

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv



Syntéza prekursorů biologicky aktivních laktonů III.

Diplomová práce

Hradec Králové 2009

Zuzana Šipulová

Prehlasujem, že táto práca je mojím pôvodným autorským dielom, ktoré som vypracovala samostatne. Literatúra a ďalšie zdroje, z ktorých som pri spracovávaní čerpala, sú uvedené v zozname literatúry a v práci riadne citované.

V Hradci Králové dňa

Ďakujem PharmDr. Marte Kučerovej, Ph.D. za jej odbornú pomoc behom experimentálnej časti.

Moje poďakovanie patrí taktiež doc. RNDr. Veronike Opletalovej, Ph.D. za jej ochotu, za cenné rady a pomoc, ktorú mi poskytla pri písaní diplomovej práce.

Obsah

1.	Úvod	5
2.	Cieľ	6
3.	Teoretická časť	7
3.1.	Obecné vlastnosti húb	7
3.2.	Mykotické ochorenia a ich dostupná terapia	10
3.2.1.	Povrchové mykózy	10
3.2.1.1.	Kožné mykózy	10
3.2.1.2.	Kandidózy kože	12
3.2.1.3.	Ostatné povrchové mykózy	13
3.2.2.	Podkožné mykózy	14
3.2.3.	Systémové mykózy	14
3.2.4.	Nozokomiálne mykózy	17
3.2.5.	Importované mykózy	22
3.3.	Antifungálne látky používané v súčasnej terapii	25
3.4.	Vývoj nových antimykotík obsahujúcich vo svojej štruktúre furán-2(5 <i>H</i>)-ón	41
3.5.	Ostatné účinky furán-2(5 <i>H</i>)-ónu	51
4.	Experimentálna časť	53
4.1.	Príprava pyridínium-hydrobromid perbromidu	54
4.2.	Príprava metyl-(<i>E</i>)-2-bróm-5-fenylpent-2-én-4-ynoátu Sonogashirovým couplingom	55
4.3.	Príprava metyl-(<i>E</i>)-2-bróm-5-(2-nitrofenyl)pent-2-én-4-ynoátu Sonogashirovým couplingom	56
4.4.	Príprava metyl-(<i>E</i>)-5-fenyl-2-{{[4-(metoxymetoxymetyl)fenyl]etynyl}}pent-2-én-4-ynoátu	57
4.5.	Príprava metyl-(<i>E</i>)-5-fenyl-2-{{[4-(metoxymetoxymetyl)fenyl]etynyl}}pent-2-én-4-ynoátu	58
4.6.	Príprava metyl-(<i>E</i>)-5-fenyl-2-{{[4-(metoxymetoxymetyl)fenyl]etynyl}}pent-2-én-4-ynoátu	59
4.7.	Príprava metyl-(<i>E</i>)-5-fenyl-2-{{[4-(metoxymetoxymetyl)fenyl]etynyl}}pent-2-én-4-ynoátu	60

4.8.	Príprava metyl-2(<i>E</i>)-2-[(3-aminofenyl)etynyl]-5-fenylpent-2-én-4- 4-yonátu	61
4.9.	Príprava metyl-2(<i>E</i>)-5-fenyl-2-(pyridín-2-yl-etynyl)pent-2-én-4- yonátu	62
4.10.	Príprava metyl-2(<i>E</i>)-2-[[4-(dimetylamino)fenyl]etynyl]-5- fenylpent-2-én-4-yonátu	63
5.	Diskusia	64
6.	Záver	67
7.	Abstrakt	68
8.	Použitá literatúra	70

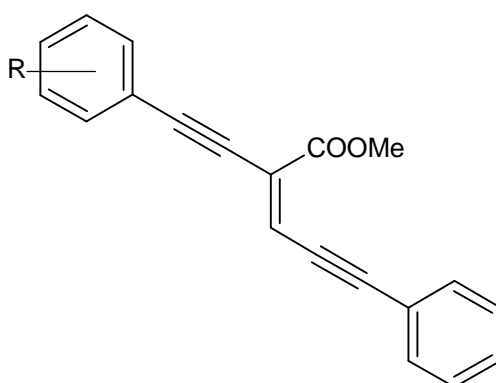
1. ÚVOD

Súčasťou výskumu potenciálnych liečiv v pracovnej skupine farmaceutickej chémie na Katedre farmaceutickej chémie a kontroly liečiv Farmaceutickej fakulty Univerzity Karlovej v Hradci Králove je syntéza látok s enónovým zoskupením.

Enónovú jednotku obsahujú okrem iných zlúčenín takisto furán-2(5*H*)-óny, čiastočne nenasýtené päťčlenné laktóny, ktorých výzkum bol na katedre zahájený v roku 2005.¹ Syntéza týchto látok je niekoľkostupňová a táto diplomová práca je zameraná na pilotné štúdie syntézy prekurzorov. Finálne zlúčeniny budú v budúcnosti testované na antineoplastický, antivírusový a antifungálny účinok.

2. CIEĽ DIPLOMOVEJ PRÁCE

Na katedre prebieha syntéza laktónov z rady 5-alkylidénfurán-2(5*H*)-ónov. Cieľom mojej diplomovej práce bolo naviazať na predchádzajúce práce zaoberajúce sa syntézou prekursorov potenciálne bioaktívnych laktónov a pripraviť sériu zlúčenín odvodených od metyl-(2*E*)-2-(aryletynyl)-5-fenylpent-2-én-4-ynoátu (**1**).



1

3. TEORETICKÁ ČASŤ

3.1. Obecné vlastnosti húb

Ríša húb (*Fungi, Mycetes*) zahrňuje eukaryotické organizmy, predtým spadajúce do ríše rastlín. Niektoré vlastnosti húb však viedli k tomu, že boli z rastlinnej ríše vyčlenené a teda tvoria samostatný celok. Pre huby mikroskopických rozmerov sa v praxi vžil názov *mikromycéty*.²

Od rastlín sa huby odlišujú hlavne neprítomnosťou chlorofylu a tým i neschopnosťou fotosyntézy. Jedná sa teda väčšinou o organizmy *saprofytické*, poprípade *parazitické* pre vyššie rastliny a živočíchy. Ďalšia rozdielnosť od rastlinných buniek spočíva v tom, že stena buniek húb obsahuje zložité cukry. Väčšina húb obsahuje vo svojej stene *chitín*, niektoré ešte chitosan, mannany a glukany. Treťou dôležitou vlastnosťou buniek mikromycét je prítomnosť *steroidných látok v ich cytoplazmatickej membráne*. *Steroly* sú pre zdarný život húb potrebné, a preto práve na blokáde ich syntézy je založený účinok rady antimykotík. Východiskovou látkou pre syntézu steroidných látok nie je však pre mikromycéty cholesterol (ako u človeka), ale *ergosterol*. Štvrtá zvláštnosť mikromycét spočíva v ich schopnosti *striedať pohlavné a nepohlavné rozmnožovanie*.²

Z etiopatogenetického hľadiska sú lekárske dôležité nasledujúce triedy uvedených mykopatogénov:³

1. **Zygomycéty/Fykomycéty** tvoriace hrubé, bledo sa farbiace neseptované hýfy v tkanivách, silne agresívne a angioinvasívne. Rody zygomycétov napr. *Mucor*, *Rhizopus*, *Absidia*, *Basidiobolus*, *Entomophthora*.
2. **Askomycéty (Hemiasci a Euasci)** – skupina zahrňujúca časté patogeneticky významné druhy: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Monosporium*, *Cephalosporium*, *Dermatophyta* (*Epidermatophyton*, *Trichophyton* a *Microsporum*).
3. **Bazidiomycéty** s charakteristickými sexuálnymi spórmi (bazidiospóry) vznikajúcimi na špeciálnych kyjovytých bunkách (bazídie). Pr.: *Amanita* – silne jedovatá.
4. **Deuteromycéty** (a imperfektné štádiá eumycétov) – táto skupina tvorí obzvlášť podstatnú časť významných patogénov u človeka a zvierat. Ich charakteristikou je výhradne len asexuálny spôsob reprodukcie. Významní reprezentanti sú

napr.: kandidy, kryptokoky, chromoblastomycéty, ďalej pôvodcovia severoamerickej a juhoamerickej blastomykózy, keloidné mykózy, sporotrichózy a histoplazmózy.

5. Skupina dimorfných húb: *Emmonsia* – *Chrysosporium parvum* var. *crescens* – (adiaspiromykóza), *Coccidioides immitis* (kokcidiomykóza) a *Rhinosporidium seeberi* (rhinosporidióza).

Zvláštnu polyetiologickú skupinu predstavujú zmiešané infekcie: v danom prípade ide o syntropie a polyparazitizmy rôznych patogénov (mykóza + viróza + parazitóza v duplicitných, ev. multiplicitných kombináciách), obvykle u rôznych imunodeficiencií (hlavne AIDS).

Avšak najviac súčasných (oportúnnych) mykotických infekcií je v našich podmienkach vyvolaných triádou: **Candida + Aspergillus + Fyko/Zygomycéty**.³

Mykotické ochorenia sú choroby vyvolané mikroskopickými hubami. V minulosti sa tieto choroby manifestovali predovšetkým ako povrchové dermatofytické ochorenia kože a slizníc. V súčasnosti sa stále častejšie objavujú vo formách podkožných a hlavne hlbokých – systémových. Je známo stovky druhov mykomycét a okolo 400 môžeme označiť ako patogénne. Zvyšovanie incidencie mykotických ochorení je zjavné predovšetkým v posledných desaťročiach v súvislosti so vzrastajúcim počtom imunokompromitovaných pacientov. Mykózy sa asi v 10 % podieľajú na nozokomiálnych infekciách a až 25 % sa ich vyskytuje v onkologickom prostredí. Ďalšie percentá sa priznávajú na vrub infekcii HIV/AIDS.⁴

Faktory uľahčujúce vznik týchto infekcií sú dvojaké: vnútorné a vonkajšie. Medzi vnútorné faktory môžeme počítať obecne vek (novorodenci, starí ľudia, gravidné ženy), primárne imunodeficity (deficity granulocytov či defekty fagocytózy) a sekundárne imunosuprimované osoby (infekcie obecne, malignity, kolagenózy, metabolické choroby, systémové ochorenia pojava, abúzus alkoholu a drog). Na vonkajších faktoroch sa podieľajú niektoré farmaka (kortikoidy, antibiotika, cytostatika) a poruchy slizničných bariér (napr. katétry a chirurgické výkony). Prevažná väčšina mykotických nákaz prebieha symptomaticky.⁴

K prenosu hubovej nákazy dochádza tromi základnými spôsobmi:

- Inhaláciou (vdýchnutím) huby, najčastejšie konídií (napr.: aspergilóza, infekcie spôsobené dimorfnými hubami alebo kryptokokmi)
- Kontaktom (dotykom):

1. priamym: s chorým človekom, zvierateľom či zdravým nosičom

2. nepriamym: prostredníctvom infikovaných predmetov

- Traumatom (poranením) – narušením a prekonaním prirodzenej bariéry – kože, sliznice – proti potenciálne patogénnym hubám (pôvodcovia chromoblastomykóz, feohyfomykóz, mycetómu).⁵

Typy infekcie:

Povrchové mykózy

Zo všetkých mykóz sú najbežnejšie a vo svete všeobecne rozšírené ochorenia kože, vlasov, nechtov a slizníc.

- Dermatomykózy – sú komplexné ochorenia postihujúce keratínové tkanivo vlasov a nechtov a rohovinovú vrstvu kože, vyvolávajú ich plesne zvané *dermatofyty*, ktoré kolonizujú kožu a štiepia keratín.
- Infekcie vyvolané kvasinkami – tieto infekcie postihujú kožu, nechty a sliznicu úst a pošvy, väčšinou ich spôsobujú druhy *Candida*, zvlášť *Candida albicans*, ktorá je ľudským komezálom.⁶

Podkožné mykózy

Mykózy postihujúce kožu, podkožie a kosti, ktoré sa pomaly šíria v mieste infekcie, sa vyskytujú hlavne v trópoch a subtrópoch. Hlavnými podkožnými mykózami sú mycetóm, chromomykóza a sporotrichóza.⁶

Systémové mykózy

Diseminované mykózy vznikajú obvykle po vdýchnutí spór plesní, ktoré sa saprofytycky vyskytujú v pôde a na rastlinách. Tieto mykózy, ktoré sa vyskytujú predovšetkým na americkom kontinente, sú väčšinou spôsobované dimorfnými hubami. Najdôležitejšími ochoreniami sú kokcidioidomykóza, blastomykóza, histoplazmóza a parakokcidioidomykóza.

Systémové mykózy spôsobené príležitostnými patogénmi, druhy *Aspergillus*, *Candida* a *Cryptococcus*, sú veľmi rozšírené. Tieto infekcie sa vyskytujú so zvýšenou frekvenciou u pacientov s imunitou zníženou po chorobe alebo liečbe. U pacientov po transplantácii sú ochorenia spôsobené týmito hubami najčastejšou príčinou smrti kvôli infekcii.⁶

3.2. Mykotické ochorenia a ich dostupná terapia

3.2.1. Povrchové mykózy

3.2.1.1. Kožné mykózy (syn. Dermatomykózy, Dermatofytózy, Tinea)

Tinea pedis

Postihuje plosku a medziprstie dolných končatín. V anamnéze často zisťujeme, že sa objavila už v mladom veku, spravidla v súvislosti so športovými aktivitami.⁷

- Interdigitálny typ

Je zápal s tvorbou šupiniek, pľuzgierov, ragád, macerovaných plôch s eróziou v medziprstných priestoroch nôh. Pôvodcom je buď *Trichophyton rubrum* alebo *Epidermophyton floccosum* alebo *Trichophyton mentagrophytes*.⁸ Postihuje hlavne osoby so zvýšenou potivosťou nôh. Prejavy svrbia. Po odoznení akútnej fáze zostáva suché olupovanie bez subjektívnych potiaží. V tejto forme môže tinea pedis pretrvávať dlhé desaťročia.⁷

- Hyperkeratotická forma

Je charakterizovaná červenými zhrubnutými ložiskami s drobným olupovaním. Ložiská sa objavujú na ploske, na päte a na hranách nohy („mokasínový typ“). Ochorenie spravidla nevyvoláva subjektívne potiaže a má vyslovene chronický priebeh.⁷ Často sa pripájajú podobné hyperkeratotické prejavy na jednej alebo oboch dlaniach (idová reakcia = mykid).⁸

- Vezikulobulózna forma

Prejavuje sa výsevom vezikúl a pustúl na ploskách.⁷ Ochorenie je bolestivé a obmedzuje chôdzu. Pri intenzívnejšom zápale sú prejavy zhoršované prítomnosťou idovej reakcie.⁸

Liečba Tinea pedis

Lieči sa lokálne imidazolmi alebo ciklopiroxom (**2**), popr. drahšími allylamínmi. Potrebné je dbať na voľbu galenickej formy – do medziprstia roztoky, púdre alebo gely, na suché a zošupené plochy krémy a masti. Len pri neúspechu lokálnej terapie u mokasínového typu tinea pedis je možno sa pokúsiť o liečbu perorálnu – terbinafín (**3**) 250 mg denne po dobu 2 týždne.⁷

Tinea unguium (Onychomycosis)

Prejavy začínajú od voľného okraju nechtu, ktorý sa štiepi a ulamuje. Nechtové lôžko sa uvoľňuje, nadvihuje a pod ním sú krehké hyperkeratotické masy. Najčastejším vyvolávateľom je *Trichophyton rubrum*.⁸

Liečba onychomykóz

U onychomykóz, ktoré nepostihujú viac ako 25 % plochy nechtu, má lokálna liečba šancu na úspech, pokiaľ nejde o necht palca na nohe. Býva úspešná hlavne u nechtov na rukách. U nechtov na palcoch nôh, u rozsiahlejšieho postihnutia, alebo pri postihnutí 4 a viac menších nechtov je nutná liečba perorálna. K lokálnej liečbe je nutné zvoliť antimykotikum s dobrou penetračnou schopnosťou, najlepšie roztok cyklopiroxu (2) alebo nechtový lak s amorolfínom (4). Ďalšou možnosťou je liečba spojená s chemickou keratolýzou a odstránením infikovanej časti nechtu. Tomuto účelu slúži kombinovaná masť s obsahom bifonazolu a 40 % ury. U perorálnej liečby je liekom prvej voľby terbinafín (3). Ďalšou možnosťou je itrakonazol (5). Menej účinný je flukonazol (6). Ketokonazol (7) nie je vzhľadom k vyššej hepatotoxicite k liečbe onychomykóz vhodný.⁷

Tinea corporis

Formy dermatofytózy na hladkej koži prejavujúce sa anulárnymi, circinárnymi až polycyklickými ložiskami s vyvýšeným periférnym lemom, ktorým sa ložisko šíri do okolia, a s centrálnym odhojovaním. Ložiská spravidla svrbia. Tinea vyvolaná *Trichophyton rubrum* sa prejavuje veľkými mapovitými ložiskami až plochami len s miernym zápalom, s infiltrovaným začervenaným periférnym lemom a deskvamáciou. Tejto forme sa takisto hovorí rubrophytia corporis. Postihuje osoby stredného veku, mimoriadneho rozsahu môže dosiahnuť u ľudí imunodeficitných alebo v zanedbaných prípadoch.⁷

Liečba Tinea corporis

Povrchové formy je možno liečiť lokálne krémom s obsahom imidazolu, allylamínu alebo cyklopiroxu (2). Pri generalizovanom výseve alebo pri hlbších hnisavých formách podávame terbinafín (3) alebo itrakonazol (5).⁷

Tinea cruris

Tinea cruris je klinická forma tiney, ktorá je vyvolaná výhradne antropofilnými dermatofytmi – *T. rubrum*, *T. interdigitale*, *E. floccosum*. Postihuje na prvom mieste

mladých mužov, častejšie v letných mesiacoch a po zaparení v tesnom odevu. Prejavuje sa polycyklickými až mapovitými ložiskami v trieslach s deskvamáciou a výrazným, infiltrovaným periférnym lemom.⁷

Liečba Tinea cruris

Vzhľadom k tomu, že je koža v trieslach veľmi tenká a má mimoriadne dobrú resorpčnú schopnosť, stačí k vyliečeniu vhodne zvolená lokálna liečba. Iritované lézie je možno prvé dni liečiť kombinovaným preparátom antimykotikum (bifonazol, naftifín (8)) + hydrokortison.⁷

3.2.1.2. Kandidózy kože

Povrchová kandidóza je rozšírená po celom svete. Postihuje kožu, nechty a sliznicu úst a pošvy. Infekcia slizníc sa sa bežne nazýva múčnivka.

Candida albicans sa izoluje z 80 – 90 % všetkých kandidóz. Vyskytujú sa aj iné druhy, *Candida tropicalis*, *Candida crusei*, *Candida lusitaniae*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata* a *Candida guilliermondii*.

Kandidy, hlavne *Candida albicans*, sa vyskytujú v malom množstve v komenzálnej flóre asi u 20 % populácie. Kvasinky prerastajú a spôsobujú infekciu pri zásahu do normálnej flóry alebo pri znížení celkovej rezistencie organizmu chorobou.⁶

Infekcia slizníc

Je najčastejším prejavom povrchovej kandidózy. Na sliznici sa tvoria ohraničené biele škvrny, ktoré môžu aj splyvať a vytvárať pseudomembrány tvarohového vzhľadu. Pri kandidóze dutiny ústnej sa tvoria biele škvrny na bukálnej sliznici a na tvrdom podnebí, adherujú, dajú sa však zotrieť. Okolité sliznica je začervenaná a bolestivá. Infekcia sa niekedy rozšíri na jazyk. Táto forma kandidózy sa najčastejšie vyskytuje u kojencov a starých osôb alebo u pacientov so zníženou imunitou, vrátane chorých AIDS.⁶

Vulvovaginálna kandidóza

Kandidy sú druhým najčastejším vyvolávateľom poševných infekcií (vulvovaginálna kandidóza). Predpokladá sa, že 75 % žien v reprodukčnom veku aspoň jedenkrát za život prekoná atak kandidovej infekcie.

