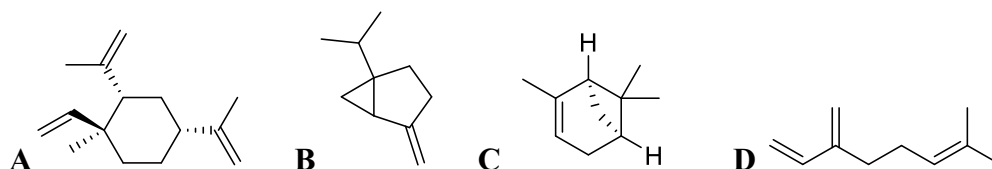
V prípade limonénu, bola preukázaná tuberkulostatická aktivita, no zároveň aj najvyššia hodnota MIC. Dôležitým faktorom je taktiež aj to, že limonén interaguje s cytoplazmatickými membránami baktérií, čo má za následok stratu integrity membrány, inhibíciu respiračných enzýmov a rozptýlenie protónových hybných síl. Navyše D-limonén spôsobuje nezvratné poškodenie cytoplazmatických membrán aj iných baktérií ako je *Mycobacterium* [24].

Ďalšou spozorovanou skutočnosťou bolo, že myrcén sa preukázal ako aktívnejší v porovnaní s limonénom. Zistené bolo taktiež aj to, že monoterpény spôsobili

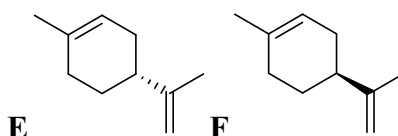
morfológické zmeny v mykobakteriálnych bunkách. Tento fakt naznačuje, že môžu ovplyvňovať biosyntézu bunkovej steny, pričom dôsledkom sú zmeny v priepustnosti buniek až smrť mikroorganizmu [24].

V prípade α -pinénu, sabinénu a myrcénu bola hodnota MIC porovnateľná s hodnotami testovaných antibiotík. Nízka citlivosť baktérií na antibiotiká je charakteristická pre izolované kmene *M. tuberculosis*, ktoré vykazujú rezistenciu na jedno a viac tuberkulostatík. Kmene *M. tuberculosis* sú navyše známe aj bohatým zastúpením mykolových kyselín v bunkovej stene, ktorá je vysoko lipofilná a zodpovedná za nízku priepustnosť pre väčšinu antibiotík, vďaka čomu majú prirodzenú rezistenciu. Práve lipofilné vlastnosti prírodných terpénov zodpovedajú za ich značnú afinitu ku fosfolipidovým dvojvrstvám. Terpény menia priepustnosť vonkajšej membrány baktérií, ale ich samotná absorpcia je taktiež podmienená priepustnosťou bunkovej steny. Táto skutočnosť napovedá tomu, že zmena permeability bunkovej steny mení samotnú absorpciu a aktivitu antibiotík. Počas výskumu boli najlepšie výsledky dosiahnuté pri kombinácii terpénov s rifampicínom. Toto antibiotikum je lipofilného charakteru a vo svojej podstate inhibuje DNA-dependentnú RNA polymerázu tým, že s enzýmom vytvorí stabilný blok a následne inhibuje predlžovanie transkripcie. Naopak menej výrazné zvýšenie aktivity sa pozorovalo v prípade izoniazidu a ethambutolu. Spomínané antibiotiká pôsobia na úrovni bunkovej steny [24].

Záverom štúdie bolo, že prírodne sa vyskytujúce terpény s vysokou lipofilitou inhibovali rast mykobaktérií vo väčšej miere. Ako dôležité zistenie sa preukázalo, že (*R*)-limonén, (*S*)-limonén, myrcén, sabinén a β -elemén zvyšovali antimykobakteriálnu aktivitu antituberkulotík v dôsledku inhibície prirodzených mechanizmov rezistencie mykobaktérií [24].



Obrázok 13. Štruktúrne vzorce β -elemenu (A), sabinenu (B), α -pinenu (C), myrcenu (D).



Obrázok 14. Štruktúrne vzorce (R)-limonénu (E) a (S)-limonénu (F).

4.2.1.2 *p*-Cymén, thymol a karvakrol

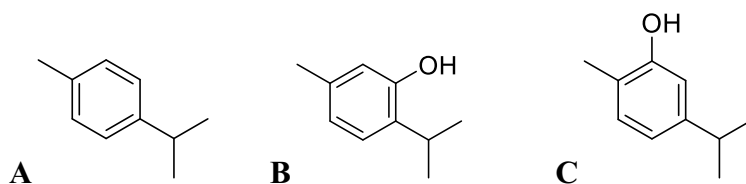
Samostatnou kapitolou je monoterpén *p*-cymén (Obrázok 15), ktorý sa systematicky nazýva [1-metyl-4-(1-metyletyl)-benzén]. Táto zlúčenina sa nachádza vo viac ako 100 rastlinách využívaných na lekárske a potravinárske účely. *p*-Cymén je zlúčenina, ktorá sa považuje za najdôležitejšiu monoterpénovú zlúčeninu vyskytujúcu sa v aromatických rastlinách, ako je *Thymus vulgaris* alebo *Origanum vulgare*. Tento monoterpén vykazuje celú radu biologických aktivít vrátane antioxidačných, protizápalových, protirakovinových či dokonca antimikrobiálnych účinkov. Práve vďaka jeho širokej škále terapeutickej využiteľnosti bol predmetom mnohých štúdií. Výskumníkov zaujala hlavne jeho antimikrobiálna aktivita z dôvodu naliehavej potreby získania nových látok vykazujúcich práve túto, spomínanú vlastnosť [25].

V rámci skúmania antimykobakteriálnych účinkov rôznych esenciálnych olejov proti *M. tuberculosis* a *M. bovis*, sa práve *p*-cymén preukázal ako terpén s najnižšou antimykobakteriálnou aktivitou v porovnaní s ďalšími dvomi skúmanými zlúčeninami (thymol a karvakrol) (Obrázok 15). Hodnoty MIC pre patogény sú zobrazené v Tabuľke 2 [25].