Je niekoľko faktorov, ktoré zvyšujú frekvenciu poševnej kolonizácie kandidami. Medzi nich patrí: tehotenstvo, neliečený diabetes mellitus, kortikosteroidná terapia, imunosupresia, antibiotická liečba, terapia estrogénmi, kontracepcia, zvýšená frekvencia pohlavných stykov, pohlavne prenosné choroby, HIV infekcia atd.

Pri kvasinkovej infekcii v 85 – 90 % prípadoch zisťujeme v pošve prítomnosť kmeňu *Candida albicans*.

Ženy väčšinou prichádzajú s akútnym pruritom a výtokom. Väčšinou je popisovaný typický tvarohovitý alebo syrovitý výtok, ktorý však môže byť aj vodnatý alebo huste homogénny. Často býva prítomná bolestivosť pošvy, pálenie vulvy, dyspareunie a dysurie.

K dispozícii je celá rada lokálnych antimykotík v rôznych liekových formách. V súčasnosti sú najčastejšie používané azolové antimykotiká s účinnosťou 85 – 90 %. K najčastejšie používaným azolovým preparátom patria deriváty imidazolu – klotrimazol (**9**), mikonazol (**10**) atd.⁷

Infekcia kože a nechtov

Kandidóza kože sa vyskytuje v miestach vlhkej zapárky, v axilách, v trieslach, na perineu, pod prsiami a niekedy medzi prstami, u detí ako dermatitída pod plienkami. K infekcii nechtového lôžka, nechtu a pod nechtom dochádza pri častom máčaní rúk.⁶

Chronická kandidóza kože a sliznice

Ide o vzácnu formu kandidózy, ktorá sa objavuje v detstve a prechádza v perzistujúcu, niekedy granulomatóznou infekciou úst, kože a nechtov. Niektorí títo pacienti majú malý defekt vo funkcii lymfocytov a neutrofilov.⁶

Liečba povrchových kandidóz

Povrchové kandidózy väčšinou dobre reagujú na lokálnu terapiu nystatínom (**11**), amfotericínom B (**12**) a niektorým azolom.⁶

3.2.1.3. Ostatné povrchové mykózy

Tinea (pityriasis) versicolor

Je povrchové, málo infekčné ochorenie, charakterizované okrúhlymi škvrnami, farby zaschnutej bielej kávy. Najčastejšie sa vyskytuje na trupe. Pôvodcom je *Pityrosporon orbiculare*.⁸

Liečba Tinea versicolor

Ideálne je celotelové ošetrovanie formou imidazolového šampónu. Terbinafín (3) účinkuje veľmi dobre v lokálnej forme u pityriasis versicolor.⁷

3.2.2. Podkožné mykózy

Mycetóm

Mycetóm je chronické granulomatózne ochorenie kože, podkožia, fascie a kostí, najčastejšie na nohách a rukách. Pôvodcom je jeden alebo viac druhov aktinomycét (aktinomycetóm) alebo plesní (eumycetóm). Ochorenie sa vyskytuje najčastejšie v tropických a subtropických oblastiach Afriky, Ázie a Strednej Ameriky. Infekcia začína traumatickou inokuláciou mikrobov z pôdy alebo z rastlín trními alebo črepinami do podkožia. Ochorenie môže spôsobiť množstvo druhov rodu *Madurella*, *Exophiala*, *Acremonium*, *Actinomadura*, *Nocardia* a *Streptomyces*.⁶

Z lokalizovaných zdurených lézií sa vytvoria mnohopočetné píšťale, a to väčšinou na končatinách, ale i v inej lokalizácii. Medzi počiatočnou infekciou a vytvorením charakteristických lézií je dlhý interval. Infekcia sa obvykle nešíri, poprípade iba výnimočne.⁶

Liečba mycetómu

Aktinomycetóm reaguje dobre na kombináciu rifampicínu so sulfonamidmi alebo s kotrimoxazolom. Častá je chirurgická liečba.⁶

3.2.3. Systémové mykózy

Aspergilóza

Aspergillus je huba alebo pleseň, ktorá sa veľmi často vyskytuje v životnom prostredí. Nachádza sa v pôde, na rastlinách a v rozkladajúcich sa rastlinách. Taktiež sa nachádza v prachu v domácnosti, v stavebných materiáloch, dokonca aj v korení a v niektorých potravinách. Najčastejšími druhmi rodu *Aspergillus* sú *Aspergillus fumigatus* a *Aspergillus flavus*. Niektoré ďalšie sú *Aspergillus terreus*, *Aspergillus nidulans* a *Aspergillus niger*.⁹

Aspergillus je príčinou ochorenia aspergilóza. Existuje mnoho rôznych druhov aspergilóz. Jeden druh je alergická bronchopulmonálna aspergilóza (nazývaná aj ABPA), stav, kedy huba spôsobuje alergické respiračné symptómy, ako je dýchavičnosť

a kašeľ, ale nenapadá a neničí tkanivo. Ďalším druhom aspergilózy je invazívna aspergilóza, choroba, ktorá obyčajne postihuje ľudí s problémami s imunitným systémom. V tomto stave huba preniká a ničí tkanivá v tele. Invazívna aspergilóza najčastejšie postihuje pľúca, ale môže tiež spôsobiť infekciu v mnohých ďalších orgánoch a môže sa šíriť po celom tele.

ABPA môže ovplyvniť ľudí, ktorí sú inak zdraví, ale je najčastejšia u ľudí s astmou alebo cystickou fibrózou. Invazívna aspergilóza zvyčajne postihuje ľudí, ktorí majú ohrozené imunitné systémy, ako sú ľudia po transplantácii kostnej drene alebo pevných transplantáciách orgánov, ľudia, ktorí berú vysoké dávky kortikosteroidov, a ľudia, dostávajúci chemoterapiu (napr. pri leukémii).

Keďže *Aspergillus* je častý v životnom prostredí, väčšina ľudí dýcha spóry tejto huby každý deň. U ľudí so zdravým imunitným systémom to nespôsobuje poškodenie a samotný imunitný systém sa dokáže zbaviť spór. Avšak u ľudí s narušenou imunitou, dýchanie spór môže viesť k vzniku infekcie.

Symptómy sú rôzne, záleží na druhu aspergilózy. ABPA môže spôsobiť respiračné symptómy ako dýchavičnosť a kašeľ, dokonca aj teplotu u ľudí trpiacich astmou alebo cystickou fibrózou. *Aspergillus* taktiež môže vyvolať alergickú sínusitídu a môže spôsobiť aspergilom v pľúcach alebo iných orgánoch. Pľúcny aspergilom sa vyskytuje zvyčajne u ľudí s inými formami pľúcneho ochorenia, ako emfyzém alebo tuberkulóza. Príznaky sa vyskytnúť nemusia. Avšak niekedy môžu vykašľávať krvavý hlien. Ľudia, ktorí majú invazívnu aspergilózu v pľúcach, môžu mať príznaky, ako je horúčka, bolesť na prsiach, kašeľ a dýchavičnosť. Ďalšie symptómy sa môžu vyvinúť v prípade, že infekcia sa šíri aj mimo pľúc. V takom prípade môže ovplyvniť takmer akýkoľvek orgán v tele, vrátane mozgu.

Vorikonazol (**13**) je v súčasnej dobe liekom prvej línie u invazívnej aspergilózy. Existujú aj iné lieky, ktoré môžu byť použité na liečbu invazívnej aspergilózy u pacientov, ktorí nemôžu prijímať vorikonazol, alebo ktorí nereagujú na vorikonazol. Medzi ne patrí itrakonazol (**5**), amfotericín lipidový komplex atd. Ak je to možné, imunosupresívne lieky by mali byť zrušené alebo znížené.⁹

Kandidóza

Systémová kandidóza je buď lokalizovaná, napríklad v močovom ústrojenstve, pečeni, obličkách, na srdečných chlopniach (endokarditída), meningách, v dutine

brušnej alebo diseminovaná a spojená so sepsiou (kandidémia). Najčastejším pôvodcom je *Candida albicans*.

Systémová kandidóza vzniká, ak tieto komenzálne mikroby prerastú pri nejakom vážnom stave. Je to obvykle iatrogénna infekcia u hospitalizovaných pacientov, ktorí hostia kandidy na ústnej sliznici a v tráviacom ústrojenstve ľahšie než osoby zdravej populácie.

Kandidémia je najčastejšia u pacientov po operácii alebo pri imunosupresii. U niektorých pacientov kandidémia pomíne spontánne alebo po odstránení kontaminovaného katétru.

Miesta diseminácie sú obličky, pečeň, mozog a tráviace ústrojenstvo, pľúcne infekcie sú vzácne. Dôležitým znamením hlbokaj kandidózy sú biele lézie v oku (kandidová endoftalmitída). Endokarditída vzniká po náhrade chlopne, ďalej u narkomanov a niekedy i pri imunosupresívnej terapii.

Infekcia obličiek vzniká krvnou cestou, ascendentná infekcia je vzácna. Cystitída sa vyskytuje v spojení s permanentným katétrom, pri jeho odstránení kandidy väčšinou z moču vymiznú.⁶

Liečba systémovej kandidózy

Intravenózna aplikácia amfotericínu B (**12**) v kombinácii s flucytozínom (**14**) je pre všetky formy kandidózy metódou voľby. Flucytozín (**14**) sa neužíva ako monoterapia, pretože k nemu vzniká rezistencia. S úspechom sa taktiež lieči flukonazolom (**6**), ketokonazolom (**7**) a itrakonazolom (**5**).⁶

Kryptokokóza

Kryptokokózu spôsobuje opuzdrený kvasinkový mikrób *Cryptococcus neoformans*. Kryptokokóza je ochorenie centrálného nervového systému, aj keď primárne sú postihnuté pľúca. Vyskytuje sa sporadicky na celom svete, dnes je však najčastejšia u pacientov s AIDS.

Cryptococcus neoformans má štyri sérotypy (A, B, C, D). Infekciu vyvolávajú väčšinou typy A a D, ktoré sú normálne prítomné v exkrétoch domácich a voľne žijúcich vtákov po celom svete.

Infekcia vzniká po inhalácii buniek *Cryptococcus neoformans*, ktorý sa pravdepodobne môže pre svoje malé rozmery dostať hlboko do pľúc.

Najbežnejšou formou kryptokokózy je spontánne sa hojace pľúcne ochorenie. Symptomatické pľúcne ochorenie nemá zreteľné charakteristické diagnostické znaky.

Môže mať formu malých diskretných uzlíkov, ktoré sa hoja jazvením alebo sa zväčšujú, opuzdrujú sa a stávajú sa chronickými (kryptokokóm). Chronická meningitída alebo meningoencefalitída je zákerné ochorenie, začínajúce bolesťami hlavy a zvýšenou teplotou, nasledujú poruchy psychiky, anorexia, poruchy videnia a nakoniec kóma. Ochorenie trvá niekoľko mesiacov až rokov, a pokiaľ nie je liečené, je vždy smrteľné.

Kryptokokóza síce postihuje predovšetkým centrálny nervový systém, vyskytujú sa však pri nej takisto kožné lézie a postihuje aj sliznice, vnútornosti a kosti.⁶

Liečba kryptokokózy

Terapiou voľby je intravenózne podávanie amfotericínu B (**12**) v kombinácii s flucytozínom (**14**). Amfotericín sa pri ťažkej meningitíde podáva aj intratekálne. Pacienti s AIDS obvykle majú po liečbe relaps a častokrát ju zle znášajú. Flukonazol (**6**) sa môže podávať *per os* a je výhodný, keď sa po amfotericíne objavia vedľajšie toxické príznaky. Užíva sa taktiež pre udržiavaciu terapiu u pacientov s AIDS.⁶

Pneumocystóza

Ochorenie jedincov s oslabenou imunitou prejavujúce sa ťažkou pneumóniou. Je indikatívnym ochorením AIDS.

Pneumocystis jiroveci (carinii) je podľa súčasnej nomenklatúry radená medzi huby. Vyvoláva intersticiálnu pneumóniu s nahromadením penovitých eozinofilných bielkovinových hmôt v alveolách s obsahom cýst.

Nástup ochorenia je pozvoľný, trvá i niekoľko týždňov. Objavujú sa nešpecifické príznaky, neproduktívny kašeľ, subfebrílie, neskôr sa rozvinie ťažká dyspnoe, tachykardia a obehová nestabilita.⁴

Liečba pneumocystózy

Liekom voľby je trimetoprim-sulfametoxazol, alternatívu predstavuje pentamidín, dapson s trimetoprimom, atovachón, primachín či klindamycín. V akútnej fázi sú indikované aj kortikosteroidy.⁴

3.2.4. Nozokomiálne mykózy

Nozokomiálne infekcie vyvolané oportúnnymi hubovými patogénmi sú dôležitou príčinou morbiditu a mortality medzi hospitalizovanými pacientmi. Vyskytujú sa práve u ľudí s vážnymi základnými chorobami, u ktorých k predĺženiu života značne prispela moderná medicína, a ničí ťažko vykúpené terapeutické úspechy. Tieto ochorenia

nevykazujú žiadne charakteristické príznaky, čo činí klinickú diagnózu obtiažnu až nemožnú. Mykologická laboratórna diagnostika sa síce behom posledných desaťročí značne vyvinula, ale skoré signály týchto ochorení stále nie je schopná zachytiť. Pomerne málo je známe o epidemiológii, prenose a patogenézii nozokomiálnych mykóz. Súčasnú klinickú skúsenosť s nozokomiálnymi mykózami sú tak rozsiahle, že je nutné zvažovať rozdielnosť v jednotlivých klinických obrazoch. Riziková situácia pacientov ohrozených mykózou je primárne v stave ich obranných mechanizmov.¹⁰

Fungémie, Fungúrie – Kandidémie, Kandidúrie

Kandidémia patrí k najdôležitejším nozokomiálnym infekciám. Ide o veľmi vážne ochorenie, ktoré sa ťažko diagnostikuje a býva často refraktorné na terapii. Pacienti s nozokomiálnou kandidémiou oveľa častejšie umierajú behom hospitalizácie než pri iných infekciách krvného obehu. Klinicky sa kandidémia prejavuje tachypnoe, tachykardiou, hypertermiou, leukocytózou a oligúriou až anúriou. K pôvodcom kandidémie je nutné počítať celé spektrum kvasiniek a kvasinkovitých húb. Najčastejšia je *C. albicans*, na druhom mieste sa často objavuje *C. parapsilosis*, ktorej patogenita je nižšia, ale má silnú aderenčnú schopnosť k akrylom (katétry, sondy). Iným druhom je *C. famata*. V poslednej dobe sa objavuje až v 11 – 16 % všetkých kandidémií *C. glabrata*. Ďalším veľmi častým pôvodcom je *C. tropicalis*, a to hlavne kmene azolo-rezistentné, ktoré získavajú rezistenciu mutáciou. V rade prípadov je kandidémia vyvolaná druhmi endogénnymi, predovšetkým gastrointestinálneho traktu.¹⁰

Nozokomiálne krvné infekcie môžu byť zodpovedné za zvýšenú morbiditu u pacientov s AIDS. Rizikové faktory pre kandidémiu u týchto pacientov sú neutropénia $1000/\text{mm}^3$, prítomnosť a typ centrálného venózneho alebo močového katétru, doba zavedenia katétru, parenterálna výživa, prítomnosť nozogastrickej sondy, predchádzajúca bakteriémia, chirurgické zákroky, alkoholizmus, cirhóza, diabetes a chronické postihnutie obličiek. Pôvodcom kandidémií u AIDS pacientov je *C. albicans*, v poslednej dobe stúpa výskyt non-albicans druhov. Mortalita kvôli kandidémii u týchto pacientov je medzi 20 – 80 %. Kandidémia je potencionálne letálna nozokomiálna komplikácia neskorého štádia AIDS u dospelých pacientov. Málo je ale známo o kandidémii, respektíve fungémii u detí infikovaných HIV. Najväčším rizikovým faktorom u nich je centrálny venózny katéter používaný pre parenterálnu aplikáciu ATB, infúziu zidovudínu a parenterálnu výživu. Pôvodcom vedľa kvasinkových druhov sú aj vláknité huby *Bipolaris spicifera*.¹⁰

Skorá diagnóza, zavedenie amphotericínu B (12) a odstránenie centrálneho venózneho katétru vedie v rade prípadov k likvidácii infekcie. Vhodnejší než klasický amphotericín B je lipidový komplex amphotericínu B zvlášť pre zníženú nefrotoxicitu.¹⁰

Kandidové močové infekcie sa zvýšili dramaticky v posledných 20 rokoch, zvlášť pri trvalých katéetroch. Veľkým klinickým problémom je rozhodnutie, či kandidúria predstavuje infekciu močového traktu, alebo iba kolonizáciu alebo kontamináciu. Kandidúria môže signalizovať rôzne patologické stavy vrátane invazívneho obličkového parenchymatózneho ochorenia „fungus ball“ v uteru, povrchové infekcie dolnej časti močového traktu spojené s katetrizáciou. Množstvo pacientov má ale takisto asymptomatickú kandidúriu. Symptomatická kandidúria vyžaduje terapiu, u asymptomatickej nie je vyjasnené, či a kedy sa má zahájiť terapia. Dajú sa použiť výplachy amfotericínom B (12) alebo flukonazol (6).¹⁰

Nozokomiálne mykózy na jednotkách intenzívnej starostlivosti (JIS)

Na JIS sú ťažké infekcie najčastejšou príčinou úmrtia. Každá sepsia alebo nozokomiálna infekcia znamená pre pacienta na JIS značné zhoršenie prognózy. Prvotné príznaky sepsy sú často nešpecifické. Klinický obraz ochorenia je väčšinou mnohoznačný takže čiste klinická diagnóza nie je možná. Vyžaduje spravidla mikrobiologický dôkaz huby. Je nutné však zobrať do úvahy, že kandidy môžu byť vykultivované aj zo vzoriek zdravých indivíduí, alebo u pacientov bez známkov infekcie. Preto u pacientov na JIS je interpretácia pozitívneho nálezu veľmi obtiažna. Klinický obraz je mnohotvárný. Najrýchlejší a väčšinou fatálny priebeh vykazujú ťažké infekcie pod obrazom sepsie, pri ktorej môžu byť postihnuté všetky orgány, a ku ktorej dochádza väčšinou u imunosuprimovaných pacientov.¹⁰

Pre zamedzenie hubových infekcií na JIS má najväčší význam striktné dodržiavanie hygienických zásad, aby sa zamedzil prenos infekcie medzi pacientmi. Je nutné znížiť alebo zamedziť výskyt bakteriálnych infekcií a s tým súvisiace zníženie používania antibiotík. Veľmi dôležité je takisto znížiť na minimum individuálne rizikové faktory. Lokálna medikamentózna profylaxia sa nedá na JIS všeobecne doporučiť. Je možné použiť lokálne antimykotiká u adipózných pacientov, ku zníženiu kolonizácie zažívacieho traktu sa dá doporučiť amphotericín B (12) vo forme pastiliek. Riziko hubových pneumónií sa dá znížiť inhaláciou amphotericínu B. Pre systémovú medikamentóznu profylaxiu hubových infekcií na JIS nie sú zatiaľ žiadne indikácie. Výnimkou sú pacienti HIV pozitívni, pacienti s granulocytopéniou a pacienti po

transplantácii kostnej drene. V týchto prípadoch sa najlepšie hodí flukonazol (6), výnimočne amfotericín B. Je nutné ale zvážiť dávky, pretože je tu veľké nebezpečenstvo vznikajúcej rezistencie.¹⁰

Ako terapia na JIS prichádzajú do úvahy 3 preparáty: amfotericín B (12), flukonazol (6) a flucytozín (14). S podávaním sa má začať pred prepuknutím sepsie.¹⁰

Nozokomiálne mykózy v očnom lekárstve

Nozokomiálne mykózy v očnom lekárstve sa týkajú endogénnych metastatických hubových infekcií vnútorného oka – endofthalmitis. Z rady pôvodcov je najdôležitejší *C. albicans*. Vyvoláva cez 70 % všetkých nozokomiálnych infekcií. Oftalmologické vyšetrenie má veľký význam, pretože nález endoftalmitídy môže odkryť fatálnu sepsiu.¹⁰

Kandidová endofthalmitis prebieha týždne až mesiace. Spočiatku nie sú bolesti a videnie sa stráca pomaly, neskôr sa objavuje začervenanie, fotofóbia a bolesť. Pri oftalmologickom vyšetrení očného pozadia sa nájdu jednotlivé alebo mnohotné biele guľaté infiltráty. Ložiska sa rozširujú aj do sklivca a vyvolávajú tam žltobiele zákaly (abscesy). K neskorším následkom patrí glaukom a bolestivá phthisis bulbi.¹⁰

Nozokomiálne infekcie v kardiochirurgii

Predtým vzácne endokarditídy sa v posledných desaťročiach vyskytujú veľmi často, čo súvisí s modernou terapiou, zvlášť však s implantáciou umelých chlopní. Iba v USA je ročne implantovaných 100 000 umelých chlopní.¹⁰

Čo sa týka patogenézy, zmeny vaskulárneho endotelu, silný prúd krvi na choré chlopne alebo chlopňové protézy vyvolávajú ukladanie trombocytov a fibrínu na chlopniach. K infekcii dôjde behom fungémie, keď v krvi kolujúce hubové agens sa uchytí na uloženiach trombocytov a fibrínu. Po implantácii umelých chlopní sa riziko vzniku endokarditídy značne zvyšuje ak je fungémia pozitívna. Východiskovým mechanizmom pre generalizovanú mykózu môžu byť močové katétre, chlopňové protézy, endotracheálna intubácia, na ktoré dobre adheruje *C. albicans*. *C. albicans* adheruje ako na endotel, tak na uložený fibrín. Adherencia sa deje cez glykoproteínny povrchu, ktoré obsahujú rôzne množstvo mananov a proteínov, pričom fibronektín platí za hlavný tkanivový receptor. Pre priebeh hubovej endokarditídy je dôležité, že kandidy po kolonizácii chlopňovej protézy vytvárajú biofilm, pozostávajúci z vrstvy buniek zahrnutých v extracelulárnej matrix. Uvoľnenie kandid z tohto filmu spôsobí na jednej

strane disemináciu a na druhej strane sú tieto kandidy extrémne odolné proti obranným mechanizmom a antimykotikám.¹⁰

Pre terapiu kandidových infekcií je preto dôležité odstránenie biofilmov tj. odstránenie katétrov a umelých chlopní. Prognóza hubovej endokarditídy na umelých chlopmiach je omnoho horšia než bakteriálna. Vyliečenie hubovej endokarditídy cez modernú terapiu a implantáciu homologného tkaniva nedosahuje 50% úspešnosti.¹⁰

Možnosti antimykotickej terapie u nozokomiálnych mykóz

Amfotericín B

Amfotericín B (12) je najdlhšie používaným preparátom so širokým spektrom účinnosti na kvasinky, vlákňité huby, ale i na iné druhy. Má však radu nežiadúcich účinkov. Krátko po infúzii sa objavujú prudké akútne reakcie, triaška, horúčka, zvracanie, hnačky. Renálne komplikácie môžu byť zmiernené infúziou fyziologického roztoku pred aplikáciou amfotericínu B.¹⁰

Lipozomálny amfotericín B

Lipozomálny amfotericín B je moderná menej toxická, avšak veľmi drahá alternatíva. Opuzdrené lipozómy znižujú nielen vedľajšie účinky, ale prispievajú k lepšiemu prenikaniu do lipoidných tkanív. Tým má byť docielená silnejšia efektívnosť. Vedľajšie účinky nie sú pozorované.¹⁰

Flucytozín

Flucytozín (14) sa vždy používa v kombinácii s amphotericínom B. Jeho samostatné použitie je limitované rýchlym vývojom rezistencie. Klinické výhody kombinácie ale nie sú dokázané, sú však znížené vedľajšie účinky amphotericínu B. K tomu prispieva vysoký obsah dusíku u flucytozínu, ktorý snižuje vedľajšie renálne účinky.¹⁰

Flukonazol

Flukonazol (6) je výborne účinný na kvasinky vrátane *Cryptococcus neoformans*. Vedľajšie účinky sa objavujú len príležitostne a to nevoľnosť, bolesti brucha, hnačka, nafúknutie, bolesti hlavy, ekzém, výnimočne vzostup transamináz. U flukonazolu nedochádza k žiadnemu toxickému efektu na obličky.¹⁰

3.2.5. Importované mykózy

Niektoré mykózy sú označované za tropické, pretože ich pôvodcovia, vyžadujúci určité zloženie pôdy alebo určitú klímu, sa vyskytujú endemicky iba v určitých oblastiach tropických alebo subtropických.¹¹

Blastomykóza severoamerická (Gilchristova coroba, Chicagska choroba)

Blastomykóza je chronické granulomatózne a hnisavé ochorenie postihujúce primárne pľúca, kožu a u mužov urogenitálny trakt. Menej často bývajú postihnuté ostatné orgány. Blastomykóza je endemická v juhovýchodných a stredných oblastiach USA, okolo Michiganského jazera, v Minnesote, v severnej Dakote a v okrajových provinciách Kanady. Zdrojom infekcie sú pôda, psi, kone a holuby. Pôvodcom je dimorfná huba *Blastomyces dermatitidis*. Klinické formy sú chronická kožná a kostná, primárna pľúcna a systémová. Terapiou u kožnej formy je jodid draselný kombinovaný s ožiarením a desenzibilizáciou. U systémovej sa užíva 2-hydroxystilbamidín.¹¹

Lobomykóza

Je to chronické ochorenie kože prechádzajúce vo fibrózne tumory alebo keloidy. Vyskytuje sa v Brazílii, Venezuele, Paname, Kostarike, Hondurase, centrálnej Kolumbii, Suriname, Mexiku i v ďalších oblastiach Ameriky. Pôvodcom je *Glenospora loboii*. Zdrojom je pôda. Huba vniká do kože traumatom. Je to ochorenie kože, zriedka postihuje regionálne uzliny. Kožné lézie sa podobajú keloidom, tvorí 1 – 2 uzly hnedavej farby, lesklé, tvrdé, niekedy môžu uzly splývať. Ochorenie môže trvať až 30 rokov. Uzly v rannom štádiu sa dajú odstrániť chirurgicky, inak sa lieči ketokonazolom (7) a amfotericínom B (12).¹¹

Histoplazmóza

Histoplazmóza je charakterizovaná tvorbou granulomatózných lézií, ktoré sa opuzdrujú a stávajú sa antigénne pôsobiacim materiálom po dlhú dobu. Histoplazmóza je ochorenie tropických a teplých oblastí. Je endemické vo východnej polovici USA a takmer v celej oblasti Strednej a Južnej Ameriky, v juhovýchodnej časti Ázie, v strednej a južnej Afrike. Hlavným zdrojom je pôda obsahujúca kurací trus. Pôvodcom je *Histoplasma capsulatum*. Predispozíciou je imunitný deficit, AIDS, kortikosteroidy,

malígna hemopatia. Ako terapia sa používa amfotericín B (12), ketokonazol (7), ethylvanilát a chirurgické ošetrovanie.¹¹

Kokcidioidomykóza

Kokcidioidomykóza je najinfekčnejšia zo systémových mykóz. Ide o chronické alebo subakútne ochorenie postihujúce v prvom rade pľúca ale aj iné orgány. V 60 % prebieha ako ochorenie asymptomatické, v 40 % sa 1 – 3 týždne po expozícii objavujú primárne infekcie s kašľom, horúčkami, malátnosťou, arthralgiou, erythema nodosum, alebo multiforme. Menej obvyklá je akútna pneumónia. Endemické ložiská sú na juhozápade USA, v severnom Mexiku, vo Venezuele, Bolívii, Paraguayi, Argentíne. Vysoko endemické ložiská sú v San Joachim Valley v Kalifornii. Zdrojom je pôda kontaminovaná hubou, prach obsahujúci infekčné arthrospóry. Prenos sa deje inhaláciou alebo traumatom, tomu nasvedčuje najčastejší výskyt prípadov v období sucha a najmenej v období dažďa. Pôvodcom je *Coccidioides immitis*, ktorý najčastejšie spôsobuje primárnu pľúcnu kokcidioidomykózu. Asi 60 % ochorení prebieha asymptomaticky a infekcia sa diagnostikuje až podľa postupne sa vyvíjajúcej pozitivity na kokcidioidin. *C. immitis* je v endemických oblastiach inhalovaná s prachom a príznaky sa prejavujú po 10 – 14 dňoch (mierna respiračná infekcia, subfebrília, suchý kašeľ, potenie, bolesti hlavy, časté sú silné bolesti na hrudi pripomínajúce koronárne bolesti, fraktúry rebier, nefrolitiáza). U čierneho obyvateľstva je progresia choroby 10krát častejšia než u belochov. Malígna forma môže trvať niekoľko mesiacov až rok. Pacient má trvalé subfebrílie, anorexiu, rapídne ubúda na váhe a na sile. Objavuje sa dyspnoe a cyanóza s postupom pľúcnej infiltrácie. S progresiou choroby sú postihnuté kosti, kĺby, koža, podkožie, vnútorné orgány, mozog, meningy a oči. Meningitis sa zistí asi u 25 % pacientov, behom postihnutia CNS môže dôjsť k encephalitis a vasculitis.¹¹

Všetci imúnne alterovaní pacienti s primárnou infekciou majú byť liečení, aby sa predišlo diseminácii alebo progresii. Ak je to možné, majú sa vysadiť imunosupresíva, pretože pre zvládnutie kokcidioidovej infekcie je rozhodujúca imunologická odpoveď hostiteľa. K terapii sa používa flukonazol (6), itrakonazol (5), mikonazol (10), ketokonazol (7) a amfotericín B (12). Uvažuje sa o terapii vakcínou pripravenou zo sférul *C. immitis*.¹¹

Maduromykóza (Mycetóm)

Ide o chronický progresívny hubový tumor podkožného tkaniva napádajúci kosť. Mycetóm je považovaný za najčastejšiu hlbokú mykózu. Zdroj je exogénny. Výskyt je v Indii, Afrike, Európe, Južnej Amerike, Mexiku, Kanade, južnej oblasti USA. Pôvodcovia patria do radu *Ascomycetes* a *Deuteromycetes* a sú charakterizovaní zrnami v sekréte píšťaľi. Choroba pokračuje pomaly a je charakterizovaná obdobiami remisie a relapsov. Lézie môžu na mesiace i roky vymiznúť, než je zachvátená celá noha a vytvorí sa charakteristický obraz. Pri postupu infekcie do hĺbky je zasiahnuté svalstvo, kosti, fascie, šlachy, noha je opuchnutá a zdeformovaná, až 3krát väčšia než normálne. Choroba progreduje a vedie k smrti bakteriálnou superinfekciou, ak nie je proces zastavený amputáciou. Na terapiu sa používa amfotericín B (12), ketokonazol (7), itrakonazol (5) a chirurgia.¹¹

Penicillióza

Penicillióza je systémové mykotické ochorenie charakterizované lymfadenopatiou a hepatosplenomegáliou s tendenciou veľmi rýchle diseminovať. Ochorenie je endemické v juhovýchodnej Ázii a v Číne. Pôvodcom je dimorfná huba *Penicillium marneffei*. Krátko po nákaze sa objavujú horúčky, trvalý kašeľ, úbytok na váhe, lymfadenopátia, hepatosplenomegália, kožné lézie a u diseminovaných foriem osteolytické lézie, dochádza ku dráždeniu periostu, otokom mäkkých častí a rozpadu v bolestivé lézie. U pacientov s AIDS sa navyše objavuje žltáčka, erytematózna vyrážka a poškodenie obličiek. Mortalita u pacientov bez AIDS dosahuje 91,3 %, u pacientov s AIDS 100 %, pokiaľ nie je včas zavedená terapia. Na terapiu sa používa amfotericín B (12), itrakonazol (5) a ketokonazol (7).¹¹

Sporotrichóza

Sporotrichóza je subakútna alebo chronická infekcia charakterizovaná vývojom nodulárnych lézií v lymfatických uzlinách, na koži a podkoží, ktoré prechádzajú v nebolestivé ulcerácie. Vyskytuje sa v Amerike, hlavne v stredných častiach USA, v Európe najviac prípadov bolo popísaných vo Francúzsku. Zdrojom je drevo, pôda a rastliny. Pôvodcom je *Sporothrix schenckii*. Najrozšírenejšou formou sporotrichózy na celom svete je kožná lymfatická sporotrichóza. Bránou vstupu je koža, začína obvykle na ruke, častejšie na pravej než ľavej a na prstoch. Vytvorí sa tvrdý, sférický uzol, ktorý neadheruje ku koži v okolí, neskôr dochádza k adherencii. Koža je spočiatku ružová,

potom červená a nakoniec čierna a nekrotizuje. Behom niekoľkých dní alebo týždňov sa objavia mnohpočetné podkožné uzly v priebehu lymfatických dráh. Na terapiu sa používajú jodidy v rýchle rastúcich dávkach, dihydroxystilbamidín, amfotericín B (12), 5-fluórcytozín (14).¹¹

Chromomykóza

Chromomykóza je chronické granulomatózne ochorenie. Obvykle je patologický proces obmedzený na kožu a podkožie. Charakteristické kožné uzly, väčšinou jednostranné, sa vyvíjajú veľmi pomaly. Chromomykóza sa vyskytuje predovšetkým v tropických a subtropických krajinách. Huby žijú saprofytycky na pokožke a kôre niektorých bylín a stromov, na dreve, v pôde a v osích hniezdach. Človek sa nakazí obvykle traumatom. Hovorí sa preto o mykóze zo zranenia. Za pôvodcu je považovaných 6 druhov. 5 druhov je vláknitých (*Phialospora pedrosoi*, *Ph. verrucosum*, *Ph. compactum*, *Cladosporium carrionii* a *Exophiala spinifera*) a jeden druh dimorfný (*Phialophora dermatitidis*). Klinickým obrazom sú lézie, ktoré môžu byť bradavčité, tuberkuloidné, zjazvené a tumorózne. Na povrchu lézií sa nachádzajú charakteristické „black dots“ (čierne bodky). Chromomykóza však už naďalej nemôže byť považovaná za ochorenie obmedzené iba na koži. Môže napádať takisto cievny systém, vyvolať lymfadenitis, stázu lymfy s následnou elefantiázou v dôsledku silnej fibrózy v hĺbke tkaniva. Terapia sa vykonáva viacerými spôsobmi, aplikáciou jodidu draselného, miestnou infiltráciou amfotericínom B (12) a ketokonazolom (7).¹¹

3.3. Antifungálne látky používané v súčasnej terapii

Amfotericín B

Amfotericín A a B sú antifungálne antibiotika, produkované *Streptomyces nodosus*, ktorá bola izolovaná v roku 1956. Zatiaľ čo amfotericín A sa vďaka svojej toxicite do praxe nedostal, amfotericín B (12) je spoločne s flucytozínom používaný pri terapii systémových infekcií už od 60. rokov. Jeho amfoternú molekulu tvorí makrocyklický laktónový kruh obsahujúci v jednej časti konjugované dvojnásobné väzby a v druhej polyhydroxylový polárny reťazec. K hydrofilnej časti skeletu je ešte pripojená jedna voľná karboxylová skupina a jedna glykozidicky viazaná molekula mykosamínu. Ale aj napriek tomu je amfotericín B vo vode nerozpustný.¹²

Mechanizmus antifungálneho účinku amfotericínu B spočíva vo väzbe na ergosterol obsiahnutý v bunkovej membráne húb. Táto väzba má za následok vytvorenie póru v membráne, čo vedie k úniku dôležitých intracelulárnych iónov a molekúl. Vďaka tomu pôsobí prevážne fungicídne a má široké spektrum účinku. Pri dlhodobjšom podávaní dochádza k vývoju rezistencie v omnoho menšej miere než u iných antimykotík. Tato prípadná rezistencia je daná znížením množstva ergosterolu v membráne či modifikáciou jeho štruktúry.¹²

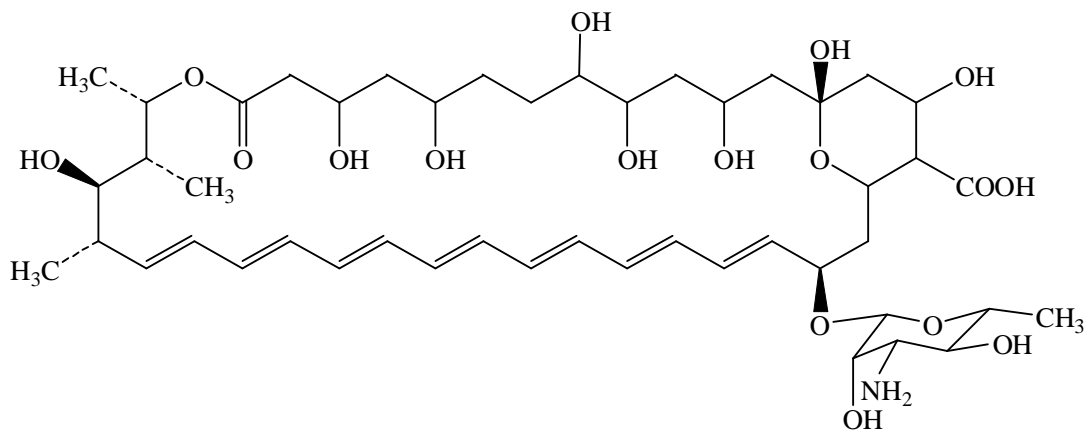
Po perorálnej aplikácii sa amfotericín B takmer nevstrebáva, preto sa podáva iba parenterálne ako pomalá infúzia. Distribúcia do menej prekrvených tkanív a ostatných telesných tekutín je dosť nízka, naviac sa silne (až z 99 %) viaže na bielkoviny krvnej plazmy. Injikované liečivo sa vylučuje močom a žlčou veľmi pozvoľna. Zbytky látky sú vylučované mnoho dní až týždňov po ukončení terapie. Podávanie amfotericínu je spojené s početnými nežiadúcimi účinkami, z ktorých najzávažnejší je nefrotoxicita.¹²

Toxické pôsobenie sa dáva do súvislosti so schopnosťou amfotericínu B viazať sa do určitej miery i na cholesterol, ktorý je obsiahnutý v membránach živočíšnych buniek. Molekula hubového ergosterolu má cylindrickú trojrozmernú štruktúru, zatiaľ čo u cholesterolu má sigmoidálny tvar. Tento rozdiel v konformácii pravdepodobne stačí k vysvetleniu väčšej afinity amfotericínu B k ergosterolu než cholesterolu. Rozdiel v konformácii a vyšší pomer ergosterolu k fosfolipidom v bunkovej membráne húb (než pomer cholesterolu k fosfolipidom v membráne cicavčích buniek) je základom pre antifungálnu selektivitu amfotericínu B. Nič menej táto selektivita nie je až tak vysoká a umožní amfotericínu B byť potenciálne toxický aj pre cicavčie bunky.¹²

Aj napriek uvedeným nevýhodným vlastnostiam je amfotericín B stále považovaný za zlatý štandard v liečbe hlboko uložených infekcií spôsobených vláknitými hubami (napr. *Aspergillus*, *Mucor*) a v liečbe systémových kandidóz u neutropenických pacientov. Je najčastejšie používaným liekom v empirickej terapii mykotických infekcií u febrilných neutropenických pacientov.¹²

Pokusy o modifikáciu štruktúry s cieľom znížiť toxické účinky a vylepšiť farmakokinetický profil neviedli k uspokojuvemu cieľu. Avšak určitý pokrok bol dosiahnutý technologickou úpravou liekových foriem. Okrem konvenčného amfotericínu B (koloidná suspenzia s deoxycholovou kyselinou) sú v súčasnej dobe dostupné ďalšie tri formy s výhodnejšími vlastnosťami: amfotericín B v koloidnej disperzii s cholesteryl-sulfátom (ABCD), amfotericín B inkorporovaný do lipozómu (AmBi), agregáty amfotericínu B stabilizované pomocou lipidov (ABLC). Takto

upravený amfotericín B sa po parenterálnej aplikácii uvoľňuje z vehikula ďaleko pomalšie, neviaže sa tak silno na plazmatické bielkoviny a lepšie preniká do tkanív. Pôsobí menej toxicky, ale je rovnako účinný ako konvenčný. Navyiac u ťažších prípadov je možné podávať vyššie dávky. Výskum sa zaoberá aj ďalšími možnosťami technologickej úpravy (napr. kochleát-amfotericín B, pevné lipidové nanočastice).¹²



12

Lipozomálny amfotericín B

Použitie tradičného amfotericínu B deoxycholátu (AmBD) je limitované značnou toxicitou, ktorá buď súvisí s použitím vo forme infúzie, alebo so zlyhaním obličiek. Jeho lipidové deriváty, najmä lipozomálny amfotericín B (LAmB), sú menej nefrotoxicke pri zachovaní širokého antimykotického spektra. LAmB je účinný na väčšinu druhov rodu *Candida* spp., vrátane *Candida glabrata*, ktorá môže byť rezistentná na flukonazol. LAmB je taktiež účinný na druhy rodu *Cryptococcus* spp. a na všetky dimorfne huby, vrátane druhu rodu *Histoplasma*, *Blastomyces*, *Coccidioidomyces*, a *Paracoccidioidomyces*. Ďalej je účinný na druhy rodu *Aspergillus* spp. a zygomycéty.