ZLÚČENINA	Patogén	MIC (µg/ml)
p-cymén	<i>M. bovis</i>	91,66
	<i>M. tuberculosis</i>	91,66
thymol	<i>M. bovis</i>	2,02
	<i>M. tuberculosis</i>	0,78
karvakrol	<i>M. bovis</i>	5,2
	<i>M. tuberculosis</i>	2,02

Tabuľka 2. Hodnoty MIC pre *M. tuberculosis* a *M. bovis*.

Thymol a karvakrol môžeme charakterizovať ako zložky prírodných EO. Jedná sa o zložky pochádzajúce z liečivých rastlín, rovnako ako v prípade p-cyménu, ako sú *Thymus vulgaris* a *Origanum vulgare*. Spomínané zlúčeniny sa taktiež podrobili rade štúdií, kde boli pozorované ich antimykobakteriálne účinky. Obidve zlúčeniny preukázali antimykobakteriálnu aktivitu terapeutického významu proti patogénom *M. tuberculosis* a *M. bovis*. Dôležitou súčasťou chemickej štruktúry oboch látok sú fenolové skupiny. V literatúre existuje niekoľko správ o význame tejto hydroxylovej skupiny, pričom autori ju označujú za kľúčovú, v spojitosti s antimikrobiálnou aktivitou. Význam fenolovej skupiny bol pozorovaný v rámci zlúčením thymolu a mentholu, a to z dôvodu, že rozdiel medzi spomínanými zlúčeninami je práve v prítomnosti aromatického kruhu. Menthol a thymol majú hydroxylovú skupinu v rovnakej polohe, ale menthol vykazoval nižšiu antimikrobiálnu a cytotoxickú aktivitu. Okrem toho, sa preukázal rozdiel v aktivitách medzi thymolom a karvakrolom, ktorý spočíval v polohe hydroxylovej skupiny vzhľadom na väčší alifatický reťazec. Thymol obsahujúci vo svojej štruktúre hydroxylovú skupinu v polohe *meta*, vykazoval o čosi väčšiu antimikrobiálnu a cytotoxickú aktivitu v porovnaní s karvakrolom, ktorý má spomínanú skupinu v polohe *ortho*. Tento fakt však nie je kľúčový. Iné štúdiá zaznamenali zvýšenú aktivitu karvakrolu v porovnaní s thymolom. Ukázalo sa, že eliminácia substituentov aromatického kruhu v karvakrole znižuje antimikrobiálnu aktivitu výslednej zlúčeniny. Je možné teda tvrdiť, že hydroxylová skupina na aromatickom jadre značnou mierou prispieva k účinku karvakrolu [17].



Obrázok 15. Štruktúrne vzorce p-cyménu (A), thymolu (B) a karvakrolu (C).

4.2.2 Aldehydy

Aldehydy poznáme ako organické zlúčeniny, ktoré sa skladajú z jedného atómu uhlíka, dvojitej väzby s atómom kyslíka, jednej väzby s atómom vodíka a jednej väzby s bočným reťazcom skupiny R (R-CHO). Tieto zlúčeniny je možné získať z viacerých druhov EO s vysokou koncentráciou. Jedným takýmto olejom je škoricový, ktorého hlavnou zložkou je cinnamaldehyd [26].

Počas výskumu bolo preukázané, že aldehydy prispievajú k antimikrobiálnej aktivite. Celý proces sa začína mechanickou deštrukciou vonkajšej membrány bakteriálnej bunky [26].

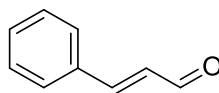
4.2.2.1 Cinnamaldehyd

Zloženie EO z kôry *Cinnamomum verum* bolo overené pomocou GC/MS analýzy. Najrozšírenejšími zlúčeninami boli cinnamaldehyd (75 %) (Obrázok 16), eugenol (7,5 %), linalool (6,0 %), β -karyofylén (4,0 %) a 1,8-cineol (6 %). V rámci pozorovania antimykobakteriálnych vlastností škoricového EO a jeho hlavných zložiek sa stanovovali hodnoty MIC (Tabuľka 3). Pre pozitívnu kontrolu sa použili lieky prvej línie. Cinnamaldehyd, ako hlavná a účinná zlúčenina z kôry *Cinnamomum verum*, má vysoký inhibičný a usmrcujúci potenciál pre *M. tuberculosis*. Tento aldehyd preukázal značnú antimykobakteriálnu aktivitu v rámci druhov *M. tuberculosis*, *M. bovis* a *M. avium subsp. paratuberculosis*, čo naznačuje jeho univerzálnejšie antimykobakteriálne vlastnosti [27].

ZLÚČENINA	MIC (µg/ml)
Rifampicin	0,002
Ciprofloxacín	0,125
Izoniazid	0,25
Streptomycín	0,5
Ethambutol	4
<i>Cinnamomum verum</i> EO	8
Cinnamaldehyd	8
Eugenol	256
Linalool	>256

Tabuľka 3. Hodnoty MIC škoricového EO a jeho hlavných zložiek.

Mechanizmus účinku spočíva v prieniku do bunkovej steny mykobaktérií a v interakcií s bunkovou membránou. Hoci cinnamaldehyd pravdepodobne mení stabilitu a priepustnosť bunkovej membrány, nezvyšuje účinok antibiotík. Vzhľadom ku preukázaným antimykobakteriálnym vlastnostiam sa táto zlúčenina môže použiť ako základ pre nové liečivá [27].



Obrázok 16. Štruktúrny vzorec aldehydu kyseliny škoricovej (cinnamaldehydu).

4.3 Naftochinóny

Naftochinóny predstavujú skupinu organických zlúčenín, ktoré sú svojou štruktúrou príbuzné naftalénu. Tieto zlúčeniny preukázali terapeutický potenciál najmä proti *M. tuberculosis* [28].

Enzým DNA gyráza je jedna z foriem topoizomeráz DNA, ktorá je prítomná v baktériách a rastlinách. Práve tento enzým bol využívaný ako cieľ antimikrobiálnej terapie. DNA topoizomerázy poznáme ako enzýmy, ktoré katalyzujú zmeny topológie DNA a sú nevyhnutné pre všetky bunky. Gyráza sa skladá z podjednotiek GyrA a GyrB, ktoré v aktívnom enzýme tvoria komplex A2B2, v ktorom je okolo proteínu ovinutý samotný úsek DNA. Podjednotka GyrA interaguje s DNA a obsahuje aminokyselinu tyrozín zodpovedný za štiepenie DNA a tvorbu kovalentnej väzby medzi proteínom a DNA počas reakčného cyklu. GyrB tiež interaguje s DNA a obsahuje aktívne miesto

ATPázy. Gyráza má viacero spoločných vlastností s ostatnými topoizomerázami, no jej odlišnosť spočíva v tom, že je schopná obaľovať DNA a využívať voľnú energiu hydrolyzy ATP na zavedenie „negative supercoiling“ do DNA. Jedinečnosť gyrázy z nej urobila úspešný cieľ pre antimikrobakteriálne látky. Fluorochinolón ako napríklad ofloxacín je zameraný sa gyrázu a považuje sa za veľmi úspešnú klinickú látku používanú proti tuberkulóze. Avšak napriek jej účinnosti, aj v tomto prípade existuje značný problém s rozvinutou rezistenciou [28].

Naftochinóny sú v prírode veľmi rozšírené a ich prítomnosť v mnohých rastlinách (napr. *Dionaea muscipula*, druhy rodu *Drosera*), hubách či dokonca mikroorganizmoch (*Streptomyces*, *Fusarium*) [29], je základom niekoľkých ľudových liečiv. Podieľajú sa na liečbe rôznych ochorení vrátane infekcie močových ciest či TB [28].

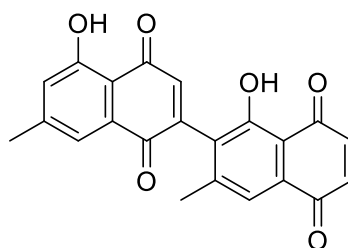
Počas výskumu bola testovaná inhibícia DNA gyrázy spôsobená naftochinónmi. Cieľom bolo určiť, či zlúčeniny diospyrín (Obrázok 17) a 7-metyljuglón (Obrázok 18), môžu byť účinné na DNA gyrázu patogénu *M. tuberculosis*. Preukázaným faktom bolo, že obidve tieto zlúčeniny vykazujú inhibičnú aktivitu zvinutia bakteriálnej DNA (Tabuľka 4). Zlúčeniny sa viažu na N-koncovú doménu podjednotky GyrB, ktorá obsahuje aktívne miesto ATPázy, ale nie sú kompetitívnymi inhibítormi ATPázovej reakcie. Z tohto dôvodu, bol navrhnutý mechanizmus účinku spočívajúci vo väzbe na GyrB na nové miesto v blízkosti ATPázovej domény. Tento nový spôsob by mohol byť využitý na vývoj nových antimikrobakteriálnych látok [28].

ZLÚČENINA	Hodnoty MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Hodnoty IC ₅₀ (μM)
diospyrin	8	15
7-methyljugolon	0,5	30

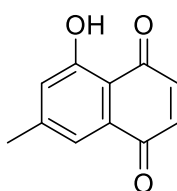
Tabuľka 4. Hodnoty MIC a IC₅₀ jednotlivých zlúčenín.

„Negative supercoiling“ bakteriálnej DNA pomocou DNA gyrázy ovplyvňuje všetky metabolické procesy týkajúce sa DNA a je rovnako nevyhnutní pre replikáciu. Enzým zvinie DNA mechanizmom nazývaným inverzia znamienka, pri ktorom sa pozitívne zvinutie priamo obráti na negatívne. Obrátením tejto schémy sa DNA uvoľní

a tento mechanizmus vysvetľuje schopnosť gyrázy zlúčiť alebo nezlúčiť kruhy molekuly DNA [30].



Obrázok 17. Štruktúrny vzorec diospirínu.



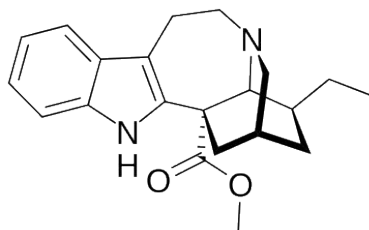
Obrázok 18. Štruktúrny vzorec 7-metyljuglónu.

4.4 Indolové alkaloidy

Indolové alkaloidy, získané z viacerých čeladi rastlín (*Apocynaceae*, *Rubiaceae*, *Nyssaceae*, *Loganiaceae*), si získali množstvo pozornosti vďaka svojej rôznorodej farmakologickej aktivite. Indolové jadro, ktoré je základným kameňom štruktúry týchto alkaloidov, sa pravdepodobne výrazne podieľa na týchto aktivitách. Indol je molekula, ktorá pozostáva z pyrolového kruhu spojeného s benzénovým jadrom [31].

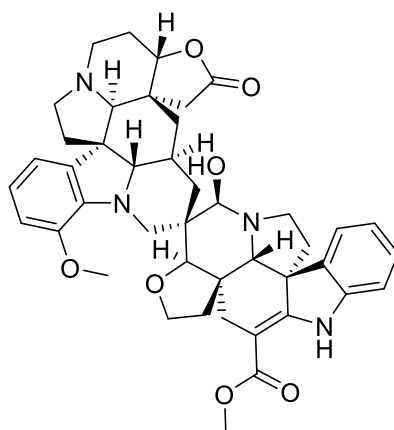
Indolové alkaloidy sa často vyznačujú významnými biologickými aktivitami, ktoré majú významnú úlohu v oblasti medicíny. Tieto zlúčeniny počas pozorovaní preukázali protinádorové, antibakteriálne, antivírusové, antimykobakteriálne, protizápalové alebo aj antidepresívne účinky [31].

Jedným z indolových alkaloidov je aj koronaridin (Obrázok 19) izolovaný z koreňa *Tabernaemontana ternifolia*. Táto zlúčenina vykazovala slabú inhibičnú aktivitu voči *M. tuberculosis* s hodnotou MIC 82,64 µg/ml [31].



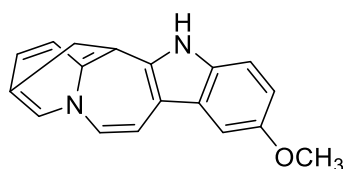
Obrázok 19. Štruktúrny vzorec koronaridinu.