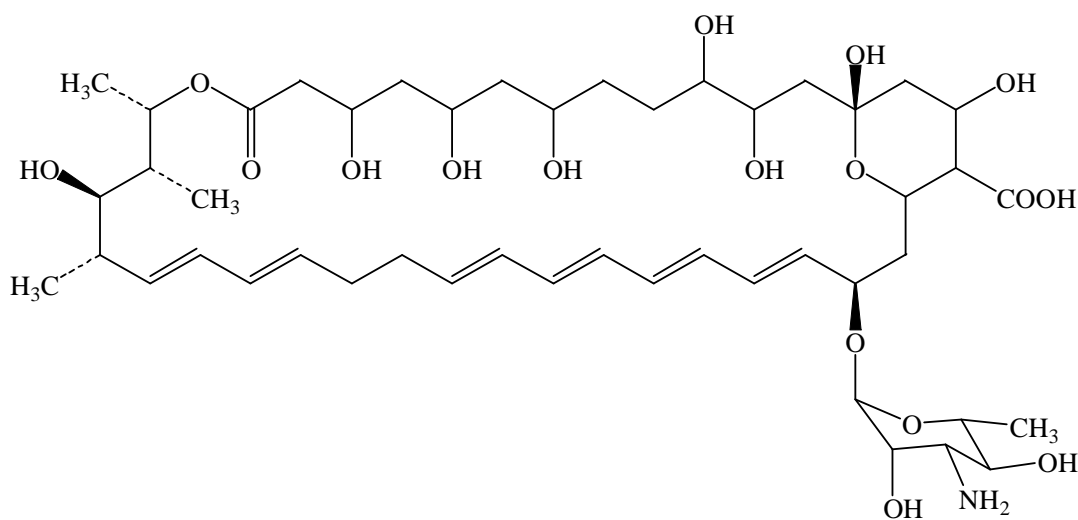
V roku 1991 bola prvýkrát študovaná účinnosť LAmB u invazívnej kandidózy. Dvadsaťpäť pacientov so základnou chorobou bolo liečených LAmB 0,5 – 5 mg/kg/deň po intolerancii AmBD. Vyliečilo sa 76 % pacientov.

Wingard *et al.* ukázali, že LAmB je lepšie tolerovaný ako amfotericín B lipidový komplex (ABLC), ktorý je ďalšia široko komercializovaná amfotericín B lipidová formulácia v Európe. U pacientov liečených ABLC bol zaznamenaný častejší výskyt nefrotoxicity ako u tých liečených LAmB.

LAmB môže byť použitý ako úžitočná alternatíva v liečbe kandidémie u pacientov s renálnym poškodením, taktiež ako liečba *Candida* meningitídy a endokarditídy. LAmB je momentálne liečivo prvej voľby u diseminovanej histoplazmózy u HIV-pozitívnych alebo HIV-negatívnych pacientov, a u kryptokokovej meningitídy u pacientov s renálnym poškodením. Liečivo je veľmi vhodné na liečenie invazívnej aspergilózy v prípadoch, kde je riziko interakcií liečivo-liečivo, a pre pacientov s pečnovou nedostatočnosťou alebo azolovou netoleranciou. U zygomykóz by sa mali podávať vysoké dávky LAmB. LAmB je taktiež vhodný na empirickú liečbu perzistujúcej neutropénie.¹³

Nystatín

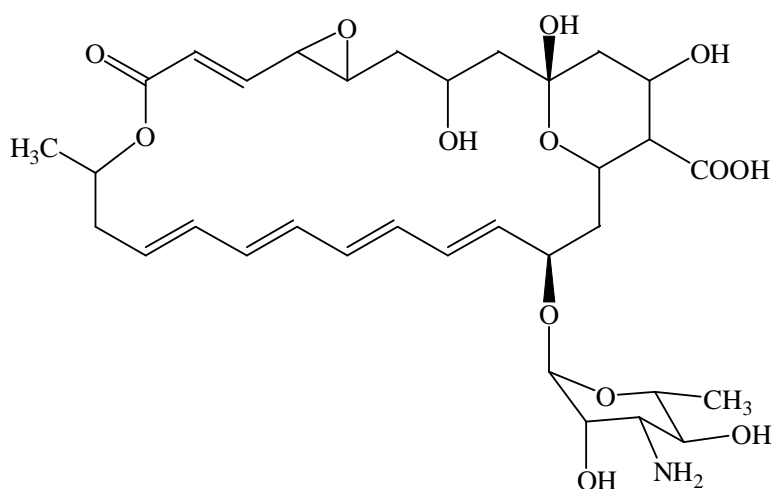
Nystatín (**11**) je polyénové antibiotikum s fungistatickým až fungicídny účinkom produkovaný kmeňom *Streptomyces noursei*. Do spektra jeho účinku patria hlavne kvasinkové mikroorganizmy rodu *Candida*, *Rhodotorula*, *Torulopsis* a *Trichosporon*. Nystatín je indikovaný u povrchových kandidóz a k doplneniu liečby vaginálnymi tabletami pri pošvovej kandidóze.¹⁴



11

Natamycín

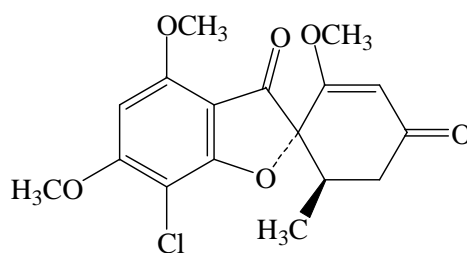
Natamycín (**15**) je lokálne polyénové antibiotikum izolované z aktinomycéty *Streptomyces natalensis*. Mechanizmus fungistatického účinku spočíva vo väzbe na membránu húb. Natamycín sa viaže na ergosterol. Pôsobí proti širokému spektru húb, ale terapeuticky sa využíva proti kandidám a *Trichomonas vaginalis*.¹⁴



15

Griseofulvín

Griseofulvín (**16**) je veľmi zle rozpustné fungistatikum izolované z jedného druhu penicília. Používa sa iba k systémovej terapii dermatofytóz. Mechanizmus účinku na bunkovej úrovni nie je jasný, ukladá sa však v novo sa tvoriacej koži, kde sa viaže na keratín a chráni kožu pred novou infekciou. Pretože pôsobí preventívne, zabraňuje infekcii týchto nových štruktúr, musí sa podávať po dobu 2 – 6 týždňov, aby sa pri infekciách kože a vlasov umožnilo nahradiť infikovaný keratín odolnými novými štruktúrami. Často vzniká recidíva. Nežiaduce účinky sú alergický syndróm, hepatitída a liekové interakcie s warfarínom a fenobarbitalom.¹⁵

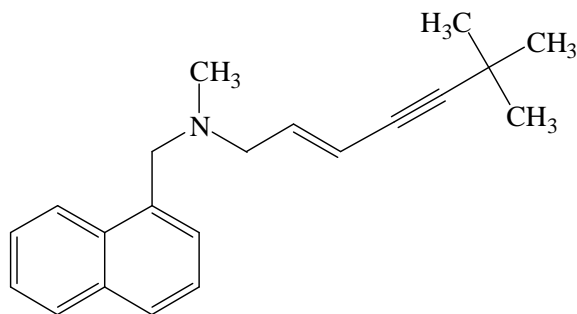


16

Terbinafín

Terbinafín (**3**) je syntetický allylamín, ktorý je k dispozícii vo forme perorálneho prípravku. Používa sa k liečbe dermatofytóz, predovšetkým onychomykóz. Je podobne ako griseofulvín keratofilný, na rozdiel od griseofulvínu pôsobí fungicídne. Interferuje

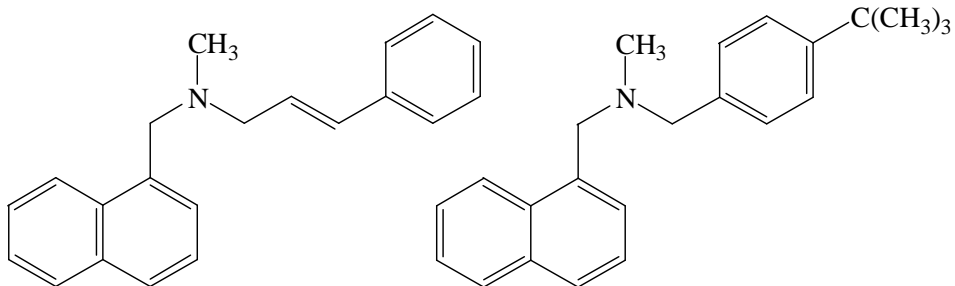
podobne ako azoly s biosyntézou ergosterolu, ale skôr akoby ovplyvňoval systém P450, inhibuje skvalenepoxidázu, enzým bunky húb. Inhibícia tohto enzýmu spôsobí akumuláciu sterolu skvalenu, ktorý je pre mikroorganizmus toxický. Nežiaduce účinky sa vyskytnú vzácnne, ide hlavne o gastrointestinálnu nevoľnosť a bolesti hlavy.¹⁵



3

Naftifín a butenafín

Naftifín (8) a butenafín (17) sú štruktúrou a mechanizmom účinku príbuzné terbinafínu. Aplikujú sa lokálne k liečbe kožných infekcií, hlavne dermatofytóz. Naftifín navyše pôsobí protizápalovo.¹²



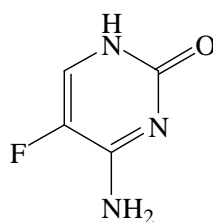
8

17

Flucytozín

Flucytozín (14) pôsobí fungistaticky využitím biochemickej zvláštnosti niektorých húb. Predovšetkým je prítomný enzým (cytozíndeamináza), ktorý deamináciou premieňa cytozín na uracil, ten sa potom využíva na syntézu RNA. Analogicky sa 5-fluorocytozín premieňa na 5-fluorouracil, ktorý pôsobí ako antimetabolit pri syntéze nukleových kyselín. Flucytozín sa enterálne dobre resorbuje. Indikácie sú infekcie kandidami a *Cryptococcus neoformans*. Osvedčuje sa kombinácia nižších dávok

s amfotericínom B. Z nežiadúcich účinkov sa môžu objaviť gastrointestinálne obtiaže, poruchy funkcie pečene a závažné zmeny krvného obrazu.¹⁶



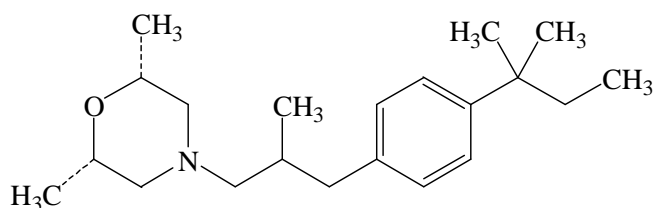
14

Amorolfín

Amorolfín (**4**), jediný používaný zástupca zo skupiny derivátov fenylmorfolínu, bol zavedený do praxe v polovici 80. rokov 20. storočia.¹²

Inhibuje syntézu ergosterolu na ďalšom stupni za miestom pôsobenia azolov. Deje sa tak v dvoch krokoch a to inhibíciou enzýmu Erg24p ($\Delta 14$ -reduktázy) a Erg2p ($\Delta 8$ - $\Delta 7$ -izomerázy). Výsledkom je nedostatok ergosterolu a kumulácia $\Delta 14$ -ignosterolu v plazmatickej membráne. Pôsobí fungistaticky až fungicídne a má široké spektrum účinku (kvasinky, dermatofyty a dimorfné huby).¹²

V experimentálnych modeloch systémových mykóz nevykazoval amorolfín významnú aktivitu. Používa sa iba k lokálnej liečbe superficiálnych mykóz. Dobre prestupuje do hmoty nechtu, preto sa používa hlavne k liečbe onychomykóz, kde sa aplikuje vo forme laku.¹²



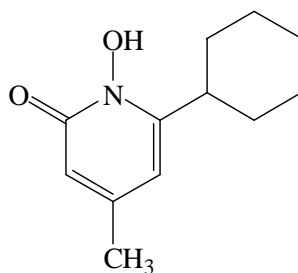
4

Ciklopirox

Tento derivát *N*-hydroxypyridónu je fungicídne antimykotikum so širokým spektrom aktivity (*Candida*, *Epidermophyton*, *Microsporium*, *Trichophyton* spp. a *Malassezia furfur*).¹²

Mechanizmus antimykotického účinku ciklopiroxu (2) je veľmi komplexný a zasahuje do rôznych metabolických procesov fungálnych buniek. Princiálne je založený na vysokej afinite ciklopiroxu k trivalentným katiónom kovov (napr. Fe^{3+} , Al^{3+}), ktoré bývajú často dôležitými kofaktormi enzýmov. Väzbou na ne teda dochádza k inhibícii týchto enzýmov. Tak je napríklad znížená aktivita kataláz a peroxidáz, ktoré sú zodpovedné za intracelulárne odbúravanie toxických peroxidov. Ciklopirox takisto poškodzuje metabolizmus mykotických buniek pôsobením na ich transportné mechanizmy umiestené v bunkovej membráne. Tento špecifický spôsob účinku ciklopiroxu svedčí o nízkom riziku rozvoja rezistencie a minimalizuje riziko zkríženej rezistencie s inými antimykotikmi.¹²

Ciklopirox sa používa iba lokálne. Má vysokú penetračnú schopnosť, preniká dobre aj do silne zrohovatelej kože a nechtov.¹²



2

Azolové antimykotiká

Aj keď prvá správa o antifungálnej aktivite azolovej zlúčeniny (benzimidazolu) pochádza z roku 1944, začal sa výskum viac zaujímať o azolové zlúčeniny až po roku 1958, kedy bol do praxe zavedený chlormidazol (derivát benzimidazolu). Ten sa uplatnil hlavne proti dermatofytom, ale i proti grampozitívnym baktériám. V polovici 60. rokov bola zaznamenaná antimykotická aktivita aj u iných derivátov imidazolu (napr. anthelmintík thiabendazolu, tetramizolu, mebendazolu), a v neskorších rokoch (koncom 60. rokov) bolo vyvinuté množstvo imidazolových antimykotík (klotrimazol, mikonazol, ekonazol). V roku 1977 bol vyvinutý ketokonazol, prvé perorálne podávané systémové azolové antimykotikum. Výmenou imidazolového kruhu za triazolový bola získaná v polovici 80. rokov nová skupina azolových antimykotík (triazoly), vhodná hlavne pre systémové podávanie.¹²

Antimykotiká typu azolov sa teda delia podľa centrálneho päťčlenného heterocyklu na staršie deriváty imidazolu a na novšie deriváty triazolu, obsahujúce jeden či dva triazolové kruhy. Pre účinok sú esenciálne atómy dusíku (u imidazolu v polohe 3, u triazolu v polohe 4), ktoré sa zúčastňujú väzby na cieľovú molekulárnu štruktúru. Bohatá substitúcia lipofilnými skupinami je výhodná pre priechod cez bunkové membrány.¹²

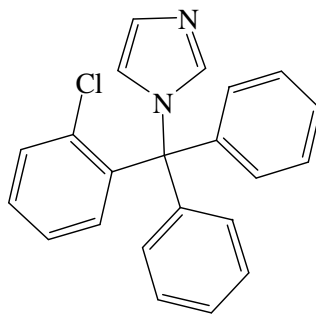
Fungistatické pôsobenie azolov je spojené s narušením syntézy ergosterolu inhibíciou 14 α -demethylácie lanosterolu, u niektorých druhov húb tiež inhibíciou neskoršieho kroku Δ 22-desaturácie. Nedostatok ergosterolu v plazmatickej membráne a jeho náhrada neobvyklými steroly poškodí jej permeabilitu a fluiditu, takisto sekundárne ovplyvní aktivitu niekoľkých transmembránových enzýmov (napr. chitinsyntázy). Hlavným molekulárnym cieľom azolov je cytochróm P450-Erg11p (cytochróm-P450-dependentná lanosterol-14- α -demetyláza alebo Cyp51p), ktorý katalyzuje oxidatívne odštiepenie metylovej skupiny viazanej v polohe 14 α v molekule lanosterolu a/alebo v molekule eburikolu. Tento enzým vo svojej aktívnej časti obsahuje protoporfyrín s atómom železa, na ktorý sa azoly viažu vďaka svojmu atómu dusíku obsiahnutom v imidazolovom alebo triazolovom kruhu. Ostávajúca časť molekuly azolu sa viaže na apoproteín (rôznym spôsobom v závislosti na vlastnostiach štruktúry azolu). Konkrétna konformácia aktívnej časti proteínu sa líši u jednotlivých druhov húb aj u cicavcov. Presná podstata interakcie medzi molekulou azolu a jednotlivými druhmi cytochrómu P450 preto určuje rozsah inhibičného pôsobenia daného azolu u odlišných druhov húb.¹²

Vzhľadom k relatívne neselektívnej podstate terapeutického cieľa dochádza takisto k inhibícii P450-dependentných enzýmov v biochemických dráhach cicavcov, čo je potom zodpovedné za určitú toxicitu. Avšak u novších látok (napr. itrakonazolu, vorikonazolu) je táto toxicita podstatne nižšia a menej závažná než u starších, čo môže byť vysvetlené väčšou afinitou k fungálnym než cicavčím P450-dependentným enzýmom pri terapeutických koncentráciách.¹²

U azolov existuje riziko vzniku rezistencie, hlavne pri ich dlhodobom podávaní. Môže to byť následkom mutácie génu, ktorý kóduje cieľovú molekulu (14 α -demethylázu), alebo následkom zvýšenej expresie membránových efluxných transportérov. Kombinácia týchto dvoch mechanizmov bola zistená u niektorých izolátov *C. albicans*.¹²

Klotrimazol

Klotrimazol (**9**) je fungistatické až fungicídne antimykotikum so širokým spektrom účinku. Pôsobí nielen na kvasinky, dermatofyty a dimorfné huby, ale takisto na niektoré grampozitívne mikroorganizmy (predovšetkým stafylokoky a streptokoky), gramnegatívne mikroorganizmy (*Bacteroides* spp., *Gardnerella vaginalis*) a niektoré protozoa (*Trichomonas vaginalis*).¹²

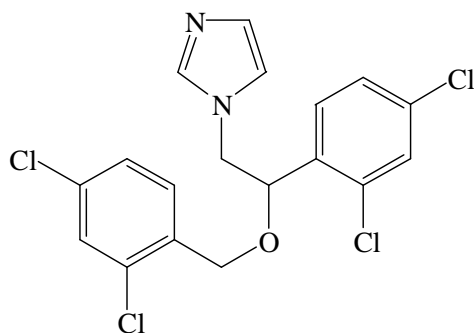


9

Mikonazol

Mikonazol (**10**) bol pripravený v roku 1969 a stal sa štruktúrnym prototypom obsahujúcim vysoko lipofilný fragment, ktorý sa neskôr v rôznych modifikáciách objavuje u väčšiny imidazolových antimykotík.