Globospiramin (Obrázok 20) získaný z *Voacanga globosa* je rovnako indolový alkaloid, ktorý sa testoval voči *M. tuberculosis*. Táto zlúčenina vykazovala silnú inhibičnú aktivitu s MIC 4 $\mu\text{g/ml}$ v teste na mikrodôštičkách s použitím indikátoru Alamar Blue a MIC 5,2 $\mu\text{g/ml}$ v prostredí so zníženou tenziou kyslíka, pričom dochádzalo ku stimulácii latentného stavu mykobaktérií [31]. Pri globospiramine je preukázaný význam hydroxylovej skupiny v polohe C-3 v prípade inhibičnej aktivity [32].



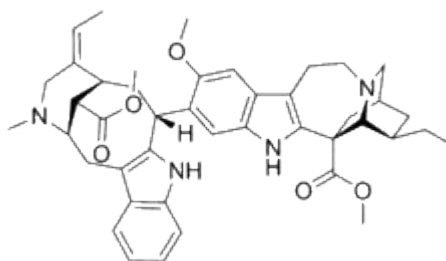
Obrázok 20. Štruktúrny vzorec globospiraminu.

Ibogain (Obrázok 21) a voakangin sú zlúčeniny izolované z rastliny *Tabernaemontana cibrifolia*. Aj v prípade týchto zlúčenín bola hodnotená ich antimykobakteriálna aktivita proti *M. tuberculosis*, a to konkrétne s hodnotami MIC 50 $\mu\text{g/ml}$ [31].



Obrázok 21. Štruktúrny vzorec ibogainu.

Ďalšou zlúčeninou, ktorá patrí do skupiny indolových alkaloidov, je vokamin (Obrázok 22), izolovaný z koreňa *Tabernaemontana arborea*. Zlúčenina vykazuje inhibičnú aktivitu taktiež voči *M. tuberculosis* a výsledky ukázali, že hodnoty MIC a IC₅₀ boli 15,6 a 16,30 µg/ml [31].



Obrázok 22. Štruktúrny vzorec vokaminu.

4.5 Triterpény a alkaloidy z *Psychotria nuda*

Rod *Psychotria* zahŕňa približne 2000 druhov vyskytujúcich sa prevažne v tropických a subtropických oblastiach sveta. Niektoré jeho druhy sa v ľudovom liečiteľstve často využívajú napríklad pri bolestiach brucha alebo na kašeľ. Tieto druhy sa stali cieľom štúdií a to kvôli svojej rozmanitosti sekundárnych metabolitov ako sú alkaloidy, flavonoidy, triterpény, kumaríny alebo iridoidy a ich významnej antimykobakteriálnej, protizápalovej, cytotoxickej, analgetickej a antimikrobiálnej aktivity [32].

K izolovaniu zlúčenín z extraktov *P. nuda*, bola využitá chromatografická frakcionácia. Zo spomínanej rastliny boli vyizolované nasledovné zlúčeniny: terpény kyselina pomolová, kyselina spinosová, sitosterol, stigmasterol, kampesterol, fytol, β-stigmasterol-3-O-β-D-glukozid, β-sitosterol-3-O-β-D-glukozid, ďalej cinchonain Ia, cinchonain Ib, *N,N,N*-trimetyltryptamín, lyalosid, lawsufruktóza, roseosid, striktosamid,

skopoletin, kyselina rotungénová a alkaloidy striktosidin a 5 α -karboxystriktosidin. Z nich boli antimykrobiálne aktívne dve triterpenické kyseliny (pomolová a spinosová) a oba alkaloidy, ktoré boli testované proti *M. tuberculosis* H₃₇Rv a hypervirulentnému kmeňu M₂₉₉. Všetky hodnoty MIC₅₀ sú uvedené v Tabuľke 5 [32].

ZLÚČENINA	Hodnoty MIC ₅₀ μ g/ml	
	H37Rv	M299
kyseliny pomolová a spinosová	19,2 \pm 0,2	inaktívny pri 100 μ g/ml
striktosidin	7,1 \pm 0,6	33,1 \pm 0,8
5 α -karboxystriktosidin	26,3 \pm 1,9	inaktívny pri 100 μ g/ml

Tabuľka 5. Hodnoty MIC testovaných zlúčenín voči *M. tuberculosis* a hypervirulentnému kmeňu.

4.6 Steroidné hormóny

Steroidné hormóny poznáme ako zlúčeniny lipidovej povahy, ktorých štruktúra je odvodená od molekuly gonanu. Vo svojej podstate zodpovedajú za reguláciu viacerých fyziologických a rovnako aj vývojových životných mechanizmov tým, že riadia základné bunky, tkanivá a orgány. Mechanizmus ich účinku je sprostredkovaný bunkami cytosolových receptorov, ktoré interagujú s hormónmi. Následne postupujú do jadra, kde sa viažu na elementy odpovede v DNA a aktivujú, alebo potláčajú génovú transkripciu [33].

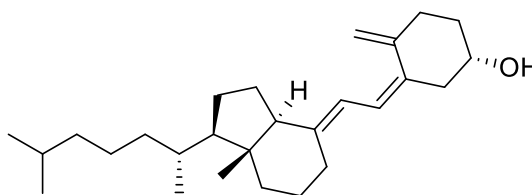
Spomínané hormóny sú v súčasnosti cieľom štúdií, a to hlavne kvôli ich imunomodulačnej aktivite pri zápaloch, kardiovaskulárnych, autoimunitných alebo dokonca pri infekčných ochoreniach. Práca sa venuje konkrétne dvom takýmto hormónom, a to vitamínu D₃ a 17 β -estradiolu. V prípade spomínaných hormónov, sa nejedná o priamy antimykobakteriálny účinok, ale preukázalo sa imunomodulačné pôsobenie, ktoré tiež významným spôsobom prispelo k odpovedi voči patogénom [33].

Vitamín D₃ (VD₃) a 17 β -estradiol (E₂) majú nielen chemickú podobnosť, ale preukazujú sa aj spoločnými účinkami. Tieto zlúčeniny sú schopné pôsobiť na génovú expresiu a stabilitu mRNA v rôznych tkanivách a obranných bunkách imunitného systému, čo im umožňuje ovplyvniť účinnosť odpovede. Je preukázané, že môžu

pôsobiť vo viacerých imunogenetických smeroch s cieľom obmedziť infekcie nie len horných dýchacích ciest [33].

Vitamín D3

Cholekarciferol alebo vitamín D₃ (Obrázok 23) zohráva kľúčovú úlohu v metabolizme kostí či pri homeostáze vápnika. Okrem spomínaných sa podieľa aj v bunkovej fyziológii, preukazuje značné antiproliferačné účinky na rakovinotvorné bunky, moduluje imunitnú odpoveď a kontroluje zápal. Všetky tieto aktivity vykonáva prostredníctvom väzby na receptor vitamínu D. Štúdiá dokazujú, že VD3 zlepšuje imunitu, a to spôsobom udržiavania vyváženej imunitnej odpovede. Tento receptor je vylučovaný bunkami obranného systému, ako sú T a B lymfocyty a antigén prezentujúce bunky. Komplex, ktorý pozostáva z VD3 a receptoru (VD3/VDR), je spúšťacím signálom pre diferenciáciu monocytov na makrofágy a moduláciu diferenciácie T buniek v adaptívnej imunitnej odpovedi. Tento vitamín môže indukovať expresiu katelicidínov a β-defenzínu 2, ktoré zohrávajú dôležitú úlohu v odpovedi proti patogénom ako *M. tuberculosis*. Taktiež dokáže znižovať životaschopnosť patogénu a to spôsobom zvýšenia fagozomálnej a lysozomálnej fúzie v infikovaných makrofágoch. VD3 rovnako zvyšuje aj samotnú obranyschopnosť makrofágov a to tak, že indikuje ich diferenciáciu, fagocytárnu kapacitu a antimykobakteriálnu aktivitu [33].

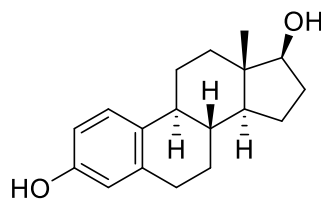


Obrázok 23. Štruktúrny vzorec cholekarciferolu.

17β-estradiol

Názov estrogény sa vzťahuje na skupinu ženských steroidných hormónov, odvodených od štruktúry estranu, ktoré zodpovedajú za množstvo činností v celom tele. V období pred menopauzou či v čase puberty sa estradiol (Obrázok 24) syntetizuje najmä vo vaječníkoch a považuje sa za hlavného regulátora rastu, reprodukcie či

vývoja. Fyziologické funkcie tohto hormónu sú regulované väzbou na estrogénové receptory.



Obrázok 24. Štruktúrny vzorec 17β-estradiolu.

E2 prostredníctvom ER dokáže regulovať bunky a dráhy vrodenej či adaptívnej imunitnej odpovede ako aj diferenciáciu imunitných buniek. Spomínané receptory sú transkripčnými faktormi, ktoré zohrávajú kľúčovú úlohu pri sprostredkovaní chromatinových interakcií a rovnako aj pri tvorbe komplexov, ktoré regulujú expresiu génov prostredníctvom väzby na elementy estrogénovej odpovede. Rovnako sa podieľajú aj na steroidnej signalizácii podnietenej membránou [33].

Tuberkulózu môžeme označiť za najštudovanejší model pohlavného dimorfizmu v súvislosti s infekciami dýchacích ciest. Dnes je už dobre známe, že značná prevaha výskytu tuberkulózy u mužského pohlavia závisí od geografického regiónu. Táto prevalencia mužov sa pozoruje aj pri kombinácií ďalších rizikových faktorov, ako je infekcia HIV, diabetes mellitus alebo fajčenie. Aj v prípade spomínanej tuberkulózy sa vyskytujú rozdiely medzi mužským a ženským pohlavím v podobe imunitnej odpovede. Rovnako v prípade starších žien so zníženou hladinou E2 sa uvádza zvýšené riziko chronických pľúcnych infekcií spôsobenými mykobaktériami. Rovnako znížené hladiny endogénneho medziproduktu pri premene cholesterolu na estrogény a androgény boli spojované s výskytom *M. avium* či netuberkulóznou mykobakteriálnou infekciou pľúc v organizme staršej ženy po menopauze. Všetky tieto štúdie naznačujú, že netuberkulózne bakteriálne infekcie sú ovplyvnené z určitej časti aj samotnými hormónmi. Tento fakt vysvetľuje vyššie spomínaný pohlavný dimorfizmus pri mykobakteriálnych infekciách v dýchacích cestách [33].

Všetky spomínané situácie zobrazujú hlavné cesty pôsobenia týchto hormónov proti infekciám spôsobenými patogénmi, ktoré môžu byť dôležitým východiskom pri jednaní skúmaní možných molekúl, ktoré napomáhajú zlepšovať funkciu imunitného systému hostiteľa a pri obmedzení zápalov, ale aj pri reakciách proti samotným patogénom [33].

5. ZÁVER

V závere je nanešťastie nutné skonštatovať, že aj napriek mnohým snahám sa nepodarilo úplne zabrániť vzniku rezistencií voči používaným liekom, a to nie len v prípade tuberkulózy. Vývoj nových liečív je preto nanajvýš nevyhnutný.

Ako sľubné sa javia niektoré zlúčeniny, ktorých pôvod pramení z prírody. Hoci sa tieto zlúčeniny líšia vo svojej chemickej štruktúre či mieste pôvodu, jedna vec ich predsa spája. Táto spoločná vlastnosť je antimykobakteriálna aktivita, ktorou sa všetky látky spomínané v práci vyznačujú. Či už je to priame pôsobenie na patogéna, alebo sa vyznačujú imunomodulačnými schopnosťami.

Konkrétnymi príkladmi sú niektoré peptidy, alkaloidy alebo terpenoidy vyzisované zo siníc a taktiež aj rada EO a ich zložiek. Rovnako aldehydy alebo naftochinóny sa stali predmetom mnohých štúdií s preukázanou antimykobakteriálnou aktivitou. Taktiež indolové alkaloidy vykazovali významnú inhibičnú aktivitu voči patogénom, a to vďaka ich indolovému základu. Okrem spomínaných zlúčenín, ktoré preukazovali priamy účinok na patogéna, poznáme aj také, ktoré sa stali významnými kvôli ich imunomodulačnému pôsobeniu. Takýmito látkami sú vitamín D3 a 17 β -estradiol. Ako sľubná vidina do budúcnosti sa zdajú aj kombinácie prírodných zlúčenín a využívaných antituberkulotík.