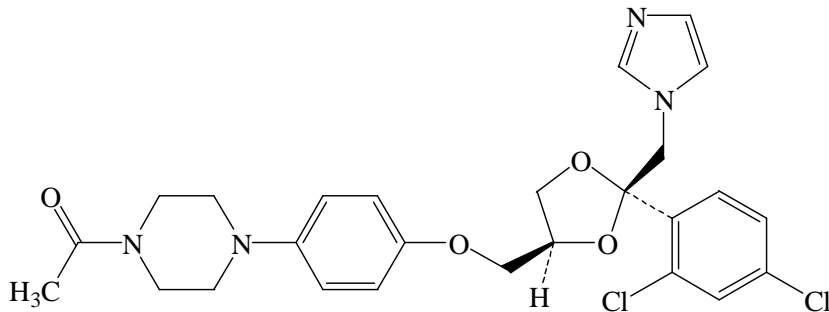
Mikonazol bol prvý azol použiteľný pre systémové podávanie. Jeho enterálna resorpcia je ale neistá, preto musí byť podávaný intravenózne. Závažné nežiaduce účinky (ako hyperlipidémia, hyponatrémia, tromboflebitída, hematologické poruchy a ďalšie) však obmedzili jeho praktické použitie. Navyše ako silný inhibítor cytochrómu P450 interaguje s mnohými liečivami, ktorých metabolizmus je takisto spojený s týmto monooxygenázovým systémom.¹²



10

Ketokonazol

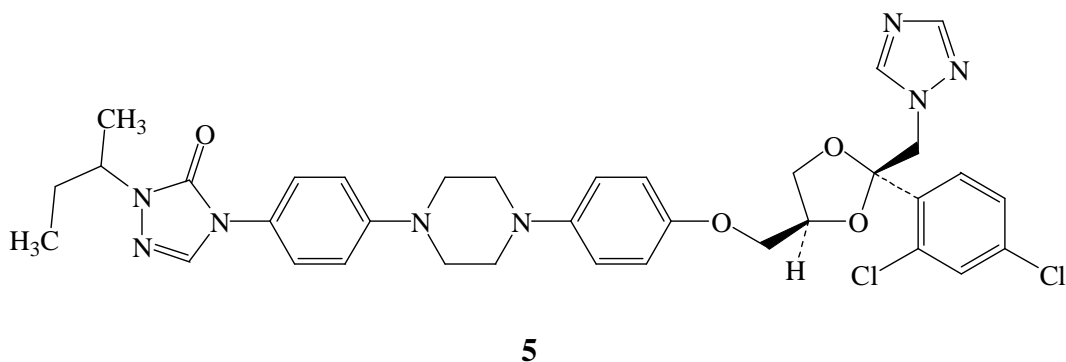
Ketokonazol (7) bol prvý perorálny azol zavedený do klinického užívania. Od flukonazolu a itrakonazolu sa líši väčšou schopnosťou inhibovať cicavčie enzýmy systému cytochrómu P450. Klinické využitie ketokonazolu obmedzili nielen interakcie a nežiadúce endokrinné účinky, ale aj malá terapeutická šírka. Ketokonazol zostáva vhodným liečivom pre terapiu mukokutánných kandidóz a nemeningeálnej kokcidiomykózy.¹⁵



7

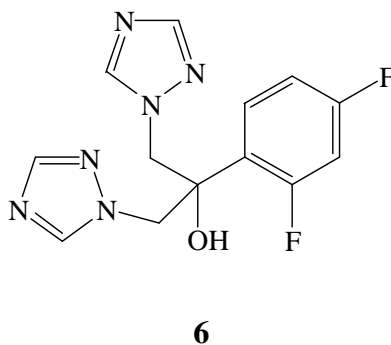
Itrakonazol

Itrakonazol (5) je k dispozícii v perorálnom prípravku. Tak ako ostatné liposolubilné azoly ovplyvňuje pečeňové mikrozomálne enzýmy, ale v menšej miere než ketokonazol. Významnú liekovú interakciu predstavuje znížená biologická dostupnosť itrakonazolu pri súčasnom podávaní rifamycínu. Itrakonazol je z dostupných azolov najúčinnjší. Je azol voľby pri terapii dermatofytóz a onychomykóz, a je to jediná látka s významnou účinnosťou proti druhom *Aspergillus*.¹⁵



Flukonazol

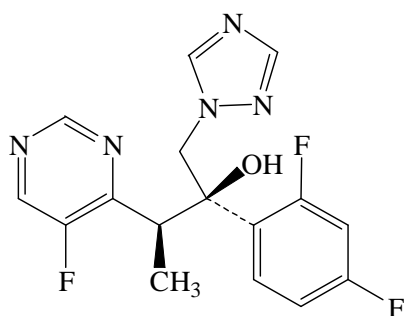
Flukonazol (**6**) sa líši od iných azolov rozpustnosťou vo vode a dobrým prienikom do mozgomiechového moku. Rozpustnosť vo vode umožňuje nielen intravenóznú aplikáciu, ale aj vynikajúcu dostupnosť po perorálnom podaní. Flukonazol je azol voľby pri liečbe a sekundárnej profylaxii kryptokokovej meningitídy. Ukázalo sa, že intravenózný flukonazol je rovnako účinný ako amfotericín B pri liečení kandidémie u pacientov s normálnym počtom leukocytov. Bolo zistené, že profylaktické použitie flukonazolu obmedzilo hubové ochorenia kostnej drene u recipientov transplantátov a u pacientov s AIDS, ale vývoj flukonazol-rezistentných húb vyvolal o tejto indikácii pochybnosti.¹⁵



Vorikonazol

Vorikonazol (**13**) sa po *p.o.* podaní dobre absorbuje, biologická dostupnosť je vyššia ako 90 % a na bielkoviny sa viaže menej ako itrakonazol. Informácie o toxických účinkoch sú síce obmedzené, v niektorých štúdiách sa však objavili reverzibilné poruchy videnia. Spektrom účinku sa vorikonazol podobá itrakonazolu, má dobrú účinnosť proti druhom *Candida*, dimorfným hubám a patogénnym plesniam vrátane

Aspergillus. Nálezy *in vitro* naznačujú, že vorikonazol je proti týmto mikroorganizmom ešte účinnejší než itrakonazol.¹⁵

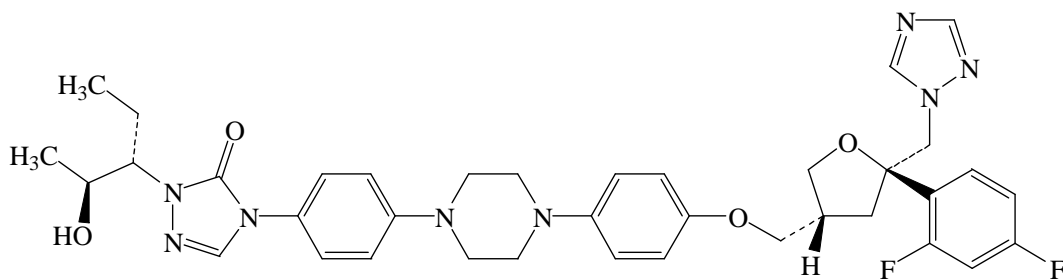


13

Posakonazol

Posakonazol (**18**) je štruktúrou blízky itrakonazolu (je jeho hydroxylovaným analógom). Z dostupných azolových antimykotík má najširšie spektrum účinku. Ako jediný z azolov pôsobí i proti zygomycétam. Má taktiež vysokú trypanocídnu aktivitu (aj na druh *Trypanosoma cruzi*, ktorý je rezistentný na nitrofurány a nitroimidazoly).

Posakonazol je schválený k profylaktickému podávaniu proti invazívnej aspergilóze či kandidóze. Ďalej môže byť použitý k liečbe ezofaryngeálnej kandidózy, invazívnej aspergilózy, chromoblastomykózy, kokcidiomykózy, fuzariózy či mycetómu (plesňového nádoru) u pacientov, ktorí netolerujú bežne používané antimykotiká alebo kde bola predchádzajúca liečba bežnými antimykotikami neúčinná.¹²



18

Echinokandiny a pseudokandiny

Látky týchto dvoch skupín sú produkty sekundárneho metabolizmu húb. Sú to deriváty cyklických hexapeptidov, u ktorých je vždy jedna aminoskupina acylovaná

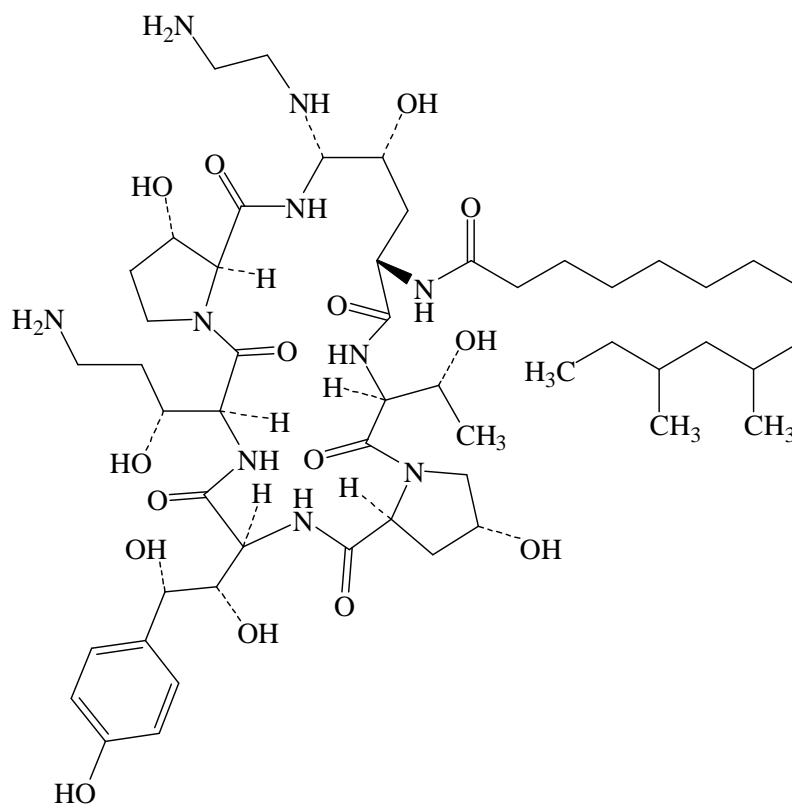
mastnou kyselinou. Prototypové látky, echinokandin B a akuleacin, boli objavené pri náhodnom screeningu v 70. rokoch 20. storočia. Cilofungín, pripravený modifikáciou echinokandinu B, bol privedený až do druhej fáze klinického skúšania, ale nakoniec bol jeho vývoj zastavený kvôli preukázanej toxicite. Ku koncu 90. rokov vstúpili do klinického vývoja ďalšie tri zlúčeniny: kaspofungín, anidulafungín a mikafungín.

Tieto antimykotiká nekompetitívne inhibujú syntézu β -(1,3)-D-glukanu, ktorý je základnou zložkou bunkovej steny mnohých vláknitých húb a kvasiniek. Toto cieľové miesto nemá svoj ekvivalent v cicavčích bunkách, preto poskytuje selektívnu toxicitu pre hubové mikroorganizmy. Tieto látky majú veľmi široké spektrum zahrňujúce *Candida* spp. (vrátane flukonazol-rezistentnej *C. albicans*) a *Aspergillus* spp., nepôsobí však na *Cryptococcus neoformans*, *Fusarium* spp., *Scedosporium* spp. a zygomycéty. Mimo iných vykazujú aktivitu voči *Pneumocystis carinii*.

Echinokandiny a príbuzné pneumokandiny sú veľmi perspektívnou skupinou antifungálnych liečiv. Klinicky používané látky majú priaznivý bezpečnostný profil, aplikujú sa intravenózne (kvôli veľkej molekulárnej hmotnosti), vďaka dlhému polčasu sa podávajú jedenkrát denne. Výhodou je, že ich metabolizmus nie je spojený s cytochrómom P450, čo minimalizuje riziko liekových interakcií v porovnaní s azolmi.¹²

Kaspofungín

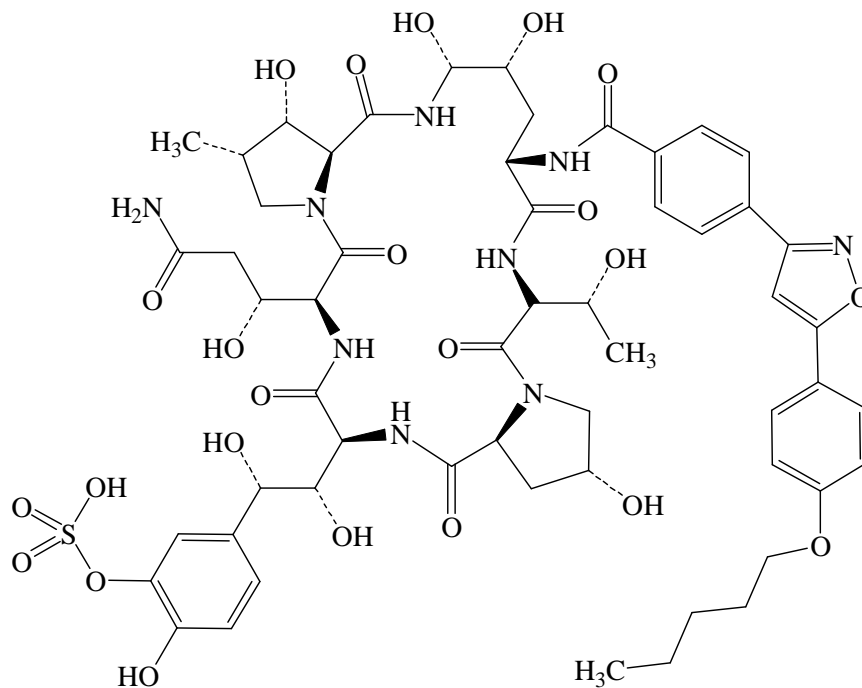
Kaspofungín (**19**) je polosyntetická lipopeptidová zlúčenina pripravená z pneumokandinu B₀, ktorý je produktom fermentácie askomycéty *Glarea lozoyensis*. Bol prvým z pneumokandinov zavedených do praxe (v USA a EU, r. 2001). Jeho použitie je schválené pre empirickú terapiu predpokladanej mykotickej infekcie u febrilných neutropenických pacientoch, pre terapiu kandidémie, invazívnej kandidózy a invazívnej aspergilózy u pacientov refrakterných na inú liečbu.¹²



19

Mikafungín

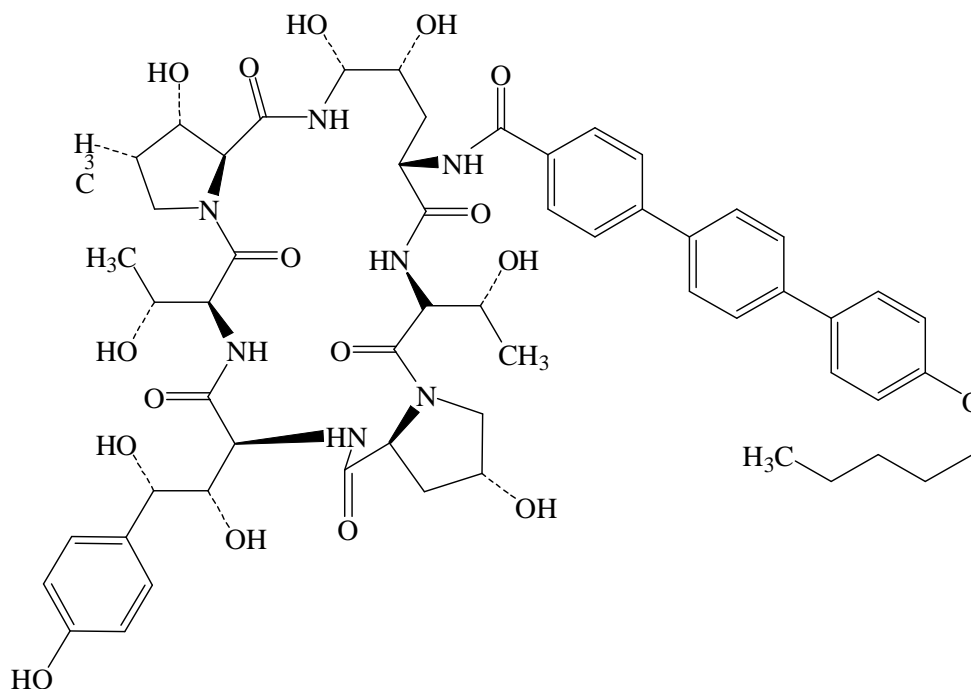
Mikafungín (20) je polosyntetický derivát zlúčeniny izolovanej z askomycéty *Coleophoma empetri*. Prvýkrát bol registrovaný v Japonsku v roku 2002. Je určený k profylaxii mykotických infekcií u pacientov s transplantovanou kostnou dreňou alebo k liečbe invazívnych kandidóz a aspergilóz u pacientov refrakterných na inú liečbu.¹²



20

Anidulafungín

Anidulafungín (**21**) je polosyntetický derivát echinokandinu B, ktorý je fermentačným produktom *Aspergillus nidulans*. V roku 2006 bol zavedený do klinickej praxe a jeho indikáciou je kandidémia, ezofageálna kandidóza a iné formy kandidóz.¹²



21

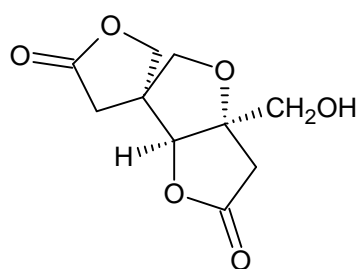
3.4. Vývoj nových antimykotík obsahujúcich vo svojej štruktúre furán-2(5H)-ón

Keďže existuje len malá skupina štruktúrne odlišných antimykotických látok, a to hlavne systémových, identifikácia nových štruktúr a hlbší vývoj nových antimykotických látok je dôležitým cieľom dnešného farmaceutického výskumu. Ako najžiadanejšie sa ukazuje pokračovať v procese výskumu liečiv pre liečbu vážnych mykóz, spôsobených oportúnnymi hubami, ako *Mucorales*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichosporon* a non-*albicans Candida*, ktoré vykazujú zníženú citlivosť na súčasné antimykotické látky.¹⁷

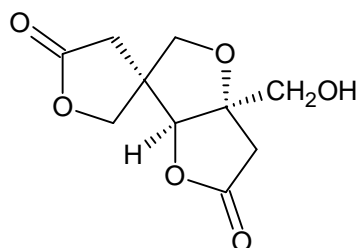
Živé organizmy boli a stále sú bohatým zdrojom organických látok s unikátnou molekulárnou architektúrou a zaujímavými biologickými vlastnosťami.¹⁸

Nephelium lappaceum L. (Sapindaceae), bežne známy ako "rambutan", je rastlina pestovaná na Filipínach a v ďalších tropických oblastiach kvôli svojmu plodu, ktorý je komerčne predávaný. Semená sú horké a omamujúce. Korene sa používajú na zníženie teploty, listy ako liečivé obklady, a kôra ako adstringent. Plod sa odporúča na vážnu dyzentériu a ako adstringentné, antifebrilné a hrejivé karminatívum pri dyspepsii.

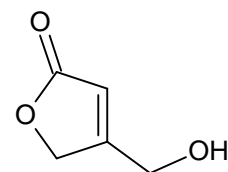
Chemické štúdie prebiehajúce u plodu viedli k identifikácii prchavých zložiek. Semená rastliny poskytujú cyanolipidy typ II, ktoré majú insekticídne pôsobenie. Bola uvedená separácia, štruktúrne objasnenie, a antimikrobiálne testovanie látok **22** a **23** zo semien *N. lappaceum*. Tieto laktóny predstavujú novú monoterpénovú kostru. Zo semien rastliny bol taktiež získaný sifonodín **24** a kaempferol 3-*O*- β -D-glukopyranozid-7-*O*- α -L-ramnopyranozid. Semená z plodu *N. lappaceum* boli vysušené na vzduchu a extrahované dichlórmetánom. Následná gélová chromatografia poskytla dva nové monoterpénové laktóny (**22** a **23**) v zmesi 10:7, spoločne so známym butenolidom sifonodínom (**24**). Zmes **22** a **23** bola oddelená na jednotlivé diastereoizoméry pomocou HPLC. Následne bola testovaná antimikrobiálna schopnosť týchto látok. Bolo zistené, že látky sú účinné na *C. albicans* s indexom účinnosti 0,3 pri množstve 30 μ g, kým štandardný Canesten pri množstve 0,2 g (1% klotrimazol) vykazoval index účinnosti 0,8.¹⁹



22



23

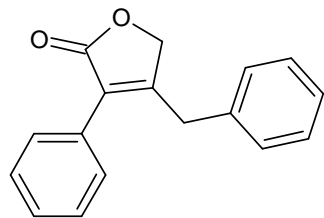


24

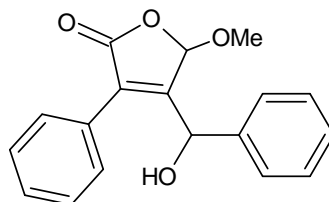
Butenolidový systém prítomný v mnohých srdečných glykozidoch sa podieľa na silnej orálnej kardiotonickkej účinnosti. Fyziologická aktivita prírodných laktónov je známa od doby, kedy bol santonín používaný ako dôležitá anthelmintická a askaricídna látka. Okrem veľkej skupiny butenolidov s antibiotickými účinkami bol zistený podiel, ktorý vykazuje zaujímavé pôsobenie ako antikonvulzívne, protizápalové, protibolestivé, protirakovinové, antivirálne a ďalšie. V laboratóriách boli skúšané protizápalové vlastnosti väčšieho počtu 2-arylidén-4-substituovaných fenylobutenolidov a výsledky boli povzbudzujúce. Tieto butenolidy boli ďalej využívané na syntézu dusíkatých heterocyklov (pyrolonov), ktoré boli testované na antibakteriálne a antifungálne pôsobenie proti vybraným mikróbov (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* a *Candida albicans*). Niektoré zlúčeniny ukázali výbornú účinnosť proti *C. albicans*.

Zavedenie dusíka na miesto kyslíkového atómu v butenolidovom kruhu zvyšuje antimikrobiálne pôsobenie.²⁰

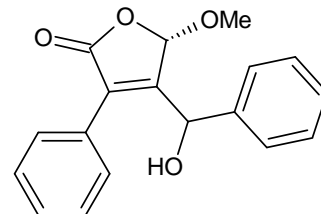
V nedávnych rokoch bola študovaná austrálska mikrobiálna biodiverzita so zameraním na kmeň *Gymnoascus reessii*, ktorý priniesol sériu nových aromatických butenolidov, gymnoaskolidov (**25** – **27**). Metanolický extrakt tekutej kultúry *G. reessii* vykazoval značnú rastovú inhibičnú aktivitu proti baktérii *Bacillus subtilis*, červu *Haemonchus contortus* a nádorovej bunkovej línii. Taktiež bola zaznamenaná slabá, ale selektívna, antifungálna aktivita počas procesu frakcionácie. Táto antifungálna selektivita bola preukázaná rastovou inhibičnou aktivitou proti patogénu *Septoria nodorum* a zodpovedajúcej absencie rastovej inhibičnej aktivity proti ľudskému patogénu *Candida albicans*. Gymnoaskolid A (**25**) má miernu selektívnu aktivitu proti hube *Septoria nodorum*, kým žiadny z gymnoaskolidov A – C (**25-27**) nevykazuje účinnosť proti ľudskému patogénu *C. albicans*. Účinnosť a selektivita antifungálnych vlastností gymnoaskolidu A (**25**) bola porovnaná so známymi antifungálnymi metabolitmi (komerčne dostupné štandardy), ako cykloheximidín, antimycín A3, monorden, amphotericín B a blasticidín.²¹



25



26

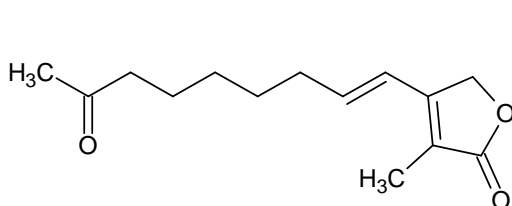


27

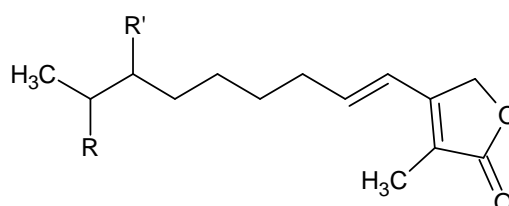
Chemické skúmanie druhu húb rastúcich na hnoji môže viesť k objavu nových antifungálnych látok. Počas výskumu týchto nových látok, bolo zistené, že organické extrakty kultúr *Podospora appendiculata* (Sordariaceae) prejavili antibakteriálne a antimykotické pôsobenie. K týmto extraktom patria tri nové antifungálne pôsobiace 2(5*H*)-furan-2-óny (**28** – **30**), u ktorých bola popísaná separácia a štrukturálne určenie. Nie je prekvapujúce, že členovia tejto skupiny, prírodne sa vyskytujúcich furanónov, vykazujú rozmanitosť v biologickom pôsobení.

P. appendiculata sa nechala rásť v tekutej fermentujúcej kultúre, a etyl-acetátový extrakt z výsledného filtrátu danej kultúry ukázal antimykotické pôsobenie.

Etyl-acetátový extrakt poskytol apenolidy A, B a C (**28** – **30**), ako látky zodpovedné za pôsobenie. Štruktúra týchto troch zlúčenín bola stanovená NMR analýzou a dátami hmotnostnej spektrometrie. Všetky tri apenolidy vykazujú pôsobenie proti *Candida albicans* so zónou inhibície v rozsahu od 12 do 14 mm pri 150 µg/disk. Apenolidy B a C sú taktiež účinné proti *Bacillus subtilis* so zónou inhibície v rozsahu 8 mm pri 150 µg/disk. Apenolid A vykazuje účinnosť proti hube *Sordaria fimicola* a *Ascobolus furfuraceus*.²²



28



29 R=OH, R'=H

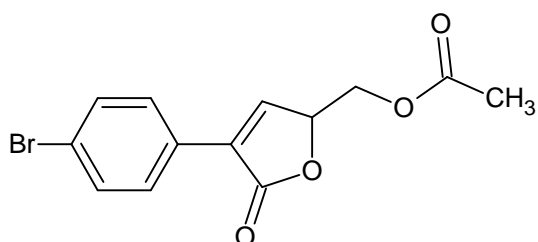
30 R=H, R'=OH

Medzi novú skupinu potenciálnych antifungálnych (anti-*Aspergillus*) látok sa zaraďujú deriváty 3,5-disubstituovaných butenolidov. Charakteristická je malá molekulová veľkosť a vysoká lipofilita. Najmä, 3-(4-halogénfenyl)-5-(acyloxymetyl)furán-2(5*H*)-óny vykazujú široké *in vitro* antifungálne pôsobenie, porovnateľné s pôsobením amphotericínu B, a taktiež relatívne nízku akútnu toxicitu.

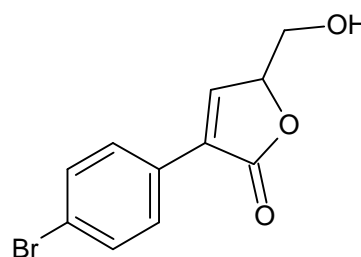
Na štúdiu na myšiach bol vybraný jeden z najaktívnejších derivátov [4-(4-brómfenyl)-5-oxo-2,5-dihydrofurán-2-yl]metyl-acetát (**31**). Cieľom štúdie bolo vyvinúť HPLC metódu, ktorá by umožnila identifikovať fázu I a fázu II metabolitov tejto zlúčeniny. V experimente boli použité myši, samčie pohlavie. Všetky dostali dávku látky o veľkosti 200 mg/g, intraperitoneálne. Zvieratá boli umiestnené v sklenených klietkach. Po 24 hodinách od podania potenciálneho liečiva bol zvieratám odoberaný moč. Všetky vzorky boli pred analýzou uchovávané pri teplote -70 °C. Štandardy niektorých očakávaných metabolitov boli nasyntetizované a identifikácia jednotlivých metabolitov bola založená na porovnávaní chromatografie, UV a MS spektier nájdených metabolitov v moči a nasyntetizovanými štandardmi.

Zo skúseností s biotransformáciami podobných zlúčenín a taktiež zo samotnej štruktúry látky **31**, je jasné, že táto molekula môže byť napadnutá hydrolytickými enzýmami, a to v mieste labilnej esterovej väzby (acyloxymetylsubstitúcia na C5),

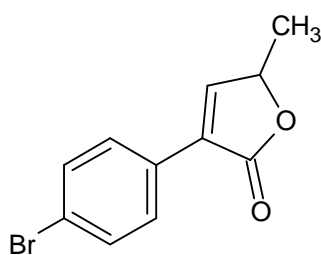
a vznikne zlúčenina **32**, ktorá má oveľa nižšie *in vitro* antifungálne pôsobenie. Voľný alkohol zlúčeniny **32** sa ľahko uvoľní pri hydrolyze. Taktiež sa očakávala konjugácia zlúčeniny **32** s endogénnym substrátom (napr. s glukurónovou kyselinou) a jej vylúčenie z organizmu vo forme polárneho konjugátu cez uropoetický systém. Naďalej je potrebné skúmať metabolickú deaktiváciu týchto molekúl v organizme, pred ich vlastným transportom dovnútra buniek patogénnych húb. Je možné, že zlúčenina **31** je len proliečivo dnes ešte neznámeho aktívneho metabolitu. Možná je taktiež náhrada labilnej esterovej väzby väzbou inou (amid, alebo stéricky rozsiahlejší ester), ktorá je stabilnejšia pred esterázami. Ďalšia možnosť vhodná na preštudovanie súvisí s látkou **33**. Výskyt tejto zlúčeniny v moči naznačuje možnosť konverzie látky **31** na olefín (**34**), ktorý následne zničí bunkovú membránu huby a je deaktivovaný na látku **33**.²³



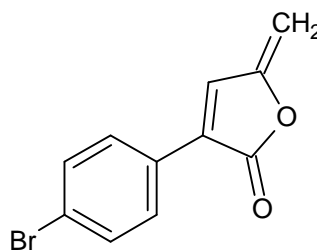
31



32



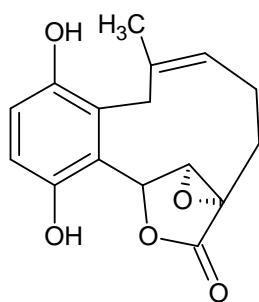
33



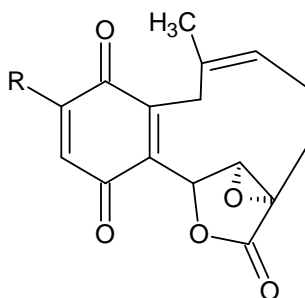
34

Z kultúr huby *Clitocybe clavipes* boli izolované klavilaktóny A, B a C (**35** – **37**). Ich príbuzné štruktúry boli vyvedené z NMR štúdií a konečne určené pomocou rentgenovej kryštalografie dimetyléterderivátu klavilaktónu (**35**). Tieto prírodné produkty

pozostávajú z 1,4-dihydroxybenzénu alebo 1,4-benzochinónu spojených s 11-členným laktónom. Neskôr boli izolované štrukturálne podobné klavilaktón D a E (**38,39**) z *C. clavipes* použitím rozdielnych podmienok. Klavilaktóny A, B a C prejavujú antifungálne a antibakteriálne pôsobenie a inhibujú klíčenie *Lepidium sativum*. Navyše, zlúčeniny **35**, **36** a **38** prejavujú silné inhibičné pôsobenie proti receptoru epidermálneho rastového faktoru, tyrozínkináze.²⁴

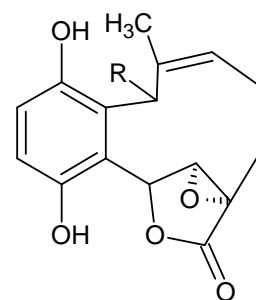


35



36 R=H

38 R=OH



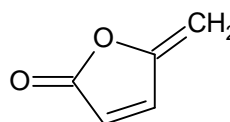
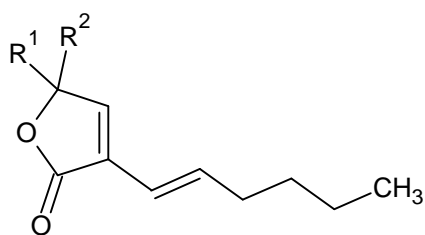
37 R=OH

39 R=OMe

Pseudomonas aureofaciens (*P. chlororaphis*) kmeň 63-28 bol testovaný ako potenciálna biokontrolná látka na ochranu skleníkových kultúr, vrátane paradajok, uhoriek, poinsettie a chryzantémy. Dávnejšie štúdie ohľadom ultraštruktúrnych účinkoch *P. aureofaciens* 63-28 na *Pythium ultimum* v koreňoch hrachu odhalili skrútenie hýf, silné odvinutie plazmalemy, cytoplazmatickú dezorganizáciu a rozpad organel, ktoré sú charakteristické ako odpoveď na antifungálne metabolity. Boli objavené štyri zlúčeniny v kultúre supernatantov tejto baktérie. Dve z týchto antifungálnych zlúčenín boli nedávne identifikované ako butyrolaktóny (Z)-4-hydroxy-4-metyl-2-(hex-1-enyl)-2-butenolid (**40**) a (Z)-4-hydroxymetyl-2-(hex-1-enyl)-2-butenolid (**41**). Obe zlúčeniny inhibujú *in vitro* rast patogéna *Pythium ultimum* a *Phytophthora cryptogea*. Tretia zlúčenina (**42**), chromatograficky rozdielna antifungálna zlúčenina, je taktiež produkovaná *P. aureofaciens* 63-28. Táto zložka ukázala účinnosť proti všetkým testovaným hubám, čo zahŕňalo oomycétu (*Pythium ultimum*), tri deuteromycéty (*Fusarium oxysporum*, *F. solani* a *Thielaviopsis basicola*) a jednu bazidiomycétu (*Rhizoctonia solani*). Táto zlúčenina inhibuje klíčenie propagule.

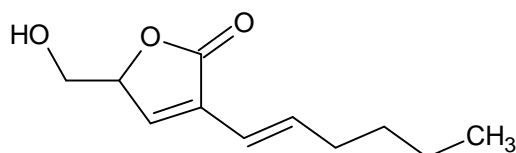
T. basicola bola najcitlivejšia a *R. solani* najmenej. Pri vyšších koncentráciách bol taktiež rast zárodočnej trubice inhibovaný. Morfológia zárodočnej trubice *Pythium ultimum* bola viditeľne zmenená. Bol pozorovateľný stočený a opuchnutý vzhľad a zárodočné trubice boli kratšie, ako zárodočné trubice pozorované bez prítomnosti látky (**42**).

Podobný účinok ako má zlúčenina **42** na morfológiu *Pythium ultimum*, bol zistený aj u protoanemonínu (**43**). Je to plesňový toxín produkovaný rastlinami ako *Pulsatilla* a *Ranunculus* spp. Protoanemonín taktiež narúša tvorbu organel u *Microsporium cookei* a *Trichophyton mentagrophytes*. Nasýtená verzia tejto zlúčeniny, 5-metylidénfuran-2(3*H*)-ón, bola testovaná ako fungicídna látka proti *Fusarium graminearum* na pšenici. Mnohé ďalšie príklady furán-2(5*H*)-ónových derivátov sú známe svojou antifungálnou a taktiež antibakteriálnou aktivitou. Obecne, tieto zlúčeniny sú 3,5-dialkylderiváty furán-2(5*H*)-ónovej štruktúry. Sakurai *et al.* preukázali, že maximum účinnosti bolo pozorované keď dĺžka reťazca na pozícii 5 bola od štyroch do šiestich uhlíkov a obsahovala dvojitú väzbu. Je evidentné, že furán-2(5*H*)-ónové zlúčeniny sú účinné antimykotické metabolity. Pre *P. aureofaciens*, tieto furanóny reprezentujú novú skupinu antimykotických metabolitov, ktoré môžu hrať dôležitú úlohu v schopnosti tejto baktérie kontrolovať patogénne huby.²⁵



43

Pozoruhodná antifungálna aktivita bola dávnejšie objavená u nového butenolidu **44**, izolovaného taktiež z *Pseudomonas aureofaciens* 63-28, ktorému bol daný názov fugomycín. Tento butenolid bol získaný ako čistý (*S*)-enantiomér.²⁶

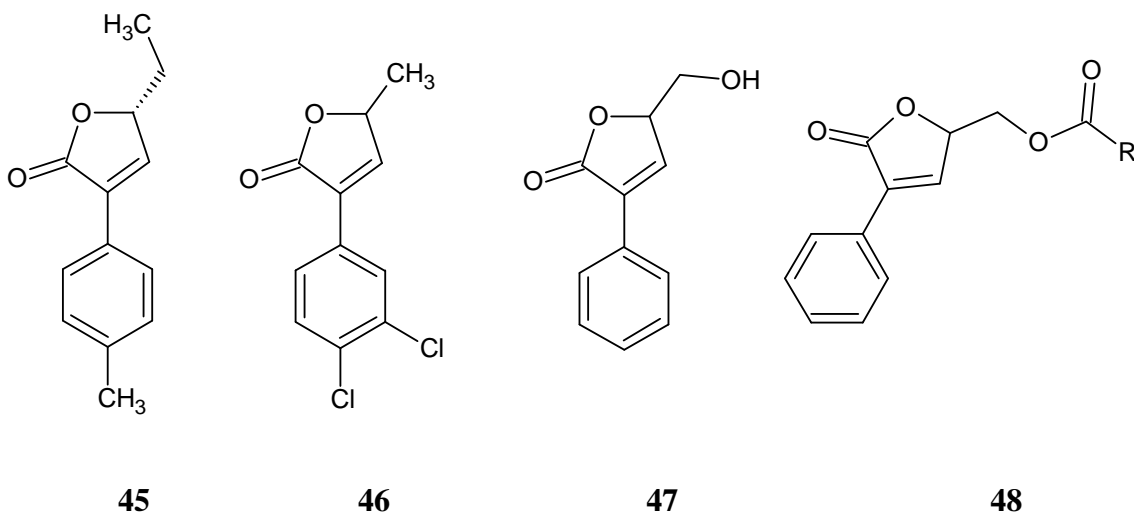


44

V r. 1995 Zapf *et al.* uviedli izoláciu zaujímavého plesňového metabolitu z rodiny butenolidov, (-)inkrustoporínu (**45**). Tento prírodný produkt má účinnosť proti veľkému množstvu fytopatogenetických húb a taktiež vykazuje cytotoxickú aktivitu. Publikované boli dve totálne syntézy, a to v r. 1996 – Yajima a Mori a neskôr v r. 1999 – Rossi. Štruktúra zlúčeniny naznačuje, že ide o relatívne lipofilnú, malú, pevnú molekulu nízkej štruktúrálnej zložitosti, čo ju činí vhodnou predlohou pre ďalší vývoj potenciálnych liečiv.