Nutné je taktiež spomenúť, že rada klinicky využívaných antituberkulotík je čisto prírodného (aminoglykosidy, polypeptidy, cykloserin) alebo polosyntetického (rifampicin) pôvodu.

Dovolím si teda tvrdiť, že príroda nám ponúka nespočetné množstvo svojich zlúčenín, ktoré majú v súčasnosti svoje uplatnenie v medicínskom prostredí. Existuje však ešte mnoho neprebádaných látok, ktoré nám ešte len ukážu svoj užitočný význam. Taktiež existujú látky, ktoré sa vyznačujú rôznym mechanizmom účinku, ktorý ešte len čaká na svoje objasnenie.

6. ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK

ATP	Adenosine triphosphate	adenozíntrifosfát
CT	Computed Tomography	výpočtová tomografia
DNA	Deoxyribonucleic acid	deoxyribonukleová kyselina
E	Ethambutol	etambutol
E2	Estradiol	estradiol
ER	Estrogen receptor	estrogénový receptor
H	Isoniazid	izoniazid
MDR	Multidrug Resistance	multirezistentná forma
MIC	Minimal Inhibitory Concentration	minimálna inhibičná koncentrácia
R	Rifampicin	rifampicin
rRNA	Ribosomal ribonucleic acid	ribozomálna ribonukleová kyselina
RNA	Ribonucleic acid	ribonukleová kyselina
S	Streptomycin	streptomycin
TB	Tuberculosis	tuberkulóza
VD3	Vitamin D3	vitamín D3
VDR	The vitamin D receptor	receptor vitamínu D
WHO	World Health Organization	svetová zdravotnícka organizácia
XDR	Extensively drug resistant	extenzívna lieková rezistencia
Z	Pyrazinamide	pyrazinamid

7. ZOZNAM OBÁZKOV A TABULIEK

Zoznam obrázkov:

Obrázok 1. Diferenciácia acidorezistentnej <i>M. tuberculosis</i> pomocou Ziehl-Neelsenovho farbenia.....	
Obrázok 2. Zadopredný skiagram hrudníka u pacienta s rozsiahlou TB pľúc.....	
Obrázok 3. Štruktúrny vzorec izoniazidu.....	
Obrázok 4. Štruktúrny vzorec rifampicinu.....	
Obrázok 5. Štruktúrny vzorec pyrazinamidu.....	
Obrázok 6. Štruktúrny vzorec ethambutolu.....	
Obrázok 7. Štruktúrny vzorec streptomycínu.....	
Obrázok 8. Štruktúrny vzorec cykloserínu.....	
Obrázok 9. Štruktúrny vzorec bedachilínu.....	
Obrázok 10. Štruktúrny vzorec delamanidu.....	
Obrázok 11. Štruktúrny vzorec linezolidu.....	
Obrázok 12. Štruktúrny vzorec kyseliny oleanolovej.....	
Obrázok 13. Štruktúrne vzorce β -elemenu (A), sabinenu (B), α -pinenu (C), myrcenu (D).....	
Obrázok 14. Štruktúrne vzorce (<i>R</i>)-limonénu (E) a (<i>S</i>)-limonénu (F).....	
Obrázok 15. Štruktúrne vzorce p-cyménu (A), thymolu (B) a karvakrolu (C).....	
Obrázok 16. Štruktúrny vzorec aldehydu kyseliny škoricovej (cinnamaldehydu).....	
Obrázok 17. Štruktúrny vzorec diospirínu.....	
Obrázok 18. Štruktúrny vzorec 7-metyljuglónu.....	
Obrázok 19. Štruktúrny vzorec koronaridínu.....	
Obrázok 20. Štruktúrny vzorec globospiraminu.....	
Obrázok 21. Štruktúrny vzorec ibogainu.....	
Obrázok 22. Štruktúrny vzorec vokaminu.....	
Obrázok 23. Štruktúrny vzorec cholekalciferolu.....	
Obrázok 24. Štruktúrny vzorec 17 β -estradiolu.....	

Zoznam tabuliek:

Tabuľka 1. Hodnoty MIC jednotlivých terpenov, antituberkulotík a ich kombinácií testovaných voči <i>M. tuberculosis</i>	
Tabuľka 2. Hodnoty MIC pre <i>M. tuberculosis</i> a <i>M. bovis</i>	
Tabuľka 3. Hodnoty MIC škoricového EO a jeho hlavných zložiek.....	
Tabuľka 4. Hodnoty MIC a IC ₅₀ jednotlivých zlúčenín.....	
Tabuľka 5. Hodnoty MIC testovaných zlúčenín voči <i>M. tuberculosis</i> a hypervirulentnému kmeňu.....	

8. POUŽITÁ LITERATÚRA

- [1] ESTEBAN, Jaime a Marta GARCÍA-COCA. Mycobacterium Biofilms. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2018, 8 [cit. 2023-05-01]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2017.02651
- [2] HURYCH, Jakub a Roman ŠTÍCHA. *Lékařská mikrobiologie: repetitorium*. Praha: Stanislav Juhaňák – Triton, 2020. ISBN 978-80-7553-844-4.
- [3] GRIFFITH, David E. Microbiology of nontuberculous mycobacteria [online]. In: 20.10.2020 [cit. 2023-05-05]. Dostupné z: <https://lnk.sk/jix2>
- [4] VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.
- [5] LOSSE, Stanislav. Netuberkulózní mykobakteriální onemocnění – editorial. *Vnitřní lékařství* [online]. 2019, 65(5), 333-336 [cit. 2023-05-01]. ISSN 0042773X. Dostupné z: doi:10.36290/vnl.2019.059
- [6] VAŠÁKOVÁ, Martina. Current approach to diagnostics, treatment and prevention of tuberculosis. *Vnitřní lékařství* [online]. 2017, 63(11), 815-820 [cit. 2023-05-01]. ISSN 0042773X. Dostupné z: doi:10.36290/vnl.2017.154
- [7] Global tuberculosis report 2022. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- [8] HEEMSKERK, Dorothee, Maxine CAWS, Ben MARAIS a Jeremy FARRAR. *Tuberculosis in Adults and Children* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2015 [cit. 2023-05-01]. SpringerBriefs in Public Health. ISBN 978-3-319-19131-7. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-19132-4
- [9] HOMOLKA, Jiří. *Tuberkulóza*. 5., upravené vydání. Praha: Univerzita Karlova, nakladatelství Karolinum, 2016. ISBN 978-80-246-3476-0.
- [10] BÁRTŮ, Václava, 2008. *Tuberkulóza - infekční choroba v 21. století*. Medicine

for practice [online]. [cit. 2023-05-10]. Dostupné z: https://www.medicinapropraxi.cz/artkey/med-200806-0003_Tuberkuloza-infekcni_choroba_v_21_stoleti.php

[11] Types of drug-resistant TB. World Health Organization [online]. [cit. 2023-05-01]. Dostupné z: <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/diagnosis-treatment/treatment-of-drug-resistant-tb/types-of-tb-drug-resistance>

[12] NATH, Hum a Sungweon RYOO. First- and Second-Line Drugs and Drug Resistance. In: MAHBOUB, Bassam, ed. Tuberculosis – Current Issues in Diagnosis and Management [online]. InTech, 2013, 2013-03-20 [cit. 2023-05-01]. ISBN 978-953-51-1049-1. Dostupné z: doi:10.5772/54960

[13] VAN DER WALT, Martha L., Karen SHEAN, Piet BECKER, Karen H. KEDDY a Joey LANCASTER. Treatment Outcomes and Adverse Drug Effects of Ethambutol, Cycloserine, and Terizidone for the Treatment of Multidrug-Resistant Tuberculosis in South Africa. Antimicrobial Agents and Chemotherapy [online]. 2020, 65(1), e00744-20 [cit. 2023-05-01]. ISSN 0066-4804. Dostupné z: doi:10.1128/AAC.00744-20

[14] SOUČKOVÁ, Lenka a Adriána RUZSÍKOVÁ. Nová antibiotika v klinické praxi a výzkumu. Klinická farmakologie a farmacie. 2016, 30 (3) 27-32. ISSN 1212-7973.

[15] BLAIR, Hannah A. a Lesley J. SCOTT. Delamanid: A Review of Its Use in Patients with Multidrug-Resistant Tuberculosis. Drugs [online]. 2015, 75(1), 91-100 [cit. 2023-05-01]. ISSN 0012-6667. Dostupné z: doi:10.1007/s40265-014-0331-4

[16] HASHEMIAN, Seyed MohammadReza, Tayebeh FARHADI a Mojdeh GANJPARGAR. Linezolid: a review of its properties, function, and use in critical care. Drug Design, Development and Therapy [online]. 2018, 12, 1759-1767 [cit. 2023-05-01]. ISSN 1177-8881. Dostupné z: doi:10.2147/DDDT.S164515

[17] ANDRADE-OCHOA, Sergio, Guadalupe Virginia NEVÁREZ-MOORILLÓN, Luvia E. SÁNCHEZ-TORRES, Manuel VILLANUEVA-GARCÍA, Blanca E. SÁNCHEZ-RAMÍREZ, Luz María RODRÍGUEZ-VALDEZ a Blanca E. RIVERA-CHAVIRA. Quantitative structure-activity relationship of molecules constituent of different essential oils with antimycobacterial activity against *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis*. BMC Complementary and Alternative Medicine [online]. 2015, 15(1) [cit. 2023-05-01]. ISSN 1472-6882. Dostupné z: doi:10.1186/s12906-015-0858-2

[18] YUAN, Haidan, Qianqian MA, Li YE a Guangchun PIAO. The Traditional Medicine and Modern Medicine from Natural Products. Molecules [online]. 2016, 21(5) [cit. 2023-05-01]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules21050559

[19] SWAIN, Shasank S., Sudhir K. PAIDSETTY a Rabindra N. PADHY. Antibacterial, antifungal and antimycobacterial compounds from cyanobacteria. Biomedicine & Pharmacotherapy [online]. 2017, 90, 760-776 [cit. 2023-05-01]. ISSN 07533322. Dostupné z: doi:10.1016/j.biopha.2017.04.030

[20] MÜLLER, Daniela, Anja KRICK, Stefan KEHRAUS, et al., 2006. Brunsvicamides A–C: Sponge-Related Cyanobacterial Peptides with *Mycobacterium tuberculosis* Protein Tyrosine Phosphatase Inhibitory Activity. Journal of Medicinal Chemistry [online]. 49(16), 4871-4878 [cit. 2023-05-05]. ISSN 0022-2623. Dostupné z: doi:10.1021/jm060327w

[21] MO, Shunyan, Aleksej KRUNIC, Scott D. PEGAN, Scott G. FRANZBLAU a Jimmy ORJALA. An Antimicrobial Guanidine-Bearing Sesterterpene from the Cultured Cyanobacterium *Scytonema* sp. Journal of Natural Products [online]. 2009, 72(11), 2043-2045 [cit. 2023-05-01]. ISSN 0163-3864. Dostupné z: doi:10.1021/np900288x

[22] SOUSA, Vânia Isabel, Joana Filipa PARENTE, Juliana Filipa MARQUES, Marta Adriana FORTE a Carlos José TAVARES. Microencapsulation of Essential Oils: A

Review. *Polymers* [online]. 2022, 14(9) [cit. 2023-05-01]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym14091730

[23] COX-GEORGIAN, Destinney, Niveditha RAMADOSS, Chathu DONA a Chhandak BASU. Therapeutic and Medicinal Uses of Terpenes. In: JOSHEE, Nirmal, Sadanand A. DHEKNEY a Prahlad PARAJULI, ed. *Medicinal Plants* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2019, 2019-11-12, s. 333-359 [cit. 2023-05-01]. ISBN 978-3-030-31268-8. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-030-31269-5_15

[24] SIENIAWSKA, Elwira, Marta SWATKO-OSSOR, Rafał SAWICKI, Krystyna SKALICKA-WOŹNIAK a Grazyna GINALSKA. Natural Terpenes Influence the Activity of Antibiotics against Isolated *Mycobacterium tuberculosis*. *Medical Principles and Practice* [online]. 2017, 26(2), 108-112 [cit. 2023-05-01]. ISSN 1011-7571. Dostupné z: doi:10.1159/000454680