Nasýtené laktóny nevykazovali žiadnu antimykotickú aktivitu, ale nenasýtené cieľové zlúčeniny a racemický prírodný produkt **45** sa naopak ukázali byť antifungálne aktívne. Kým aktivita racemického inkrustoporínu bola mierna, ukázalo sa, že substitúcia fenylu halogénmi, hlavne chlóróm v polohe 3 a 4 (3-(3,4-dichlórfenyl)-5-metylfurán-2(5*H*)-ónu) **46**, vedie k derivátom, ktorých biologická aktivita voči niektorým druhom humánne patogénnych vlákňitých húb (*Aspergillus fumigatus* a *Absidia corymbifera*) je na rovnakej úrovni ako ketokonazol. Projekt zameraný na zámenu benzénového kruhu päťčlenným heterocyklickým zbytkom, viedol k zisteniu, že výsledkom náhrady fenylu za takýto typ substituenta sú, naopak, analógy s nižšou aktivitou. Účelom ďalšej syntézy bolo overenie vplyvu zavedenia hydrofilnej skupiny do substituentu v polohe číslo 5. Antifungálna aktivita 3-fenyl-5-hydroxymetyl-2,5-furán-2(5*H*)-ónu (**47**) bola nízka až stredná, avšak dramaticky vzrástla po esterifikácii primárnej hydroxylovej skupiny. 5-Acyloxymetylderiváty (**48**) majú antifungálny účinok *in vitro* zrovnateľný s jednou z najsilnejších klinicky používaných látok, amfotericínom B.^{17,18}

Výsledky ukázali, že štruktúra (-)inkrustoporínu predstavovaná nenasýteným 5-členným laktónovým kruhom môže slúžiť ako potenciál na prípravu analógov s antimykotickou aktivitou proti ľudským patogénom. Zdá sa, že antimykotická aktivita súvisí s prítomnosťou dvojitej väzby, ktorá je konjugovaná s karbonylovou skupinou laktónu, a môže byť značne zvýšená substitúciou fenylového kruhu halogénmi.¹⁷



Novým vzorom pre antifungálne látky je cieľová virulencia. S vývojom nových antibakteriálnych látok, v mimoriadne multi-rezistentnej ére, už nie je dostatočne považované cielene pôsobiť na základné procesy, ale taktiež na procesy virulencie. Jednoducho povedané, už nie je snahou zabiť mikroorganizmus, pôsobiaci ako patogén, ale iba zabrániť tomu, aby u infikovaného organizmu vyvolal prepuknutie ochorenia. Je to “jemnejší“ prístup antimikrobiálnej chemoterapie.

Virulentné faktory sú vlastnosti patogéna, ktoré nie sú potrebné pre prežitie *in vitro*, sú ale príčinou ochorenia u hostiteľa. Je to zložka, ktorá špecificky funguje na dráhe virulencie.²⁷

Virulentné faktory

Proteinázy

Saps (secreted aspartic proteinases) sú hydrolytické enzýmy a hlavné virulentné faktory *C. albicans*. Sú kódované rodinou génov s desiatimi členmi (Sap1-Sap10). Väčšina z nich obsahuje miesto *N*-glykosylácie. Ďalšou charakteristikou je optimálne pH a celkový náboj. Saps sa môžu zlúčiť s bunkovou membránou, inkorporovať do bunkovej steny, alebo uvoľniť do extracelulárneho priestoru. Hlavnou úlohou týchto proteináz je poskytnúť potravu bunkám, napomáhajú penetrácii a invázii, a vyhýbajú sa imunitným reakciám. Na základe typu infekcie (orálna, vaginálna) sú aktivované rôzne Sap gény. Presná štruktúra je známa iba pre Sap2 a Sap3. Štruktúra je dôležitá pre vývoj špecifických inhibítorov.²⁷

Fosfolipázy

Sekrečná fosfolipáza B hraje dôležitú rolu pre prežitie *C. neoformans* v makrofágoch, v deštrukcii pľúcneho tkaniva a fagocytárnej aktivite.²⁷

Katalázy

Tieto enzýmy sú virulentným faktorom *A. fumigatus*. Pri napadnutí hostiteľa *A. fumigatus* čelí fagocytujúcim bunkám, ktoré ho atakujú reaktívnymi kyslíkovými molekulami. Katalázy sú nutné pre rozklad peroxidu vodíka.²⁷

Kalcineurín

Je kalcium-regulovaný, signálny enzým, dôležitý pre virulenciu *C. albicans*, hlavne pre prežitie v sére.²⁷

Melanín

Wangiella dermatitidis a *Sporothrix schenckii* produkujú dihydroxynaftalén-melanín, ktorý chráni fungálne hýfy pred hostiteľským imunitným systémom, napríklad, vychytávaním reaktívnych kyslíkových radikálov a taktiež zabraňuje fagocytóze.²⁷

Tieto a ďalšie virulentné faktory húb boli detekované, mnoho ďalších je v procese objavovania.

Nové antifungálne látky zasahujúce virulentné faktory

Pepstatin A je špecifický inhibítor proteínázy. Je schopný redukovať adhéziu kandidy na hostiteľské bunky. Avšak nemôže byť použitý klinicky, aspoň nie systémovo, kvôli metabolizmu v pečeni a rýchlej clearance z krvi. Od uvedenia nových anti-HIV látok typu inhibítorov proteínázy, boli objavené nové možnosti inhibície Sap. U HIV-nakazených pacientov, liečených HIV inhibítormi proteínáz, nastalo menej hubových infekcií, vrátane orálnej kandidózy. Liečba HIV inhibítormi proteínáz má pozitívny účinok na početnosť vzniku slizničných infekcií u HIV-nakazených pacientov. Tieto terapeutické úspechy boli z počiatku vysvetlené ako výsledok zlepšenia imunitného stavu pacienta. Ale v roku 1999, Korting *et al.* preukázali, že HIV inhibítory proteínáz sachinavir a indinavir prejavili *in vitro* priamu, dávkovo závislú inhibíciu Sap.

V tom istom roku Cauda *et al.* dokázali v kontrolovanej štúdií, že HIV inhibítory proteináz priamo predchádzajú orálnej kandidóze u HIV-nakazených pacientov.²⁷

Saps *C. albicans* a HIV proteinázy patria do rovnakej skupiny aspartátových proteináz a sú inhibované klasickým ligandom, pepstatínom A. Sachinavir a indinavir majú podobné inhibičné efekty na Saps *in vitro* ako pepstatín A. Keďže Sap je dôležitá pre patogenézu slizničnej kandidózy, inhibícia tejto proteinázy sachinavirom a indinavirom by mala znižovať virulenciu *C. albicans*. Preto, rozvoj sachinaviru a indinaviru ako potenciálne antikandidové látky, môže byť oprávnený.²⁷

Takrolimus (FK 506) a cyklosporín A sú prírodné produkty, ktoré môžu byť izolované zo *Streptomyces tsukubaensis* a *Tolypocladium inflatum*. Sú to silné imunosupresívne substancie používané po orgánovej transplantácii, aby zabránili odhojovacej reakcii. Taktiež sú ale schopné inhibovať virulentné faktory: tvorbou komplexu s intracelulárnymi proteínmi, zvanými imunofilíny, nachádzajúcimi sa v cicavčích a hubových bunkách, inhibujú virulentný faktor kalcineurín.²⁷

Olivové extrakty sú tradične používané na rôzne problémy, vrátane infekcie kože. Antifungálna aktivita niektorých alifatických aldehydov (hexanal, nonanal, (*E*)hex-2-enal, (*E*)hept-2-enal, (*E*)okt-2-enal, (*E*)non-2-enal) sa ukázala *in vitro* proti *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium canis* a *Candida* spp. Schopnosť týchto substancií inhibovať elastázu, faktor virulencie potrebný pre dermatofyty na osídlenie kože, si zaslúži záujem.²⁷

3.5. Ostatné účinky furán-2(5*H*)-ónu

Furan-2(5*H*)-ón, označovaný ve farmakologických prácach ako but-2-én-4-olid (2-B4O) vykazuje aj iné než antifungálne účinky. Pôsobí napríklad ako substancia sýtosti, nachádzajúca sa v krvi, ktorá moduluje kŕmenie potkanov zmenou neurónovej aktivity v laterálnej hypotalamickej oblasti. Hladina 2-B4O v plazme je ovplyvnená stavom hladu a sýtosti. Taktiež bolo zistené, že 2-B4O má antiulcerózne účinky.

Dáta ukazujú, že 2-B4O potláča imunitné odpovede, a môže byť prospešnou látkou na liečenie autoimunitných ochorení. Denné podávanie 2-B4O intraperitoneálne dramaticky potláča klinickú vážnosť experimentálnej alergickej encefalomyelitídy (EAE). EAE u Lewisových potkanov je dobre známy zvierací model ľudskej roztrúsenej sklerózy.²⁸

But-2-én-4-olid reguluje mnohé homeostatické funkcie ako trávenie, reprodukciu, imunitné funkcie, glukózový a kortikosterónový metabolizmus zmenou autonómnych nervových činností. Intravenózne podanie 2-B4O zvyšuje hladinu glukózy, norepinefrínu, epinefrínu a koncentráciu kortikosterónu. Oomura *et al.* navrhli, že zvýšenie hladiny glukózy v cerebrospinálnej tekutine počas jedenia alebo intraperitoneálna injekcia glukózy navodí uvoľnenie aFGF (acidic fibroblast growth factor) z ependymálnych buniek mozgovej komory, ktoré uľahčia priestorovú pamäť. AFGF aktivuje hypotalamicko-hypofyzárno-adrenokortikálnu os, ktorá spôsobí zvýšenie plazmového adrenokortikotropínu a hladinu kortikosterónu. Tieto zmeny môžu taktiež zlepšiť učenie a pamäť.²⁹

Hisano *et al.* zistili, že intraperitoneálne podanie 2-B4O aktivuje určité hypotalamické neuróny u potkanov. Magnocelulárna časť paraventriculárneho jadra obsahuje arginín vazopresín (AVP) sekrečný neurón a oxytocín (OXT) sekrečný neurón. Parvocelulárna časť paraventriculárneho jadra obsahuje CRH (kortikotropín uvoľňujúci hormón) - sekrečné neuróny. Po *i.p.* podaní 2-B4O sa koncentrácia OXT značne zvýšila, kým koncentrácia AVP nezaznamenala väčšiu zmenu.³⁰

Vplyv endogénnej substancie sýtosti 2-B4O na kŕmení bol taktiež študovaný u opice rhesus. Nižšie dávky intraperitoneálnej injekcie 2-B4O neovplyvnili ani kŕmenie ani sociálne správanie u opíc. Pri zvýšení dávky bol zaznamenaný značný pokles v príjme potravy. Minimálna dávka 2-B4O potrebná pre účinok je 43,00 mg/kg.³¹

Shitsukawa *et al.* oznámili, že podanie 2-B4O vyvolá porušenie cyklu ruje a zníženie koncentrácie luteinizačného hormónu (LH) u neporušených potkanov. Saito *et al.* taktiež zistili, že podanie 2-B4O zníži pulzné uvoľnenie LH z hypofýzy u potkanov bez vaječníkov. Tieto výsledky ukázali, že 2-B4O môže poškodiť hypotalamickú funkciu, pretože pulzná sekrécia LH je udržiavaná uvoľnením GnRH (gonadotropín uvoľňujúci hormón). Je všeobecne platné, že endogénne opioidné peptidy majú potlačujúci účinok na sekrécia LH. Existujú štúdie, ktoré hovoria, že hladovanie poškodzuje pulznú sekrécia LH a špecifickí opioidní antagonisti naloxon a naltrexon toto poškodenie odvracajú. Preto endogénne opioidné peptidy môžu byť súčasťou procesu zníženia sekrécie LH indukovanej 2-B4O.³²

4. EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

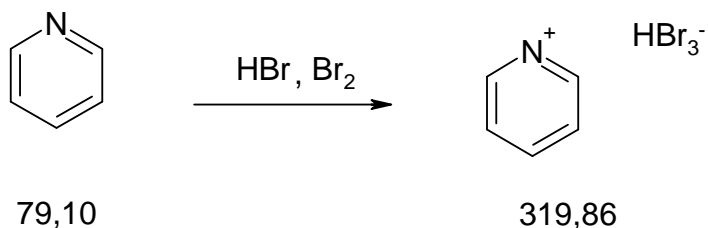
Východiskové látky pre syntézu boli zakúpené u firmy Aldrich: fenylacetylén, 1-etynyl-2-nitrobenzén, 4-etynyl-*N,N*-dimetylanilín, 3-etynylanilín a 2-etynylpyridín. Rozpúšťadla boli použité v kvalite dodanej výrobcom. Katalyzátory sú komerčne dostupné, iba palládiový katalyzátor PdCl₂(PPh₃)₂ bol pripravený na katedre predtým.

Tenkvrstevná chromatografia (TLC) bola vykonaná na DC-Alufolien 20 × 20 cm Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck). Ako stacionárna fáza pre stĺpcovú chromatografiu bol používaný Silicagel Merck (0,040 – 0,063 mm). Zloženie mobilných fáz je vždy uvedené u jednotlivých látok.

Teploty topenia boli stanovené na mikrovýhrevnom bloku podľa Bötia a nie sú korigované.

¹H-NMR a ¹³C-NMR spektrá boli merané na prístroji VARIAN Mercury-Vx BB 300. Chemické posuny sú zaznamenané ako hodnoty δ v ppm a sú nepriamo vzťahované k tetrametylsilanu (TMS) cez signál rozpúšťadla (7,26 pre ¹H a 77,0 pre ¹³C v CDCl₃).

4.1. Príprava pyridínium-hydrobromid perbromidu



Postup:

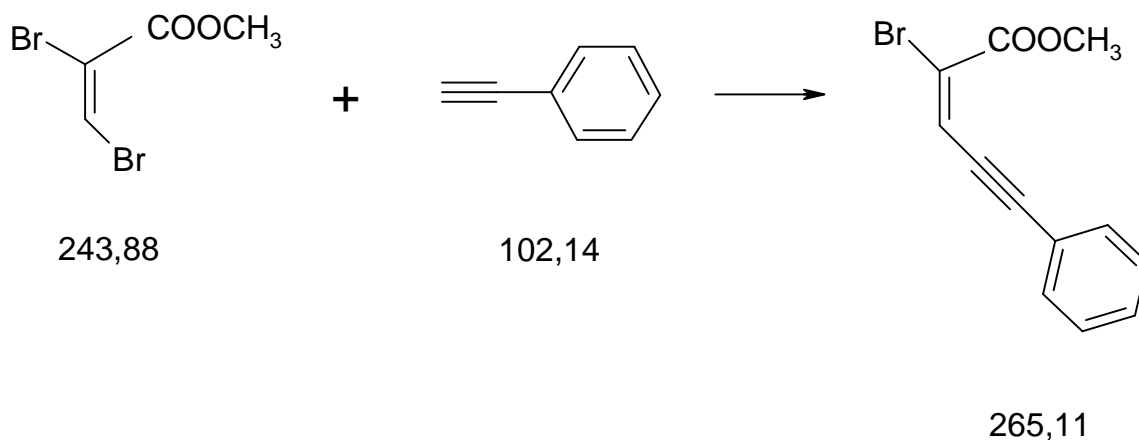
Za chladenia ľadom som k 15 ml ($d = 0,978 \text{ g/cm}^3$; 185,46 mmol) pyridínu prikvapkala 30 ml ($d = 1,5 \text{ g/cm}^3$; 255,84 mmol) 46 – 48% kyseliny bromovodíkovej. Potom som za stáleho miešania a chladenia prikvapkala 8 ml ($d = 3,14 \text{ g/cm}^3$; 156,45 mmol) brómu. Vypadnuté červené kryštály som odsiala a premyla 98% kyselinou octovou. Kryštály som prekryštalizovala z 98% kyseliny octovej a vysušila 24 h v exsikátore nad oxidom fosforečným pri 1,33 kPa.

Výťažok: 22,76 g (46 %)

Popis: hnedooranžové kryštály

T. t.: 107 – 119 °C (132 – 134 °C)³³

4.2. **Príprava** **metyl-(E)-2-bróm-5-fenylpent-2-én-4-ynoátu**
Sonogashirovým couplingom



Postup:

1,350 ml ($d = 0,93 \text{ g/cm}^3$; 12,30 mmol) fenylacetylénu som rozpustila pod argónom asi v 20 ml acetonitrile. Za miešania som pridala 0,1171 g (5 mol %) jodidu meďného a 0,4316 g (5 mol %) palládiového katalyzátoru $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$. Potom som prikvapkala 3,000 g (12,30 mmol) metyl-(E)-2,3-dibrómakrylátu v 25 ml acetonitrilu. Na záver som pridala 6,857 ml ($d = 0,726 \text{ g/cm}^3$; 4 mol. ekv.) trietylaminu. Reakciu som kontrolovala pomocou TLC (lekársky benzín + etyl-acetát 95:5). Reakciu som ukončila po 85 min odparením rozpúšťadla za vákua, zbytok som rozpustila v etyl-acetáte a trikrát vytrepala nasýteným roztokom hydrogénuhličitanu sodného. Organickú vrstvu som vysušila bezvodým síranom sodným a po oddestilovaní rozpúšťadla za vákua som reakčnú zmes podrobila deleniu stĺpcovou chromatografiou.

Podmienky chromatografie:

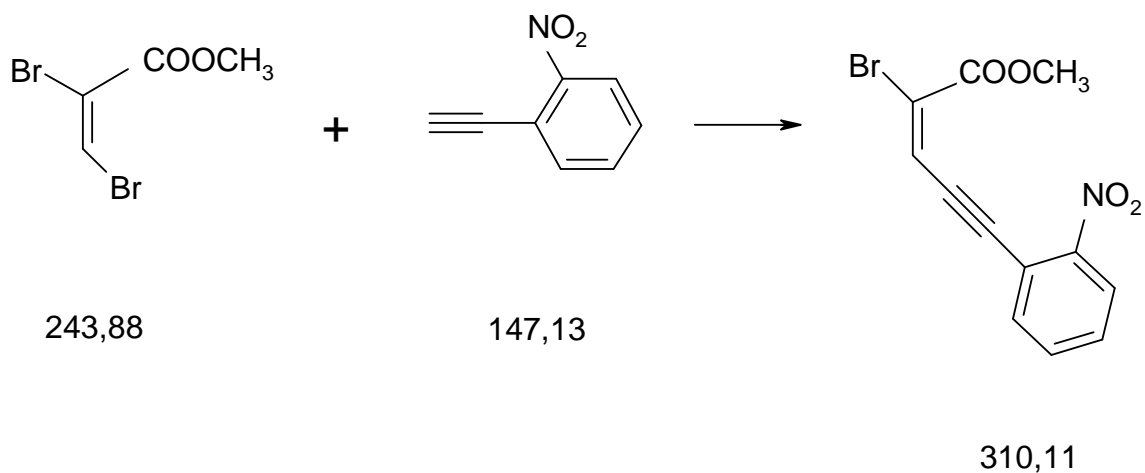
mobilná fáza – lekársky benzín + etyl-acetát 95:5

Výťažok: 1,71 g (52 %)

Popis: tmavohnedý olej

NMR spektrum: odpovedá ¹

4.3. Příprava metyl-(*E*)-2-brom-5-(2-nitrofenyl)pent-2-én-4-ynoátu Sonogashirovým couplingom



Postup:

0,120 g (0,82 mmol) 1-etynyl-2-nitrobenzénu som rozpustila pod argónom asi v 2 ml dichlórmetánu. Za miešania som pridala 0,0078 g (5 mol %) jodidu meďného a 0,0263 g (5 mol %) palládiového katalyzátoru PdCl₂[P(furyl)₃]₂. Potom som prikvapkala 0,2 g (0,82 mmol) metyl-(*E*)-2,3-dibrómakrylátu v 1 ml dichlórmetáne. Na záver som pridala 0,46 ml (d = 0,726 g/cm³; 4 mol. ekv.) trietylamínu. Reakciu som kontrolovala pomocou TLC (lekársky benzín + etyl-acetát 80:20). Reakciu som ukončila po 60 min odparením rozpúšťadla za vákua, zbytok som rozpustila v etyl-acetáte a trikrát vytrepala nasýteným roztokom hydrogénuhličitanu sodného. Organickú vrstvu som vysušila pomocou bezvodého síranu sodného a po oddestilovaní rozpúšťadla za vákua som reakčnú zmes podrobila deleniu stĺpcovou chromatografiou.