[25] MARCHESE, Anna, Carla ARCIOLA, Ramona BARBIERI, et al. Update on Monoterpenes as Antimicrobial Agents: A Particular Focus on *p*-Cymene. *Materials* [online]. 2017, 10(8) [cit. 2023-05-01]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma10080947

[26] ALJAAFARI, Mariam Nasser, Maryam Abdulraheem ALKHOORI, Mohammed HAG-ALI, Wan-Hee CHENG, Swee-Hua-Erin LIM, Jiun-Yan LOH a Kok-Song LAI. Contribution of Aldehydes and Their Derivatives to Antimicrobial and Immunomodulatory Activities. *Molecules* [online]. 2022, 27(11) [cit. 2023-05-01]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules27113589

[27] SAWICKI, Rafal, Joanna GOLUS, Agata PRZEKORA, Agnieszka LUDWICZUK, Elwira SIENIAWSKA a Grazyna GINALSKA. Antimycobacterial Activity of Cinnamaldehyde in a *Mycobacterium tuberculosis*(H37Ra) Model. *Molecules* [online]. 2018, 23(9) [cit. 2023-05-01]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules23092381

[28] KARKARE, Shantanu, Terence T.H. CHUNG, Frederic COLLIN, et al. The Naphthoquinone Diospyrin Is an Inhibitor of DNA Gyrase with a Novel Mechanism

of Action. Journal of Biological Chemistry [online]. 2013, 288(7), 5149-5156 [cit. 2023-05-01]. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M112.419069

[29] BABULA, Petr, R. MIKELOVÁ, J. VÍTEČEK, René KIZEK, Libor HAVEL a Z. SLADKÝ. Naftochinony – výskyt v přírodě, biologické vlastnosti a jejich chromatografické stanovení v biologickém materiálu [online]. 2005 [cit. 2023-05-05]. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/lekar-a-multidisciplinari-tym/kongresy/po-kongresu/databaze-tuzemskych-onkologickych-konferencnich-abstrakt/naftochinony-vyskyt-v-prirode-biologicke-vlastnosti-a-jejich-chromatograficke-st/>

[30] COZZARELLI, Nicholas R. DNA Gyrase and the Supercoiling of DNA. Science [online]. 1980, 207(4434), 953-960 [cit. 2023-05-01]. ISSN 0036-8075. Dostupné z: doi:10.1126/science.6243420

[31] OMAR, Faisal, Abu Montakim TAREQ, Ali M. ALQAHTANI, Kuldeep DHAMA, Mohammed Abu SAYEED, Talha Bin EMRAN a Jesus SIMAL-GANDARA. Plant-Based Indole Alkaloids: A Comprehensive Overview from a Pharmacological Perspective. Molecules [online]. 2021, 26(8) [cit. 2023-05-01]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules26082297

[32] DE CARVALHO JUNIOR, Almir, Rafaela OLIVEIRA FERREIRA, Michel DE SOUZA PASSOS, et al. Antimycobacterial and Nitric Oxide Production Inhibitory Activities of Triterpenes and Alkaloids from *Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra. Molecules [online]. 2019, 24(6) [cit. 2023-05-01]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules24061026

[33] BORBOREMA, Maria Eduarda de Albuquerque, Thays Maria Costa de LUCENA a Jaqueline de Azevêdo SILVA. Vitamin D and estrogen steroid hormones and their immunogenetic roles in Infectious respiratory (TB and COVID-19) diseases. Genetics and Molecular Biology [online]. 2023, 46(1, suppl 2) [cit. 2023-05-01]. ISSN 1678-4685. Dostupné z: doi:10.1590/1415-4757-gmb-2022-0158

Zdroje obrázkov:

Obrázok 1. Potential Immune Markers Found for Active Tuberculosis, 2021. LabMedica [online]. [cit. 2023-05-10]. Dostupné z: <https://www.labmedica.com/microbiology/articles/294788303/potential-immune-markers-found-for-active-tuberculosis.html>

Obrázok 2. VAŠÁKOVÁ, M., 2013. Tuberkulóza v České republice. Současný stav. Diagnóza, léčba, prevence. Vnitřní lékařství [online]. [cit. 2023-05-10]. Dostupné z: https://www.casopisvnitrnilekarstvi.cz/artkey/vnl-201304-0010_tuberculosis-in-the-czech-republic-current-status-diagnosis-treatment-and-prevention.php

Zdroje tabuliek:

Tabuľka 1. SIENIAWSKA, Elwira, Marta SWATKO-OSSOR, Rafał SAWICKI, Krystyna SKALICKA-WOŹNIAK a Grazyna GINALSKA. Natural Terpenes Influence the Activity of Antibiotics against Isolated Mycobacterium tuberculosis. Medical Principles and Practice [online]. 2017, 26(2), 108-112 [cit. 2023-05-01]. ISSN 1011-7571. Dostupné z: doi:10.1159/000454680

Tabuľka 2. MARCHESE, Anna, Carla ARCIOLA, Ramona BARBIERI, et al. Update on Monoterpenes as Antimicrobial Agents: A Particular Focus on *p*-Cymene. Materials [online]. 2017, 10(8) [cit. 2023-05-01]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma10080947

Tabuľka 3. SAWICKI, Rafal, Joanna GOLUS, Agata PRZEKORA, Agnieszka LUDWICZUK, Elwira SIENIAWSKA a Grazyna GINALSKA. Antimycobacterial Activity of Cinnamaldehyde in a *Mycobacterium tuberculosis* (H37Ra) Model. Molecules [online]. 2018, 23(9) [cit. 2023-05-01]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules23092381

Tabuľka 4. KARKARE, Shantanu, Terence T.H. CHUNG, Frederic COLLIN, et al. The Naphthoquinone Diospyrin Is an Inhibitor of DNA Gyrase with a Novel Mechanism of Action. Journal of Biological Chemistry [online]. 2013, 288(7), 5149-5156 [cit. 2023-05-01]. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M112.419069

Tabuľka 5. DE CARVALHO JUNIOR, Almir, Rafaela OLIVEIRA FERREIRA, Michel DE SOUZA PASSOS, et al. Antimycobacterial and Nitric Oxide Production Inhibitory Activities of Triterpenes and Alkaloids from *Psychotria nuda* (Cham. & Schltld.) Wawra. *Molecules* [online]. 2019, 24(6) [cit. 2023-05-01]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules24061026