Podmienky chromatografie:

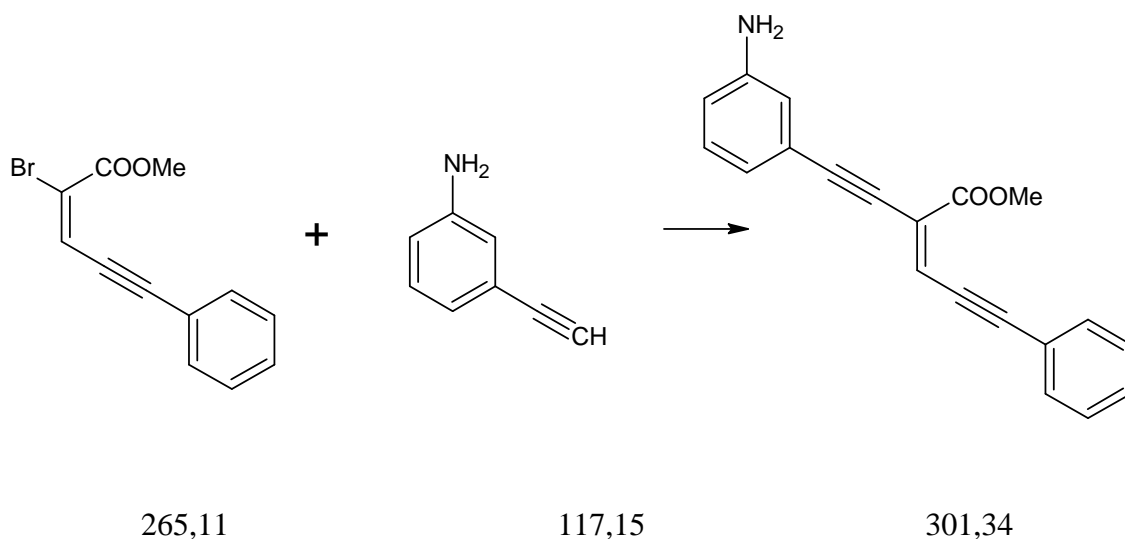
mobilná fáza – lekársky benzín + etyl-acetát 95:5

Výťažok: 0,125 g (50 %)

Popis látky: červené kryštály

NMR spektrum: odpovedá³⁴

4.8. Príprava metyl-2(*E*)-2-[(3-aminofenyl)etynyl]-5-fenylpent-2-én-4-ynoátu



Postup:

0,087 g (0,75 mmol) 3-etylnilanilínu som rozpustila pod argónom asi v 2 ml tetrahydrofuráne. Za miešania som pridala 0,0072 g (5 mol %) jodidu meďného a 0,0436 g (5 mol %) palládiového katalyzátora $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_4$. Potom som prikvapkala 0,2 g (0,75 mmol) metyl-2(*E*)-2-bróm-5-fenylpent-2-én-4-ynoátu v 1 ml tetrahydrofuráne. Na záver som pridala 0,420 ml ($d = 0,726 \text{ g/cm}^3$; 4 mol. ekv.) trietylamínu. Reakciu som kontrolovala pomocou TLC (lekársky benzín + etyl-acetát 80:20). Reakciu som ukončila po 24 h odparením rozpúšťadla za vákua, zbytok som rozpustila v etyl-acetáte a trikrát vytrepala nasýteným roztokom hydrogénuhličitanu sodného. Organickú vrstvu som vysušila pomocou bezvodého síranu sodného a po oddestilovaní rozpúšťadla za vákua som reakčnú zmes podrobila deleniu stĺpcovou chromatografiou.

Podmienky chromatografie:

Mobilná fáza – lekársky benzín + etyl-acetát 95:5, po čase zmena na rýchlejšiu sústavu 80:20

Výťažok: Produkt nebol získaný.

Popis: žlto-hnedý olej

5. DISKUSIA

Cieľom mojej diplomovej práce bola syntéza prekursorov bioaktívnych laktónov, jednalo sa o metyl-(*E*)-2-(aryletynyl)-5-fenylpent-2-én-4-ynoáty. Moja práca nadviazala na predchádzajúce práce na katedre venujúce sa tejto téme.^{1,34}

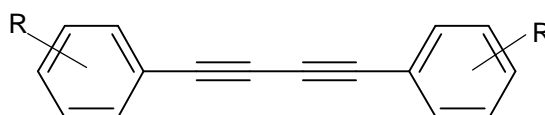
Bioaktívne laktóny majú potenciálne cytostatické, antivirotické, antimykotické a ďalšie účinky. V teoretickej časti som sa zamerala na ich účinky antimykotické. Zaoberala som sa látkami obsahujúcimi vo svojej štruktúre päťčlennú nasýtenú laktónovú jednotku, ktoré boli izolované z prírodných zdrojov a takisto tými, ktoré vznikli na základe racionálneho uvažovania vedcov chemickou syntézou.

V experimentálnej práci som pripravovala požadované metyl-(*E*)-2-(aryletynyl)-5-fenyl-pent-2-én-4-ynoáty a ich prekuzory.

Najprv som reakciou pyridínu s kyselinou bromovodíkovou v prostredí brómu pripravila pyridinium-hydrobromid perbromid (PBP) (**4.2**). Ten slúžil ako bromáčne činidlo kyseliny akrylovej a túto reakciu previedol iný pracovník laboratória. (*E*)-Methyl-2,3-dibromakrylát bol použitý ako východisková látka pre prípravu metyl-(*E*)-2-bróm-5-fenylpent-2-én-4-ynoátu, túto látku som získala Sonogashirovým couplingom fenylacetylénu do β polohy esteru vo výťažku 52 %. Táto zlúčenina mi slúžila ako reaktant do mojich ďalších reakcií.

Metyl-(*E*)-2-bróm-5-(2-nitrofenyl)pent-2-én-4-ynoát bol pripravený v rámci optimalizácie podmienok tejto reakcie. Za uvedených podmienok (rozpušťač dichlórmetán, palládiový katalyzátor $\text{PdCl}_2[\text{P}(\text{furyl})_3]_2$) bolo získano 50 %.

Reakciou metyl-(*E*)-2-bróm-5-fenylpent-2-én-4-ynoátu s rôzne substituovanými etynylbenzénmi a 2-etynylpyridínom opäť pod argónom som pripravila metyl-(2*E*)-2-(aryletynyl)-5-fenylpent-2-én-4-ynoáty – prekuzory biologických laktónov. Pri reakcii okrem pripravovaných zlúčenín vznikajú vždy aj nežiaduce produkty homocouplingu (**49**).



49

Výtěžky reakcií sú uvedené v nasledujúcej tabuľke:

Reakcie	Produkt	Katalyzátor	Rozpúšťadlo	Výtěžok
4.4.	metyl-(<i>E</i>)-5-fenyl-2-{[4-(metoxymetoxymetyl)fenyl]etynyl}pent-2-én-4-ynoátu	$\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_4$	acetonitril	53 %
4.5.	metyl-(<i>E</i>)-5-fenyl-2-{[4-(metoxymetoxymetyl)fenyl]etynyl}pent-2-én-4-ynoátu	PEPPSI	acetonitril	18 %
4.6.	metyl-(<i>E</i>)-5-fenyl-2-{[4-(metoxymetoxymetyl)fenyl]etynyl}pent-2-én-4-ynoátu	$\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_4$	–	38 %
4.7.	metyl-(<i>2E</i>)-5-fenyl{[4-(metoxymetoxymetyl)fenyl]etynyl}pent-2-én-4-ynoátu	$\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_4$	tetrahydrofurán	59 %
4.8.	metyl-2(<i>E</i>)-2-[(3-aminofenyl)etynyl]-5-fenylpent-2-én-4-ynoátu	$\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_4$	tetrahydrofurán	X
4.9.	metyl-2(<i>E</i>)-5-fenyl-2-(pyridín-2-yl-etynyl)pent-2-én-4-ynoátu	$\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_4$	tetrahydrofurán	X
4.10.	metyl-(<i>2E</i>)-2-{[4-(dimetylamino)fenyl]etynyl}-5-enylpent-2-én-4-ynoátu	$\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_4$	tetrahydrofurán	X

Prvé 4 reakcie sa týkali optimalizácie reakčných podmienok. Najprv bol študovaný vplyv katalyzátoru a neskôr vplyv rozpúšťadla na výtěžok reakcie 4-etynylfenyl(metoxymetyl)éteru a metyl-(*E*)-2-bróm-5-fenylpent-2-én-4-ynoátu. Pri použití acetonitrilu ako rozpúšťadla bol získaný najlepší výtěžok (53 %) s palládiovým katalyzátorom $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_4$. Katalyzátor PEPPSI sa nejavil ako výhodný (výtěžok bol

18 %). Za použitia $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_4$ bolo v reakcii obmeňované rozpúšťadlo, príp. úplne neprítomné a najlepšieho výsledku bolo dosiahnuto v tetrahydrofuráne (59 %).

Reakcie **4.8.**, **4.9.** a **4.10.** sú reakcie, pri ktorých malo dôjsť ku couplingu rôznych alkýnov do α -polohy východiskového esteru za podmienok, ktoré sa osvedčili u predchádzajúcich reakcií. Do reakcie **4.10.** boli všetky súčasti reakcie pridávané v dvojnásobnom množstve. Získané majoritné frakcie zo stĺpcových chromatografií boli odovzdané na NMR analýzu. NMR spektrá nepreukázala prítomnosť požadovaných látok vo vzorcoch. Z toho vyplýva, že k prebehnutiu reakcií pravdepodobne nedošlo, príp. vo veľmi malom percente a je preto potrebné upraviť podmienky reakcií.

6. ZÁVER

V experimentálnej časti mojej diplomovej práce som pripravila východiskovú zlúčeninu pre syntézu prekursorov bioaktívnych laktónov:

- metyl-(*E*)-2-bróm-5-fenylpent-2-én-4-ynoát

Ďalšie zlúčeniny:

- methyl-(*E*)-2-bróm-5-(2-nitrofenyl)pent-2-én-4-ynoátu
- metyl-(*E*)-5-fenyl-2-{[4-(metoxymetoxymetyl)fenyl]etynyl}pent-2-én-4-ynoát

Najvýhodnejšie sa pre prípravu metyl-(*E*)-5-fenyl-2-{[4-(metoxymetoxymetyl)fenyl]etynyl}pent-2-én-4-ynoátu Sonogashirovým couplingom javilo použiť ako rozpúšťadlo tetrahydrofurán a palládiový katalyzátor $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_4$.

V ďalších reakciách sa však tieto podmienky neosvedčili.

- metyl-2(*E*)-2-[(3-aminofenyl)etynyl]-5-fenylpent-2-én-4-ynoát
- metyl-2(*E*)-5-fenyl-2-(pyridín-2-yl-etynyl)pent-2-én-4-ynoát
- metyl-2(*E*)-2-{[4-(dimetylamino)fenyl]etynyl}-5-fenylpent-2-én-4-ynoát

7. ABSTRAKT DIPLOMOVEJ PRÁCE

Syntéza prekursorů biologicky aktivních laktonů III.

Zuzana Šipulová

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci
Králové, Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv

V teoretickej časti diplomovej práce sú zhrnuté ochorenia spôsobené hubami (mykotické ochorenie), ich liečba a taktiež antimykotické a ostatné účinky látok, obsahujúcich vo svojej štruktúre furán-2(5*H*)-ón.

V rámci experimentálnej práce bol pripravený metyl-(*E*)-2-bróm-5-(2-nitrofenyl)pent-2-én-4-ynoát.

Taktiež bol pripravený metyl-(*E*)-2-bróm-5-fenylpent-2-én-4-ynoát ako východiskový ester pre metyl-(2*E*)-2-(aryletynyl)-5-fenylpent-2-én-4-ynoáty získané couplingovou reakciou s rôznymi alkýnmi. U niektorých derivátov boli optimalizované reakčné podmienky syntéz. Metyl-(2*E*)-2-(aryletynyl)-5-fenylpent-2-én-4-ynoáty môžu slúžiť ako východiskové látky pre prípravu potenciálne biologicky aktívnych laktónov.

ABSTRACT OF DIPLOMA THESIS

Synthesis of Precursors for Biologically Active Lactones III.

Zuzana Šipulová

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in
Hradec Králové, Department of Pharmaceutical Chemistry and
Drug Control

In the theoretical part of the diploma thesis, diseases caused by fungi (mycoses), their treatment and also antifungal and other effects of furan-2(5*H*)-one-containing agents are summarized.

Methyl-(*E*)-2-brom-5-(2-nitrophenyl)pent-2-en-4-ynoate has been synthesized within the scope of the experimental work.

Methyl-(*E*)-2-brom-5-phenylpent-2-en-4-ynoate has been also synthesized in the experimental work as a starting ester for methyl-(*E*)-2-(arylethynyl)-5-phenylpent-2-en-4-ynoates which have been obtained via coupling with different alkynes. Syntheses of some derivatives have been optimized by modification of reaction conditions. Methyl-(*E*)-2-(arylethynyl)-5-phenylpent-2-en-4-ynoates can be used as starting compounds for synthesis of potential biological active lactones.

8. POUŽITÁ LITERATÚRA

- ¹ Bémová, H.: Syntéza prekursorů biologicky aktivních laktonů I. Diplomová práce, Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové 2008.
- ² Votava, M. *et al.*: Lékařská mikrobiologie speciální, 1. vyd. Neptun, Brno 2003, s. 211, ISBN 80-902896-6-5.
- ³ Koďoušek R.: Mykózy, Lékařsky významná mykotická onemocnění člověka, Univerzita Palackého v Olomouci, 1. vyd. Olomouc 2003, s. 13, ISBN 80-244-0649-7.
- ⁴ Dostál V. *et al.*: Infektologie, 1. vyd. Nakladatelství Karolinum, Praha 2004, s. 262, 267, ISBN 80-246-0749-2.
- ⁵ Horáček J. *et al.*: Základy lékařské mikrobiologie, 1. vyd. Nakladatelství Karolinum, Praha 2000, s.263, ISBN 80-246-0006-4.
- ⁶ Greenwood D. *et al.*: Lékařská mikrobiologie, Přehled infekčních onemocnění: patogenez, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie, 1. vyd. Grada, Praha 1999, s. 564-582, ISBN 80-7169-365-0.
- ⁷ Jedličková A. *et al.*: Lokální mykózy, Průvodce ošetřujícího lékaře, 1. vyd. Jessenius Maxdorf 2008, Praha, s. 51-68, ISBN 978-80-7345-150-9.
- ⁸ Nožičková M. *et al.*: Vybrané kapitoly z dermatovenerologie, 1. vyd. Nakladatelství Karolinum, Praha 2003, s. 55-60, ISBN 80-246-0583-X.
- ⁹ Aspergillosis (Aspergillus), Division of foodborne, bacterial and mycotic diseases (DFBMD)
Available from : http://www.cdc.gov/nczved/dfbmd/disease_listing/aspergillosis_gi.html
- ¹⁰ Tomšíková A.: Nosokomiální mykózy, 1. vyd. Nakladatelství Karolinum, Praha 2003, s. 18-24, 53-69, 70-76, 83-93, 104-108, ISBN 80-246-0376-4.
- ¹¹ Tomšíková A.: Nebezpečí importovaných mykóz, 1. vyd. Nakladatelství Karolinum, Praha 1998, s. 10-17, 39-52, 77-87, 107-113, 121-124, 133-152, ISBN 80-7184-462-4.
- ¹² Hiršová P.: Deriváty thiazolu jako potenciální léčiva. Diplomová práce, Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové 2008.
- ¹³ Lanternier F., Lortholary O.: Liposomal amphotericin B: what is its role in 2008?, Clin. Microbiol. Infect. 2008, 14, 71-83.
- ¹⁴ Lincová D. *et al.*: Základní a aplikovaná farmakologie, 2. vyd. Galen, Praha 2007, s. 507, ISBN 978-80-7262-373-0.
- ¹⁵ Katzung, B. G. *et al.*: Základní a klinická farmakologie, 8. vyd. Nakladatelství H&H, 2006, s. 774-775, ISBN 80-7319-056-7.
- ¹⁶ Lullman H. *et al.*: Farmakologie a toxikologie, 15. vyd. Grada, Praha 2004, s. 532-533, ISBN 80-247-0836-1.
- ¹⁷ Pour M. *et al.*: 3-Phenyl-5-methyl-2H,5H-furan-2-ones: Tuning antifungal activity by varying substituents on the phenyl ring, Bioorg. Med. Chem. Lett. 2000, 10, 1893-1895.
- ¹⁸ Pour M.: Gibberellins, antheridiogens and incrustoporins: A personal account of syntheses of small, highly functionalized molecules, Chem. Listy. 2003, 97, 1061-1069.
- ¹⁹ Ragasa Y. *et al.*: Monoterpene lactones from the seeds of *Nephelium lappaceum*, J. Nat. Prod. 2005, 68, 1394-1396.

-
- ²⁰ Husain A. *et al.*: 2-Arylidene-4-(4-phenoxy-phenyl)but-3-en-4-olides: Synthesis, reactions and biological activity, *Eur. J. Med. Chem.* 2005, 40, 1394-1404.
- ²¹ Clark B. *et al.*: Gymnoascolides A-C: aromatic butenolides from an Australian isolate of the soil ascomycete *Gymnoascus reessii*, *J. Nat. Prod.* 2005, 68, 1226-1230.
- ²² Wang Y. *et al.*: Appenolides A-C: three new antifungal furanones from the coprophilous fungus *Podospora appendiculata*, *J. Nat. Prod.* 1993, 56, 341-344.
- ²³ Nobilis M. *et al.*: Metabolic profiling of a potential antifungal drug, 3-(4-bromophenyl)-5-acetoxymethyl-2,5-dihydrofuran-2-one, in mouse urine using high-performance liquid chromatography with UV photodiode-array and mass spectrometric detection, *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2007, 853, 10-19.
- ²⁴ Yasui H. *et al.*: Synthetic studies toward clavilactone A: A concise access to alpha, gamma-substituted gamma-butenolides by metathesis, *Heterocycles.* 2006, 70, 135-141.
- ²⁵ Paulitz T. *et al.*: A novel antifungal furanone from *Pseudomonas aureofaciens*, a biocontrol agent of fungal plant pathogens, *J. Chem. Ecol.* 2000, 26, 1515-1524.
- ²⁶ Braun M. *et al.*: First synthesis and determination of the absolute configuration of the butenolide fugomycin, *Synlett.* 2000, 7, 1070-1072.
- ²⁷ Gauwerky K. *et al.*: Targeting virulence: A new paradigm for antifungals, *Drug Discov. Today.* 2009, 14, 214-222.
- ²⁸ Naiki M. *et al.*: 2-buten-4-olide (2-B4O) inhibits experimental allergic encephalomyelitis (EAE) in Lewis rats, *J. Autoimmun.* 1995, 8, 727-739.
- ²⁹ Li X. *et al.*: 2-buten-4-olide, an endogenous feeding suppressant, improves spatial performance through brain acidic fibroblast growth factor in mice, *Brain Res. Bull.* 2001, 56, 531-536.
- ³⁰ Kawasaki M. *et al.*: The short chain sugar acid, 2-buten-4-olide, activates oxytocin-secreting neurons but not arginine vasopressin-secreting neurons in the hypothalamus of rats, *Brain Res.* 2006, 1086, 133-141.
- ³¹ Mathur R. *et al.*: 2-buten-4-olide affects feeding behavior of rhesus monkey, *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiat.* 1996, 20, 167-176.
- ³² Kaji H. *et al.*: The endogenous feeding suppressant, 2-buten-4-olide, impairs the pulsatile secretion of luteinizing hormone through endogenous opioid peptides, *Eur. J. Endocrinol.* 1998, 138, 198-205
- ³³ Myers, A.G. *et al.*: Versatile precursors for the synthesis of enynes and enediynes, *Tetrahedron Lett.* 1989, 30, 6997-7000.
- ³⁴ Finkova L.: Syntéza prekursorů biologicky aktivních laktonů II. Diplomová práce, Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové 2008.